

UDC 579.61:616.36-002

DOI: 10.15587/2519-8025.2020.192721

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ СКЛАДУ МІКРОБІОМУ КИШЕЧНИКА ПАЦІЄНТІВ ІЗ ЗАХВОРЮВАННЯМИ ПЕЧІНКИ РІЗНОЇ ЕТІОЛОГІЇ

В. О. Мартинов, В. Г. Гаврилюк, Т. В. Скляр, І. Є. Соколова

Мета: проаналізувати склад мікробіому кишечника в пацієнтів із захворюваннями печінки різної етіології.

Матеріали та методи: було обстежено 128 пацієнтів різної статі з патологічними ураженнями печінки. Діагностику захворювань проводили із застосуванням лабораторних та інструментальних методів дослідження. Вивчення складу мікробіоти за якісними та кількісними показниками проводили з використанням стандартних бактеріологічних методів. Статистична обробка даних здійснювалась із застосуванням *t*-критерія Стьюдента. Відмінності показників вважались достовірними при $P < 0,05$.

Результати: порівняльний аналіз складу мікробіоценозу кишечника пацієнтів з різними захворюваннями печінки показав значні падіння титрів симбіотичних бактерій: лактобактерій до 10^0 – 10^4 КУО/мл, біфідобактерій до 10^5 – 10^8 КУО/мл, ентерококів до 10^5 – 10^6 КУО/мл і типових кишкових паличок до 10^3 – 10^6 КУО/мл, а також збільшення кількості умовно-патогенних мікроорганізмів: грибів роду *Candida* до 10^4 – 10^9 КУО/мл, гемолітичних *Escherichia coli* до 10^7 – 10^9 КУО/мл, *Staphylococcus spp.* до 10^4 – 10^6 КУО/мл, *Klebsiella spp.* та *Enterobacter spp.* до 10^6 – 10^8 КУО/мл. За ступенем колонізації асоціативною та умовно-патогенною мікробіотою кишкового тракту найзначніші коливання відхилень показників зареєстровано у жінок та чоловіків з неалкогольним стеатогепатитом, алкогольним гепатитом і вірусним гепатитом С.

Висновки: при дослідженні виявлено значні порушення рівноваги мікробіому шлунково-кишкового тракту: спостерігалась тенденція до підвищення кількісних і якісних показників вмісту представників умовно-патогенної мікробіоти на фоні зниження титрів симбіотичних мікроорганізмів. Найзначніші відхилення у складі кишкового мікробіому спостерігались у пацієнтів із вірусним гепатитом С. Показано відмінності в мікробному пейзажі кишечника пацієнтів різної статі з хворобами печінки, що відзначалось у змінах співвідношення окремих представників кишкової мікробіоти

Ключові слова: дисбіоз кишечника, неалкогольна жирова хвороба печінки, алкогольна хвороба печінки, вірусний гепатит С

Copyright © 2020, V. Martynov, V. Havryliuk, T. Skliar, I. Sokolova.

This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>).

1. Вступ

Мікробіом кишечника утворює складну екологічну систему, яка бере участь у виробництві вітамінів, деградації жовчних кислот, перетравленні поживних речовин, формуванні місцевого та загального імунітету господаря, а також разом із слизовою оболонкою кишечника слугує бар'єром проти збудників захворювань. При порушеннях біологічної рівноваги між макроорганізмом та мікробіотою кишечника розвивається дисбіоз, під яким розуміють клініко-лабораторний стан організму, обумовлений змінами кількісного та якісного складу мікробіоценозу травної системи з подальшим розвитком метаболічних та імунологічних порушень. Печінка знаходиться у тісному анатомічному й функціональному зв'язку з кишечником та слугує першою лінією захисту від різноманітних метаболітів, токсинів, а також антигенів, що походять із нього [1]. Тому кишкова мікробіота не може не впливати на розвиток патологічних станів печінки та, як наслідок, спричинювати ускладнення різного характеру. Через це дослідження взаємозв'язку між кількісним і якісним складом мікробіому кишечника та розвитком захворювань печінки є актуальним і потребує всебічного вивчення.

2. Літературний огляд

За даними ВООЗ приблизно 30 % дорослих жителів планети на даний час страждають на захворювання печінки, етіологічна структура яких досить різноманітна. У найближчі роки патології печінки, за прогнозами науковців, можуть стати головною причиною передчасної смерті в світі у зв'язку з поширеністю ожиріння та зловживанням алкоголем [2].

Неалкогольна жирова хвороба печінки (НАЖХП) у даний час є найбільш поширеним хронічним захворюванням печінки в промислово розвинених країнах, яким уражено майже 20–30 % населення [3]. Прояви захворювання коливаються від простого стеатозу до неалкогольного стеатогепатиту (НАСГ), ускладненнями яких є фіброз, цироз або карцинома печінки. Проте механізми патогенезу НАЖХП досі недостатньо визначені. Останнім часом у багатьох дослідженнях мікробіоту кишечника розглядають як одну з провідних причин розвитку НАЖХП [4, 5]. Вплив мікробіому кишечника на розвиток захворювання пов'язують із погіршенням бар'єрної функції та підвищенням проникності кишечника, ендотоксемією, виробленням ендогенного алкоголю, підвищенням печінкового ліпогенезу та синтезом триглі-

церидів, зниженням біодоступності холіну, та посиленням інсулінорезистентності [6, 7].

Однією з провідних причин смертності в багатьох країнах світу є алкогольна хвороба печінки (АХП), що включає ряд патологічних станів, обумовлених розвитком ряду фізіологічних та метаболічних проявів, таких як алкогольний стеатогепатит (АСГ), алкогольний гепатит (АГ) і цироз печінки [8]. У пацієнтів, які зловживають алкоголем, виявляються кількісні та якісні зміни складу мікробіому кишечника, а також підвищення проникності кишечника та збільшення продукції метаболітів мікроорганізмами [9].

Вірус гепатиту С викликає виснажливі захворювання печінки, які призводять до цирозу або раку, і щороку спричинює близько 500 000 смертей в усьому світі. Незважаючи на те, що епідеміологія, патофізіологія та захисні механізми імунітету проти вірусного гепатиту С (ВГС) глибоко вивчаються, дуже мало приділяється уваги до питань взаємозалежності розвитку хронічних захворювань печінки, спричинених вірусом гепатиту С, від стану мікробіому кишечника людини. Проте, ряд науковців повідомляють про значні зміни якісного та кількісного складу мікробіоти кишечника пацієнтів, хворих на ВГС [10].

Таким чином, захворювання печінки широко розповсюджені у світі та займають високу позицію серед причин смертності. У багатьох дослідженнях встановлено, що мікробіота кишечника приймає участь у патогенезі цих захворювань та зазнає при цьому значних змін у своєму складі. Проте на сьогоднішні дані про взаємозв'язок між складом мікробіому кишечника та розвитком захворювань печінки все ще не достатньо для розуміння всіх аспектів цієї взаємодії.

3. Мета та завдання дослідження

Метою роботи було проаналізувати склад мікробіому кишечника в пацієнтів із захворюваннями печінки різної етіології.

Для реалізації мети було поставлено наступні завдання:

- визначити склад мікробіоценозу кишечника пацієнтів інституту гастроентерології НАМН України із захворюваннями печінки;

- провести порівняльний аналіз мікробіоти кишечника для встановлення зв'язку між розвитком дисбіотичних порушень і різними патологічними станами печінки;

- виявити відмінності у частоті відхилень кількісних і якісних показників мікробного пейзажу кишечника осіб різної статі з різними захворюваннями печінки.

4. Матеріали і методи

Дослідження проводились на базі Інституту гастроентерології НАМН України у науково-дослідному секторі. Протягом 2019 року з січня по вересень було обстежено 128 пацієнтів різної статі з патологічними ураженнями печінки: НАЖХП, НАСГ, АСГ, АГ і ВГС. Дослідження проведено у відповідності до Гельсінської Декларації: від кожного пацієнта була отримана інформована згода. Діагнос-

тику захворювань печінки проводили із застосуванням лабораторних та інструментальних методів дослідження, відповідно до рекомендацій Європейської асоціації з дослідження печінки (EASL) [11, 12]. Діагностика НАЖХП включала ретельний збір анамнезу пацієнта для виключення зловживання алкоголем. Наявність та ступінь стеатозу печінки виявлялась за допомогою ультразвукового дослідження. Лабораторними методами встановлювались підвищення активності амінотрансфераз не більше ніж у 4–5 разів, коефіцієнт де Рітиса – не більше 1,5; підвищення активності лужної фосфатази і гамма-глутамілтранспептидази не більше ніж удвічі; гіпертригліцеридемія, гіперхолістеринемія; підвищення рівня білірубину (в межах 30–35 ммоль/л). Для підтвердження НАСГ проводилось гістологічне дослідження для виявлення жирової дистрофії, запальної інфільтрації, фіброзу та інших ознак. Для диференційної діагностики АХП від НАЖХП вирішальне значення мало встановлення факту зловживання пацієнта алкоголем. АСГ діагностувався у пацієнтів з алкогольною залежністю за наявності стеатозу печінки, підвищеного рівня печінкових ферментів і сироваткового білірубину < 3 мг/дл. Діагноз АГ підтверджувався за наявності стеатонекрозу гепатоцитів, запальної інфільтрації портальних трактів і виявленні у гепатоцитах алкогольного гіаліну. Діагностика ВГС засновувалась на виявленні анти-НСV антитіл методом ІФА та вірусної РНК за допомогою ПЦР-діагностики.

Вивчення складу мікробіому за якісними та кількісними показниками проводили з використанням стандартних бактеріологічних методів шляхом висіву відібраного матеріалу на диференціально-діагностичні середовища. Видову ідентифікацію виділених мікроорганізмів представників нормальної, умовно-патогенної аеробної та анаеробної мікробіоти здійснювали за схемою, наведеною у Визначнику бактерій Берджі [13]. Статистична обробка даних здійснювалась у пакеті програм *Microsoft Office Excel 2013*. Порівняння середніх значень змінних здійснювали за допомогою t-критерія Стьюдента. Відмінності показників вважались достовірними при $P < 0,05$.

5. Результати дослідження

Для розуміння кореляційних зв'язків, що існують між мікробною спільнотою кишечника та захворюваннями печінки різного походження, було проведено аналіз складу мікробіому кишечника у 128 пацієнтів різної статі, хворих на НАЖХП (n=44), НАСГ (n=39), АСГ (n=15), АГ (n=13) і ВГС (n=17).

У всіх обстежених пацієнтів із захворюваннями печінки виявлено дисбіотичні порушення у складі кишкової мікробіоти. При аналізі кількісних показників співвідношення різних представників мікробіоценозу кишечника встановлено значні відхилення в титрах певних асоціантів – представників родів *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Escherichia*. В мікробному пейзажі кишечника всіх пацієнтів із патологіями печінки спостерігалось зниження кількості лактобактерій до $3,6 \pm 2,1$ ІгКУО/мл проти норми 10^7 – 10^8 КУО/мл. Найзначніші відхилен-

ня у складі симбіотичної кишкової мікробіоти виявлені в хворих на ВГС: падіння титрів біфідобактерій до $6,0 \pm 1,7$ ІгКУО/мл при нормі 10^9 – 10^{10} у 17,6 % хворих, ентерококів – до $5,4 \pm 0,5$ ІгКУО/мл у 47,0 % та типових кишкових паличок – до $4,5 \pm 1,3$ ІгКУО/мл при нормі 10^7 – 10^8 у 23,5 % пацієнтів ($P < 0,05$). У 17,6 % пацієнтів з НАЖХП відзначено зниження титрів біфідобактерій до $6,8 \pm 1,6$ ІгКУО/мл; у 25 % осіб зниження титрів ентерококів до $5,3 \pm 0,6$ ІгКУО/мл, а в 9 % хворих – типових кишкових паличок до $6,0 \pm 0,0$ ІгКУО/мл. У пацієнтів з НАСГ виявлено зниження кількості симбіотичних мікроорганізмів до рівнів, що наведені вище, проте встановлені відхи-

лення реєструвались значно частіше – у 18,0 %, 43,5 % і 20,5 % осіб за титрами *Bifidobacterium spp.*, *Enterococcus spp.* та типових *E. coli* відповідно. У хворих на АСГ спостерігалось зниження титрів ентерококів – $5,8 \pm 0,4$ ІгКУО/мл (40 % випадків) і кишкової палички (26,6 % випадків) до $6,0 \pm 0,0$ ІгКУО/мл, тоді як кількість біфідобактерій була у межах норми. Мікробіом кишечника хворих на АГ теж відрізнялась рядом відхилень: зниженням титрів біфідобактерій складало $6,5 \pm 2,1$ ІгКУО/мл, ентерококів – $5,8 \pm 0,2$ ІгКУО/мл і типових кишкових паличок – $4,5 \pm 2,1$ ІгКУО/мл у 15,3 %, 20,7 % і 15,3 % осіб відповідно (рис. 1).

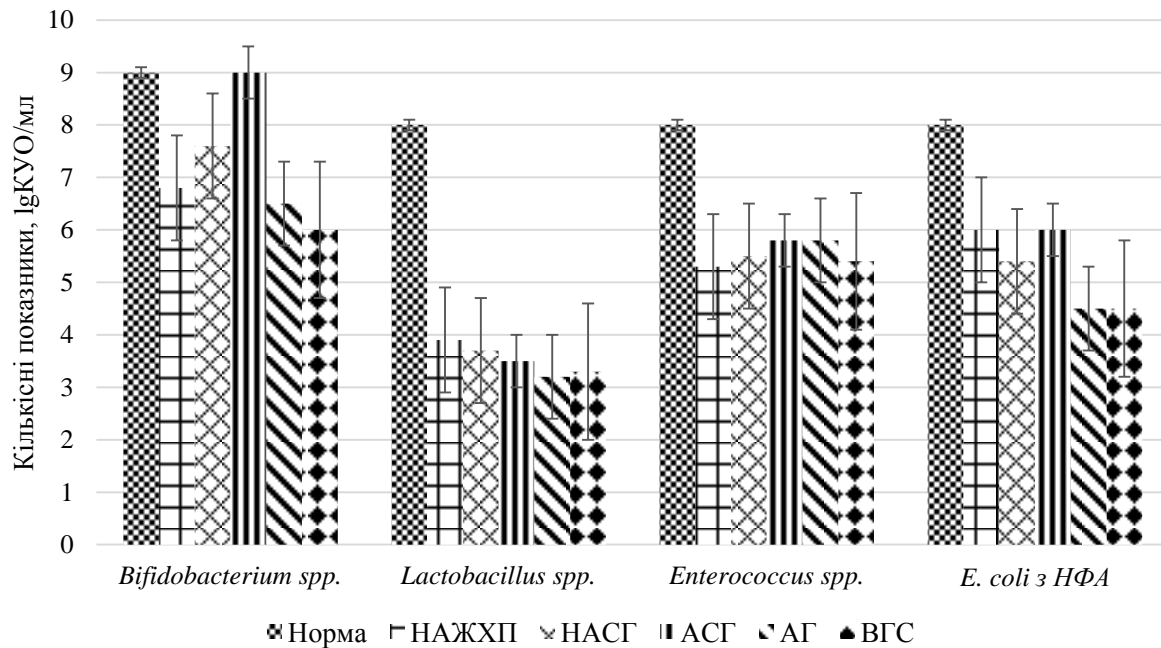


Рис. 1. Порівняльний аналіз кількісних показників складу асоціативної мікрофлори кишечника у пацієнтів із захворюваннями печінки

Аналіз кількісних показників представників умовно-патогенної мікробіоти кишечника обстежених пацієнтів дозволив виявити значні перевищення допустимих значень по окремих видах. У 20,4 % пацієнтів з НАЖХП відзначено підвищення титрів гемолітичних *E. coli* до $7,7 \pm 0,5$ ІгКУО/мл при нормі $\leq 10^4$ КУО/мл; у 27,2 % осіб – підвищення титрів *Candida spp.* до $4,8 \pm 1,0$ ІгКУО/мл при нормі $\leq 10^2$ КУО/мл; у 11,3 % осіб виявлено *Staphylococcus spp.* у титрах $4,5 \pm 0,5$ ІгКУО/мл при нормі не $> 10^4$ КУО/мл, а у 2,2 % хворих – підвищення титрів *Klebsiella spp.* та *Enterobacter spp.* до $7,0 \pm 0,0$ та $6,0 \pm 0,0$ ІгКУО/мл відповідно при нормі $\leq 10^4$ КУО/мл. У пацієнтів з НАСГ спостерігалось підвищення титрів *Candida spp.* (33,3 % випадків) до $4,8 \pm 1,4$ ІгКУО/мл, гемолітичних *E. coli* (15,3 % випадків) до $7,2 \pm 1,7$ ІгКУО/мл, *Klebsiella spp.* до $6,5 \pm 0,5$ ІгКУО/мл та *Enterobacter spp.* до $7,3 \pm 1,2$ ІгКУО/мл в 15,3 % і 7,6 % відповідно, *Staphylococcus spp.* до $5,0 \pm 0,0$ ІгКУО/мл у 12,8 % хворих. У 33,3 % пацієнтів з АСГ відзначено підвищення титрів гемолітичних *E. coli* до

$6,6 \pm 1,5$ ІгКУО/мл; у 26,6 % осіб підвищення титрів *Candida spp.* до $5,0 \pm 0,8$ ІгКУО/мл та у 13,3 % – *Staphylococcus spp.* до $5,0 \pm 0,0$ ІгКУО/мл. Умовно-патогенні бактерії родів *Klebsiella* та *Enterobacter* не були виявлені у мікробіоценозі травного тракту осіб цієї групи. Мікрофлора кишечника хворих на АГ теж відрізнялась рядом відхилень: підвищенням титрів *Candida spp.* до $4,3 \pm 0,6$ ІгКУО/мл у 23 % пацієнтів, *Klebsiella spp.* до $6,5 \pm 0,7$ ІгКУО/мл у 15,3 % пацієнтів, *Staphylococcus spp.* до $5,0 \pm 0,0$ ІгКУО/мл у 13,3 % пацієнтів, а також гемолітичних *E. coli* та *Enterobacter spp.* до $6,0 \pm 0,0$ ІгКУО/мл у 7,6 % пацієнтів. У хворих на ВГС спостерігались більш значні відхилення у складі умовно-патогенної мікрофлори, порівняно з аналізом мікробіоти кишечника в осіб з іншими захворюваннями печінки: підвищення титрів *Candida spp.* складало $4,9 \pm 1,2$ ІгКУО/мл у 41,1 % пацієнтів, гемолітичних *E. coli* – Іг $8,0 \pm 0,7$ ІгКУО/мл у 29,4 % осіб, *Staphylococcus spp.* та *Enterobacter spp.* до $5,0 \pm 0,0$ і $7,5 \pm 0,7$ ІгКУО/мл відповідно в 11,7 % осіб, а *Klebsiella spp.* – до $8,0 \pm 0,0$ ІгКУО/мл у 5,8 % пацієнтів (рис. 2).

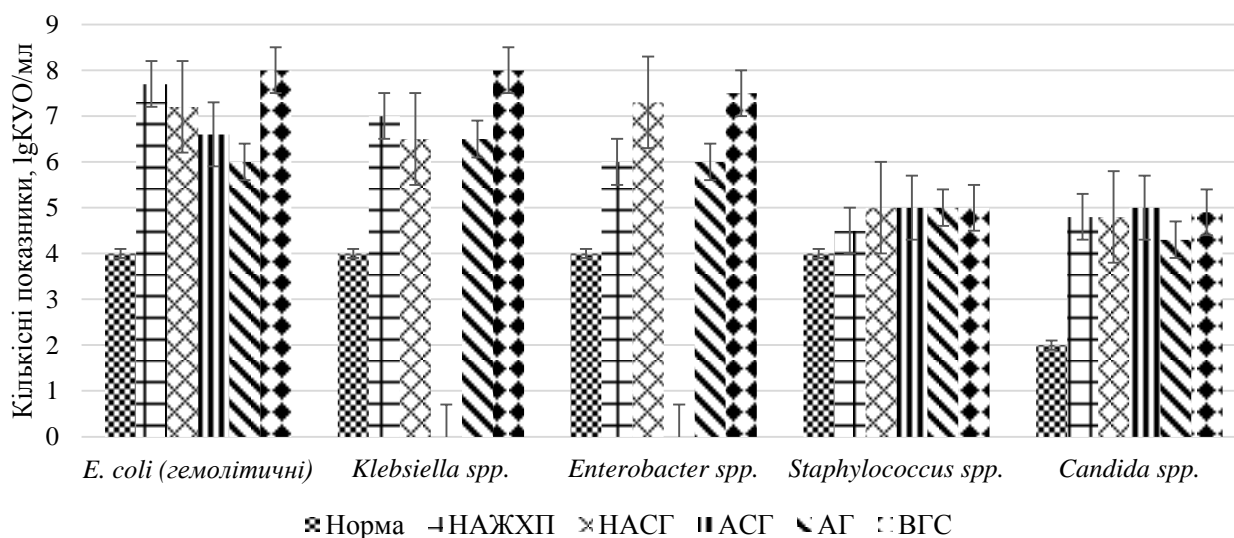


Рис. 2 Порівняльний аналіз кількісних показників складу умовно-патогенної мікрофлори кишечника у пацієнтів із захворюваннями печінки

Визначення титрів мікроорганізмів – представників асоціативної мікробіоти кишечника обстежених пацієнтів показало, що при різних патологічних станах печінки коливання показників вмісту корисних бактерій у осіб різної статі були суттєвими. У пацієнтів з НАЖХП відхилення у складі асоціантів частіше реєструвались у жінок, ніж у чоловіків (46 % проти 30 %). При цьому в жінок частіше спостерігалось зниження титрів біфідобактерій та типових ешерихій. У хворих на НАСГ та АСГ частота відхилень показників асоціативної мікробіоти серед жінок і чоловіків мала близькі значення. В пацієнтів з АГ відхилення у складі асоціативної мікробіоти частіше ре-

єструвались у чоловіків, ніж у жінок (60 % проти 33 %). При цьому тільки у чоловіків відзначалось зниження титрів біфідобактерій та ентерококів, тоді як у жінок частіше спостерігалось зниження титрів типових ешерихій. Серед пацієнтів із ВГС рівень частоти відхилень показників асоціативної мікробіоти значно перевищував у чоловіків, порівняно з особами жіночої статі (80 % проти 29 %). Так, зниження титрів біфідобактерій в середньому в 2–3 рази було зареєстровано тільки у 30 % чоловіків; ентерококів у 2 рази – у 60 % чоловіків і у 28,6 % жінок; типових ешерихій у 2–3 рази – тільки у 40 % чоловіків (рис. 3).

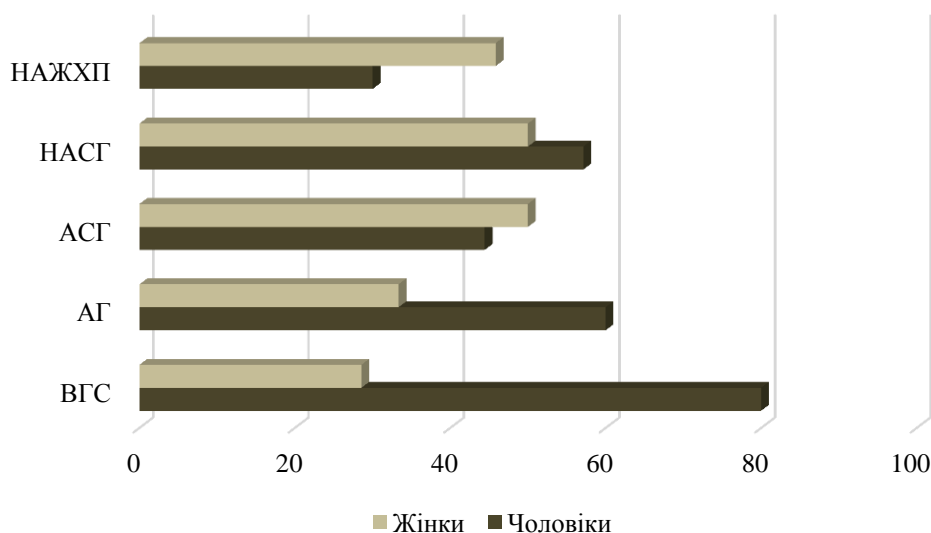


Рис. 3 Частота відхилень у показниках наявності представників асоціативної мікрофлори кишечника в пацієнтів різної статі

Також серед пацієнтів із захворюваннями печінки різної статі виявлено відмінності у частоті відхилень кількісних показників співвідношення різних представників умовно-патогенної мікробіоти кишеч-

ника. У пацієнтів з НАЖХП та НАСГ частота відхилень показників умовно-патогенної мікробіоти серед жінок і чоловіків має близькі значення. Проте при НАЖХП в жінок частіше спостерігається підвищення

титрів *Candida spp.* та *Staphylococcus spp.*, а в чоловіків – гемолітичних *E. coli*, тоді як при НАСГ в жінок частіше спостерігається підвищення титрів *Candida spp.*, гемолітичних *E. coli* та *Klebsiella spp.* У хворих на АСГ відхилення у складі умовно-патогенної мікробіоти частіше відбуваються у чоловіків, ніж у жінок (78 % проти 50 %). При цьому в чоловіків частіше виявляється збільшення титрів гемолітичних *E. coli* та *Candida spp.* У пацієнтів з АГ частота відхилень показників умовно-патогенної мікробіоти значно більша у жінок, порівняно з чоловіками (100 % проти 50 %). Крім того, у жінок частіше виявляється збільшення титрів *Klebsiella spp.* та *Candida spp.*, тоді

як у чоловіків – гемолітичних *E. coli*, *Enterobacter spp.* та *Staphylococcus spp.* Серед пацієнтів із ВГС рівень частоти відхилень показників умовно-патогенної мікробіоти перевищував у жінок, порівняно з особами чоловічої статі (100 % проти 90 %). Так, збільшення титрів гемолітичних *E. coli* в середньому в 3–4 рази порівняно із допустимою нормою було зареєстровано у 40 % чоловіків і у 28,6 % жінок; *Klebsiella spp.* у 4 рази – тільки у 14,3 % жінок; *Enterobacter spp.* у 3 рази – у 10 % чоловіків і у 14,3 % жінок; *Staphylococcus spp.* у 1–2 рази – у 30 % чоловіків і у 14,3 % жінок, а *Candida spp.* у 4–5 разів – у 30 % чоловіків і у 57,1 % жінок (рис. 4).

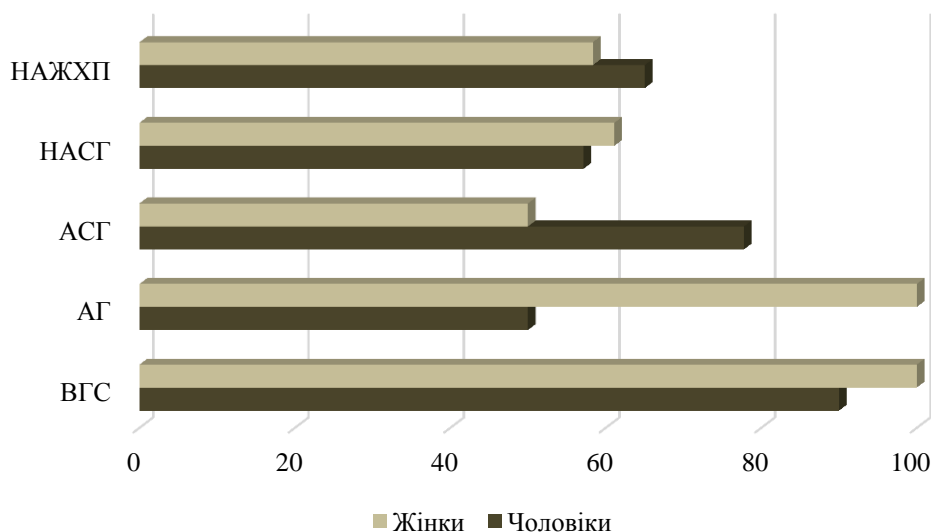


Рис. 4 Частота відхилень у показниках наявності представників умовно-патогенної мікрофлори кишечника у пацієнтів різної статі

6. Обговорення результатів дослідження

Виявлена у цьому дослідженні тенденція до підвищення кількісних і якісних показників вмісту представників умовно-патогенної мікробіоти на фоні зниження титрів симбіотичних мікроорганізмів підтверджує взаємозв'язок між мікробіомом кишечника та розвитком захворювань печінки. Проте, аналіз літературних даних свідчить, що мікробіота кишечника може прямо та опосередковано впливати на прогресування НАЖХП, тоді як при АХП розвиток захворювання та зміни у складі мікробіому кишечника відбуваються переважно під дією надмірно вживаного етанолу.

Зв'язок між мікробіотою кишечника та розвитком НАЖХП досліджувався на мишах та людині. Väskhed et al. повідомляли, що трансплантація кишкової мікробіоти від здорових мишей до стерильних призводило до збільшення вмісту жиру у тілі останніх на 60 %, а також тригліцеридів у їхній печінці більш ніж удвічі через 15 діб [13]. На початку 1980-х років були одержані дані, що в людей після кишкового шунтування паралельно розвивались НАСГ і надмірне зростання кишкової мікробіоти. Стеатоз печінки регресував після лікування антибіотиками, що свідчило про можливий вплив мікробіоти кишечника на розвиток НАЖХП [14].

Мікробіота кишечника може сприяти розвитку НАСГ оскільки вона бере участь у вивільненні енергії з харчових субстратів, регулює проникність кишок та імунний баланс, модулює дієтичний обмін холіну, регулює обмін жовчних кислот і виробляє ендогенний етанол. Встановлено, що у пацієнтів з НАСГ кількість грамнегативних бактерій у кишечнику значно вища, порівняно з контрольними групами [15, 16]. НАЖХП і НАСГ асоціюються із надмірним ростом бактерій та підвищенням кишкової проникності [17]. Miele et al. надали перші докази підвищеної кишкової проникності у пацієнтів з НАЖХП. Проникність кишечника і надмірний ріст бактерій корелюють із ступенем тяжкості стеатозу [6].

Жовчні кислоти пошкоджують мембрани клітин бактерій, взаємодіючи з мембранними фосфоліпідами, що призводить до бактерицидної активності [18]. Дієтичні жири (з високим вмістом насичених жирів), сприяючи змінам складу жовчних кислот господаря, можуть помітно змінювати умови для мікроорганізмів кишечника, що призводить до дисбактеріозу [19, 20]. Натомість мікробіота кишечника здатна модулювати метаболізм жовчних кислот за рахунок стимуляції рецепторів фарсеноїдів X (FXR) [21]. Змінюючи метаболізм жовчних кислот та сигналізацію FXR / GPBAR1 (G protein-coupled bile acid

receptor 1), флора кишечника може побічно сприяти розвитку НАЖХП [22].

Кишкова мікробіота виробляє ряд потенційно гепатотоксичних сполук, таких як етанол, феноли, аміак, які надходять до печінки кровообігом. Ці сполуки активують клітини Купфера та стимулюють вироблення оксиду азоту та цитокінів [23]. Zhu та ін. при вивченні мікробіоти кишечника пацієнтів із НАСГ спостерігали збільшення вмісту бактерій, що виробляють етанол, особливо *Escherichia spp.*, а також підвищену концентрацію алкоголю в крові при відсутності його у раціоні [7].

За даними ряду досліджень хронічний прийом алкоголю призводить до надлишкового бактеріального росту та дисбіозу кишечника у людини й тварин [24, 25]. Mutlu et al. (2009) повідомляють, що вживання алкоголю протягом 10 тижнів призводить до дисбіозу товстої кишки у щурів. У мишей споживання етанолу призводить до зниження кількості *Lactobacillus spp.* та збільшення титрів *Enterococcus spp.* [26, 27].

Кількісні та якісні зміни мікробіоти кишечника відбуваються в осіб, які помірно вживають алкоголь та алкоголіків [28, 29]. У пацієнтів з алкогольною хворобою печінки спостерігається збільшення чисельності бактерій з родини *Fusobacteriaceae* та *Staphylococcus spp.*, і у той же час зменшення кількості *Lactobacillus spp.* та за наявності цирозу *Bifidobacterium spp.* [30, 31].

Вживання алкоголю може чинити прямий та опосередкований вплив на мікробіом кишкового тракту, проте точну причину розвитку дисбіозу встановити неможливо. Етанол знижує моторику кишечника, що сприяє розмноженню просвіткових бактерій [32]. У людей, які рідко або не вживають алкоголь, етанол або не впливає на вивільнення шлункового соку, або збільшує його продукцію. Однак в алкоголіків спостерігається гіпохлоргідрія. Це може бути пов'язано зі значно зміненою гістологією шлунка із підвищеними показниками поверхневого та атрофічного гастриту [33, 34]. Гіпохлоргідрія у свою чергу, пов'язана з бактеріальним розростанням мікробіоти кишечника у хворих на цироз печінки [35].

Хронічне вживання алкоголю має глибокий вплив на імунну систему макроорганізму. Бактерицидні молекули є центральними ефекторами вродженої імунної системи кишечника, що впливають на склад його мікробіоти. Ці молекули секретуються клітинами Панета та клітинами епітелію кишечника. Встановлено, що антимікробні продукти генів (Reg)-3b та Reg3g були пригнічені у кишечнику мишей та людини після вживання алкоголю та хронічного зловживання етанолом відповідно [36, 37].

Aly et al. (2016) досліджували мікробіом кишечника у хворих на ВГС та встановили, що у її складі переважають представники родів *Prevotella* та *Faecalibacterium*, тоді як *Ruminococcus*, *Bifidobacterium* та деякі клостридії спостерігались у незначній кількості [10]. Основним чинником, що може призвести до дисбіозу кишечника, є порушення гомеостазу, викликане хронічною інфекцією ВГС. Крім того, адаптація імунної системи до стану хронічної інфекції може бути ще одним важливим фактором зменшення мікробної різноманітності кишечника. Слід зазначити, що вірус гепа-

титу С здатний проникати в шлункові клітини, оскільки клітини печінки та шлунка мають загальне ембріогенне походження, а також інфікувати В-лімфоцити, які виробляють IgA, що приймають участь у модулюванні складу кишкової мікробіоти [38, 39].

Сучасні літературні дані свідчать, що мікробний пейзаж шлунково-кишкового тракту за кількісними та якісними показниками підлягає змінам під впливом ряду факторів. Так, Nago et al. (2016) досліджували залежність складу кишкової мікробіоти від статі та маси тіла [40]. Вони встановили, що різноманітність та загальний склад мікробної спільноти кишечника суттєво не відрізняються в чоловіків та жінок, проте відносна чисельність конкретних таксонів різниться між групами. Встановлено, що у жінок кількість бактерій роду *Bilophila* вища ніж у чоловіків, тоді як в останніх частіше зустрічаються представники родів *Veillonella* та *Methanobrevibacter*. Окрім того, на рівні виду у жінок спостерігаються вищі ніж у чоловіків титри *Bacteroides caccae*. Натомість у складі мікробіому кишечника чоловіків частіше виявляються представники видів *Bacteroides plebeius* і *Coprococcus catus*.

При ожирінні (ІМТ > 33) у жінок зареєстровано більш високі показники наявності бактерій роду *Bacteroides* порівняно з чоловіками, оскільки в останніх чисельність цих бактерій зменшується, за винятком *B. plebeius*. У жінок спостерігається підвищення чисельності *C. catus* при збільшенні маси тіла, тоді як у чоловіків ці показники незалежні. Крім того, у чоловіків з ІМТ < 30 спостерігаються вищі титри *Bifidobacterium adolescentis*, *Eubacterium bifforme* та *Oxalobacter formigenes*. Однак кількість представників цих видів статистично не відрізнялась в обох статей, коли ІМТ > 30.

Таким чином, одержані результати проведеного дослідження та дані представлені іншими науковцями свідчать про тісний взаємозв'язок між станом мікробіому травної системи й розвитком захворювань печінки різної етіології.

Обмеження дослідження. Слід зазначити, що дане дослідження було обмежено кількістю обстежених осіб з певними патологіями печінки у визначених групах. Крім того, отримані дані не відображають особливості розвитку дисбіотичних порушень мікробіому кишечника у пацієнтів із захворюваннями печінки різних вікових категорій.

Перспективи подальших досліджень. Одержані результати складають основу для подальшого визначення характеру взаємовідносин різних асоціантів мікробіоценозу певних біотопів з макроорганізмом людини, що є актуальним і перспективним напрямком у вдосконаленні діагностичних та терапевтичних підходів.

7. Висновки

1. За результатами обстеження 128 пацієнтів Інституту гастроентерології НАМН України із захворюваннями печінки було виявлено значні порушення рівноваги мікробіому шлунково-кишкового тракту: спостерігалась тенденція до підвищення кількісних і якісних показників вмісту представників умовно-патогенної мікробіоти на фоні зниження титрів симбіотичних мікроорганізмів.

2. Порівняльний аналіз складу мікробіоценозу кишечника пацієнтів з різними захворюваннями печінки показав значні падіння титрів симбіотичних бактерій: лактобактерій до 10^0 – 10^4 КУО/мл, біфідобактерій до 10^5 – 10^8 КУО/мл, ентерококів до 10^5 – 10^6 КУО/мл і типових кишкових паличок до 10^3 – 10^6 КУО/мл, а також збільшення кількості умовно-патогенних мікроорганізмів: дріжджеподібних грибів роду *Candida* до 10^4 – 10^9 КУО/мл, гемолітичних *Escherichia coli* до 10^7 – 10^9 КУО/мл, *Staphylococcus spp.* до 10^4 – 10^6 КУО/мл, *Klebsiella spp.* та *Enterobacter spp.* до 10^6 – 10^8 КУО/мл. Найбільш значні відхилення у складі кишкового мікробіому спостерігались у пацієнтів із вірусним гепатитом С, особливо у відношенні умовно-патогенної мікрофлори: титри гемолітичних *E. coli*, *Klebsiella spp.* та *Enterobacter spp.* були найвищими серед усіх досліджуваних груп хворих. Також вагомі відхилення у титрах представників мікробіоти кишечника були виявлені у пацієнтів з алкогольним гепатитом, неалкогольним стеатогепатитом і неалкогольною жировою хворобою печінки. У пацієнтів, хворих на алкогольний стеатогепатит, на відміну від інших, були відсутні відхилення у

кількісних показниках *Bifidobacterium spp.*, *Klebsiella spp.* та *Enterobacter spp.*

3. Показано відмінності в мікробному пейзажі кишечника пацієнтів різної статі з хворобами печінки, що відзначалось у змінах співвідношення окремих представників кишкового мікробіому. Частота відхилень кількісних показників симбіотичної асоціативної мікробіоти найбільше відрізнялась у пацієнтів з вірусним гепатитом С і алкогольним гепатитом: у чоловіків зниження чисельності симбіотів спостерігали частіше на 51 % і 27 % відповідно, порівняно з жінками.

За ступенем колонізації умовно-патогенними мікроорганізмами кишкового тракту найзначніші коливання відхилень показників зареєстровано у пацієнтів з неалкогольним стеатогепатитом: у чоловіків підвищення титрів спостерігались на 28 % частіше ніж у жінок, та з алкогольним гепатитом: у жінок кількісні показники були вищими на 50 % частіше ніж у чоловіків.

Конфлікт інтересів

Автори декларують відсутність конфлікту інтересів.

Література

1. Compare, D., Coccoli, P., Rocco, A., Nardone, O. M., De Maria, S., Carteni, M., Nardone, G. (2012). Gut–liver axis: The impact of gut microbiota on non alcoholic fatty liver disease. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 22 (6), 471–476. doi: <http://doi.org/10.1016/j.numecd.2012.02.007>
2. Трухан, Д. И., Викторова, И. А., Сафонов, А. Д. (2019). Болезни печени. Санкт-Петербург, 239.
3. Loomba, R., Sanyal, A. J. (2013). The global NAFLD epidemic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 10 (11), 686–690. doi: <http://doi.org/10.1038/nrgastro.2013.171>
4. Aron-Wisnewsky, J., Gaborit, B., Dutour, A., Clement, K. (2013). Gut microbiota and non-alcoholic fatty liver disease: new insights. *Clinical Microbiology and Infection*, 19 (4), 338–348. doi: [10.1111/1469-0691.12140](https://doi.org/10.1111/1469-0691.12140)
5. Gangarapu, V., Yildiz, K., Tuzun Ince, A., Baysal, B. (2014). Role of gut microbiota: Obesity and NAFLD. *The Turkish Journal of Gastroenterology*, 25 (2), 133–140. doi: <http://doi.org/10.5152/tjg.2014.7886>
6. Miele, L., Valenza, V., La Torre, G., Montalto, M., Cammarota, G., Ricci, R. et. al. (2009). Increased intestinal permeability and tight junction alterations in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 49 (6), 1877–1887. doi: <http://doi.org/10.1002/hep.22848>
7. Zhu, L., Baker, S. S., Gill, C., Liu, W., Alkhoury, R., Baker, R. D., Gill, S. R. (2013). Characterization of gut microbiomes in nonalcoholic steatohepatitis (NASH) patients: A connection between endogenous alcohol and NASH. *Hepatology*, 57 (2), 601–609. doi: <http://doi.org/10.1002/hep.26093>
8. Lieber, C. S. (1993). Aetiology and pathogenesis of alcoholic liver disease. *Baillière's Clinical Gastroenterology*, 7 (3), 581–608. doi: [http://doi.org/10.1016/0950-3528\(93\)90003-b](http://doi.org/10.1016/0950-3528(93)90003-b)
9. Hartmann, P., Seebauer, C. T., Schnabl, B. (2015). Alcoholic Liver Disease: The Gut Microbiome and Liver Cross Talk. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 39 (5), 763–775. doi: <http://doi.org/10.1111/acer.12704>
10. Aly, A. M., Adel, A., El-Gendy, A. O., Essam, T. M., & Aziz, R. K. (2016). Gut microbiome alterations in patients with stage 4 hepatitis C. *Gut Pathogens*, 8 (1). doi: <http://doi.org/10.1186/s13099-016-0124-2>
11. EASL–EASD–EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. (2016). *Journal of Hepatology*, 64 (6), 1388–1402. doi: <http://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.11.004>
12. EASL Clinical Practical Guidelines: Management of Alcoholic Liver Disease (2012). *Journal of Hepatology*, 57 (2), 399–420. doi: <http://doi.org/10.1016/j.jhep.2012.04.004>
13. Brenner, D. J., Krieg, N. R., Staley, J. T. (Eds.). (2005). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Boston: Springer. doi: <http://doi.org/10.1007/0-387-29298-5>
14. Backhed, F., Ding, H., Wang, T., Hooper, L. V., Koh, G. Y., Nagy, A. et. al. (2004). The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101 (44), 15718–15723. doi: <http://doi.org/10.1073/pnas.0407076101>
15. Drenick, E. J., Fisler, J., Johnson, D. (1982). Hepatic Steatosis After Intestinal Bypass—Prevention and Reversal by Metronidazole, Irrespective of Protein-Calorie Malnutrition. *Gastroenterology*, 82 (3), 535–548. doi: [http://doi.org/10.1016/s0016-5085\(82\)80403-4](http://doi.org/10.1016/s0016-5085(82)80403-4)
16. Cope, K., Risby, T., Diehl, A. M. (2000). Increased gastrointestinal ethanol production in obese mice: Implications for fatty liver disease pathogenesis. *Gastroenterology*, 119 (5), 1340–1347. doi: <http://doi.org/10.1053/gast.2000.19267>
17. Baker, S. S., Baker, R. D., Liu, W., Nowak, N. J., Zhu, L. (2010). Role of Alcohol Metabolism in Non-Alcoholic Steatohepatitis. *PLoS ONE*, 5 (3), e9570. doi: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0009570>
18. Lichtman, S. N., Keku, J., Schwab, J. H., Sartor, R. B. (1991). Hepatic injury associated with small bowel bacterial overgrowth in rats is prevented by metronidazole and tetracycline. *Gastroenterology*, 100 (2), 513–519. doi: [http://doi.org/10.1016/0016-5085\(91\)90224-9](http://doi.org/10.1016/0016-5085(91)90224-9)
19. Yokota, A., Fukiya, S., Islam, K. B. M. S., Ooka, T., Ogura, Y., Hayashi, T. et. al. (2012). Is bile acid a determinant of the gut microbiota on a high-fat diet? *Gut Microbes*, 3 (5), 455–459. doi: <http://doi.org/10.4161/gmic.21216>
20. Devkota, S., Wang, Y., Musch, M. W., Leone, V., Fehlner-Peach, H., Nadimpalli, A. et. al. (2012). Dietary-fat-induced taurocholic acid promotes pathobiont expansion and colitis in IL10^{-/-} mice. *Nature*, 487 (7405), 104–108. doi: <http://doi.org/10.1038/nature11225>

21. Turnbaugh, P. J. (2012). Fat, bile and gut microbes. *Nature*, 487 (7405), 47–48. doi: <http://doi.org/10.1038/487047a>
22. Machado, M. V., Cortez-Pinto, H. (2012). Gut microbiota and nonalcoholic fatty liver disease. *Annals of Hepatology*, 11 (4), 440–449. doi: [http://doi.org/10.1016/s1665-2681\(19\)31457-7](http://doi.org/10.1016/s1665-2681(19)31457-7)
23. Tremaroli, V., Bäckhed, F. (2012). Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature*, 489 (7415), 242–249. doi: <http://doi.org/10.1038/nature11552>
24. Abu-Shanab, A., Quigley, E. M. M. (2010). The role of the gut microbiota in nonalcoholic fatty liver disease. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 7 (12), 691–701. doi: <http://doi.org/10.1038/nrgastro.2010.172>
25. Casafont Morencos, F., de Las Heras Castaño, G., Martín Ramos, L., López Arias, M. J., Ledesma, F., Pons Romero, F. (1996). Small bowel bacterial overgrowth in patients with alcoholic cirrhosis. *Digestive Diseases and Sciences*, 41 (3), 552–556. doi: <http://doi.org/10.1007/bf02282340>
26. Mutlu, E., Keshavarzian, A., Engen, P., Forsyth, C. B., Sikaroodi, M., Gillevet, P. (2009). Intestinal Dysbiosis: A Possible Mechanism of Alcohol-Induced Endotoxemia and Alcoholic Steatohepatitis in Rats. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 33(10), 1836–1846. doi: <http://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2009.01022.x>
27. Canesso, M. C. C., Lacerda, N. L., Ferreira, C. M., Gonçalves, J. L., Almeida, D., Gamba, C. et al. (2014). Comparing the effects of acute alcohol consumption in germ-free and conventional mice: the role of the gut microbiota. *BMC Microbiology*, 14 (1). doi: <http://doi.org/10.1186/s12866-014-0240-4>
28. Bajaj, J. S., Heuman, D. M., Hylemon, P. B., Sanyal, A. J., White, M. B., Monteith, P. et al. (2014). Altered profile of human gut microbiome is associated with cirrhosis and its complications. *Journal of Hepatology*, 60 (5), 940–947. doi: <http://doi.org/10.1016/j.jhep.2013.12.019>
29. Leclercq, S., Matamoros, S., Cani, P. D., Neyrinck, A. M., Jamar, F., Stärkel, P. et al. (2014). Intestinal permeability, gut-bacterial dysbiosis, and behavioral markers of alcohol-dependence severity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111 (42), E4485–E4493. doi: <http://doi.org/10.1073/pnas.1415174111>
30. Bajaj, J. S., Ridlon, J. M., Hylemon, P. B., Thacker, L. R., Heuman, D. M., Smith, S. et al. (2012). Linkage of gut microbiome with cognition in hepatic encephalopathy. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 302 (1), G168–G175. doi: <http://doi.org/10.1152/ajpgi.00190.2011>
31. Liu, Q., Duan, Z. P., Ha, D. K., Bengmark, S., Kurtovic, J., Riordan, S. M. (2004). Synbiotic modulation of gut flora: Effect on minimal hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis. *Hepatology*, 39 (5), 1441–1449. doi: <http://doi.org/10.1002/hep.20194>
32. Gupta, A., Dhiman, R. K., Kumari, S., Rana, S., Agarwal, R., Duseja, A., Chawla, Y. (2010). Role of small intestinal bacterial overgrowth and delayed gastrointestinal transit time in cirrhotic patients with minimal hepatic encephalopathy. *Journal of Hepatology*, 53 (5), 849–855. doi: <http://doi.org/10.1016/j.jhep.2010.05.017>
33. Chari, S., Teyssen, S., Singer, M. V. (1993). Alcohol and gastric acid secretion in humans. *Gut*, 34 (6), 843–847. doi: <http://doi.org/10.1136/gut.34.6.843>
34. Dinoso, V. P. (1972). Gastric secretion and gastric mucosal morphology in chronic alcoholics. *Archives of Internal Medicine*, 130 (5), 715–719. doi: <http://doi.org/10.1001/archinte.130.5.715>
35. Shindo, K., Machida, M., Miyakawa, K., Fukumura, M. (1993) A syndrome of cirrhosis, achlorhydria, small intestinal bacterial overgrowth, and fat malabsorption. *American Journal of Gastroenterology*, 88, 2084–2091.
36. Yan, A. W., E. Fouts, D., Brandl, J., Stärkel, P., Torralba, M., Schott, E. et al. (2010). Enteric dysbiosis associated with a mouse model of alcoholic liver disease. *Hepatology*, 53 (1), 96–105. doi: <http://doi.org/10.1002/hep.24018>
37. Hartmann, P., Chen, P., Wang, H. J., Wang, L., McCole, D. F., Brandl, K. et al. (2013). Deficiency of intestinal mucin-2 ameliorates experimental alcoholic liver disease in mice. *Hepatology*, 58 (1), 108–119. doi: <http://doi.org/10.1002/hep.26321>
38. Hetta, H. F. (2014). Gut immune response in the presence of hepatitis C virus infection. *World Journal of Immunology*, 4 (2), 52. doi: <http://doi.org/10.5411/wji.v4.i2.52>
39. Mantis, N. J., Rol, N., Corthésy, B. (2011). Secretory IgA's complex roles in immunity and mucosal homeostasis in the gut. *Mucosal Immunology*, 4 (6), 603–611. doi: <http://doi.org/10.1038/mi.2011.41>
40. Haro, C., Rangel-Zúñiga, O. A., Alcalá-Díaz, J. F., Gómez-Delgado, F., Pérez-Martínez, P., Delgado-Lista, J. et al. (2016). Intestinal Microbiota Is Influenced by Gender and Body Mass Index. *PLOS ONE*, 11 (5), e0154090. doi: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0154090>

Received date 03.02.2020

Accepted date 24.03.2020

Published date 30.04.2020

Мартинів Владислав Олександрович, кафедра мікробіології, вірусології та біотехнології, Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, пр. Гагаріна, 72, м. Дніпро, Україна, 49010
E-mail: v.martynov1844@gmail.com

Гаврилюк Вікторія Григорівна, кандидат біологічних наук, доцент, кафедра мікробіології, вірусології та біотехнології, Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, пр. Гагаріна, 72, м. Дніпро, Україна, 49010
E-mail: microviro@ukr.net

Скляр Тетяна Володимирівна, кандидат біологічних наук, доцент, кафедра мікробіології, вірусології та біотехнології, Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, пр. Гагаріна, 72, м. Дніпро, Україна, 49010

Соколова Ірина Євгенівна, кандидат біологічних наук, доцент, кафедра мікробіології, вірусології та біотехнології, Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, пр. Гагаріна, 72, м. Дніпро, Україна, 49010