

Особливості дисбіотичних змін товстого кишечника та показників коротколанцюгових жирних кислот у пацієнтів із хронічними запальними захворюваннями кишечника залежно від нутритивного статусу

Ю.М. Степанов, М.В. Тітова

Державна установа «Інститут гастроентерології Національної академії медичних наук України», Дніпро, Україна

Анотація. Мета: визначення глибини дисбіотичних порушень кількісного та якісного складу мікрофлори товстого кишечника, а також рівнів коротколанцюгових жирних кислот (КЖК) у пацієнтів із хронічними запальними захворюваннями кишечника (ХЗК) залежно від нутритивного статусу та ступеня нутритивної недостатності. **Об'єкт і методи дослідження.** Обстежено 100 пацієнтів із ХЗК віком 19–79 років (середній вік $42,54 \pm 1,5$ року), у тому числі 70 хворих на неспецифічний виразковий коліт (НВК), 30 — на хворобу Крона (ХК). За ступенем нутритивної недостатності усі хворі поділені на 3 групи: I — без ознак нутритивної недостатності, II — з легким та III — з середнім ступенем нутритивної недостатності. Усім хворим проведено загальноклінічне обстеження, антропометричні вимірювання, бактеріологічне дослідження калу та хроматографію КЖК у копрофільтраті. **Результати.** Мікробіологічні дослідження виявили наявність глибоких змін якісного та кількісного складу мікрофлори товстого кишечника у 100,0% хворих на ХЗК з переважанням дисбіозу III ступеня (38,0%). Основні зміни стосувалися вірогідного ($p < 0,001$) зменшення кількості основних симбіонтів мікробіоценозу товстого кишечника, а саме зниження рівня біфідобактерій у 89,0% та лактобактерій — у 92,0% пацієнтів у загальній групі ХЗК. У хворих на ХК та НВК виявлено вірогідне зниження рівня біфідобактерій (86,7 та 90,0% відповідно) відносно здорових осіб ($p < 0,001$). Кількість лактобактерій зменшена в усіх хворих на ХК та 88,6% групи НВК ($p < 0,001$). Виявлено залежність дисбіотичних змін у досліджених хворих від наявності або ступеня нутритивної недостатності. Декомпенсовану форму дисбіозу частіше відмічали у хворих III групи (50,0%) на відміну від I групи, де її частота становила лише 26,5%. Зниження концентрації біфідобактерій у вмісті товстого кишечника у хворих III групи виявляли найчастіше — у 79,3%, тоді як дефіцит лактобактерій найчастіше відмічали у хворих I групи (94,7%). Крім того, у III групі вищою була частота виділення дріжджоподібних грибів роду *Candida* (55,2%). При аналізі відносного вмісту КЖК у копрофільтраті спостерігали зміни, як сумарного загального вмісту, так і показників окремих КЖК відносно здорових осіб, що свідчило про пригнічення метаболічної активності нормальної мікрофлори. Виявлено, що рівень оцтової кислоти (C2) у 100,0% пацієнтів усіх трьох груп (з наявністю або без нутритивної недостатності) з ХЗК був зниженим відносно групи контролю ($p < 0,001$). У пацієнтів із НВК відмічали вірогідне підвищення рівнів пропіонової кислоти (C3) у 4,4 рази ($p < 0,05$) у II та III групах, а також виявлено тенденцію до значного зниження показників масляної кислоти (C4), переважно у хворих III групи. **Висновки.** Глибокі зміни якісного та кількісного складу мікрофлори у товстому кишечнику притаманні усім хворим на ХЗК. Вираженість дисбіотичних змін збільшується з посиленням тяжкості нутритивної недостатності, тож можливо розглядати тяжкий дисбіоз як прогностичний маркер порушень нутритивного статусу. Різноманітні відхилення від контролю основних метаболітів мікробіоти товстого кишечника можуть служити біохімічними маркерами структурних і функціональних порушень кишкового мікробіоценозу. Враховуючи вищенаведене, визначення показників вмісту КЖК може мати діагностичне і прогностичне значення.

Ключові слова: нутритивний статус, мікробіота, неспецифічний виразковий коліт, хвороба Крона, коротколанцюгові жирні кислоти.

Вступ

Хронічні запальні захворювання кишечника (ХЗК), до яких належать неспецифічний виразковий коліт (НВК) та хвороба Крона (ХК), характеризуються хронічним та рецидивуючим запаленням у шлунково-кишковому тракту. Такі симптоми, як діарея, спазми в животі, зменшення маси тіла, втома, анемія та позакишкові прояви (артрит, афтозний стоматит, ураження очей та ін.), чинять значний вплив на якість життя цих хворих. НВК та ХК часто мають схожу клінічну картину, однак впливають на окремі частини травного тракту з різним ступенем запалення слизової оболонки кишечника [1, 2]. За останні 50 років захворюваність та поширеність НВК та ХК підвищилися в усьому світі, особливо у країнах, що розвиваються [3, 4].

ХЗК є результатом складної взаємодії між генетичними, імунологічними, мікробними та екологічними факторами, що робить створення специфічного лікування складним завданням. Протягом останніх двох десятиліть виявлена ключова роль мікробіоти кишечника у встановленні та підтримці здоров'я, а також у патогенезі захворювання на ХЗК, оскільки на даний час

найбільш прийнятна гіпотеза патогенезу ХЗК — аномальна імунна реакція, яка спровокована чинниками навколишнього середовища до зміненої мікробіоти кишечника або патогенних мікроорганізмів у генетично схильної клітини-хазяїна [5–7].

У кишечнику людини міститься різноманітна та складна агрегація мікроорганізмів, що включає >1000 штамів, які разом називаються мікробіотою. Кишковий мікробіом здорової людини — це збалансована спільнота різних мікроорганізмів, включаючи бактерії, бактеріофаги, віруси, археї та гриби. Мікробіота кишечника має фізіологічні функції, пов'язані з харчуванням, сприяє регуляції імунної відповіді клітини-хазяїна та гомеостазу, а також бере участь у нутрієнтному та енергетичному обміні [8].

Кишковий мікробіом привертає все більшу увагу як фактор, який контролює гомеостаз кишечника у здорових людей. Різні фактори способу життя та навколишнього середовища, такі як гігієна та застосування антибіотиків, а також споживання «західної дієти» з низьким вмістом клітковини та високим вмістом жиру та цукру, пов'язують з порушенням мікробіоти кишечника або дисбактеріозом, що може призвести до хронічного запалення та порушення обміну речовин. Порушення мікробіоти, зміню-

ши кишковий гомеостаз, може створити запальне середовище в шлунково-кишковому тракті, яке притаманне ХЗЗК [9–11].

Кишкові бактерії містять ферменти, яких не вистачає клітині-хазяїну для розщеплення вуглеводів, та перетворюють їх на корисні метаболіти. Останніми роками найбільшу увагу привернули коротколанцюгові жирні кислоти (КЖК), фенольні кислоти, триптофан та жовчні кислоти. Зазвичай неперетравлені харчові волокна, а також білки та пептиди, можуть бути ферментовані у сліпій кишці та товстому кишечнику (ТК) бактеріями кишечника. Основними продуктами цих ферментативних реакцій є КЖК, які визначаються як групи жирних кислот з менше ніж 6 вуглецевими зв'язками, включаючи мурашину (С1), оцтову (ацетат, С2), пропіонову (пропіонат, С3), масляну (бутират, С4) та валеріанову кислоту (С5). Основними КЖК в кишечнику є С2, С3 та С4, які становлять >95% всіх КЖК. Бактероїди (грамнегативні) та фірмікути (грампозитивні) є найбільш поширеними філами бактерій у кишечнику, причому представники бактеріоїдів переважно виробляють ацетат та пропіонат, тоді як фірмікути переважно виробляють бутират у кишечнику людини [12]. КЖК можуть впливати на клітину-хазяїна, модулюючи експресію генів, проліферацію клітин та імунну відповідь [13, 14]. Крім того, бутират сприяє захисту від запалення слизової оболонки ТК, посилюючи антибактеріальну активність макрофагів [15]. За даними ряду досліджень, нормалізація рівнів КЖК асоціювалася зі зниженням ризику різних захворювань, включаючи ХЗЗК, а дисбактеріоз у пацієнтів із ХЗЗК був пов'язаний зі зміною ферментативних шляхів КЖК [16]. У випорожненнях пацієнтів із ХЗЗК часто відмічають зниження бутиратпродукуючих бактерій і, як наслідок, бутирату, що важливо для модуляції імунної системи, захисних та репаративних процесів у кишечнику [11].

Тож дослідження змін мікробіоти та її метаболітів викликає дедалі більшу зацікавленість науковців, адже модуляція їх складу надасть можливість керувати імунними та запальними процесами при ХЗЗК. Це, в свою чергу, полегшить перебіг основного захворювання та поліпшить його прогноз.

Мета: визначення глибини дисбіотичних порушень кількісного та якісного складу мікрофлори ТК, а також рівнів КЖК у хворих на ХЗЗК залежно від нозології та ступеня нутритивної недостатності.

Об'єкт і методи дослідження

Обстежено 100 пацієнтів із ХЗЗК віком 19–79 років (середній вік $42,54 \pm 1,5$ років), у тому числі 70 хворих на НВК, 30 — на ХК. Усім хворим проведено загальноклінічне обстеження та дослідження антропометричних параметрів для визначення ступеня нутритивної недостатності.

Індекс маси тіла (ІМТ) розраховували за формулою:

$$ИМТ = \frac{m}{h^2},$$

де m — маса тіла у кілограмах, h — ріст у метрах.

Товщину шкірно-жирової складки над трицепсом (ТШЖС) вимірювали в міліметрах за допомогою штангенциркуля. Окружність плеча (ОП) вимірювали в сантиметрах на рівні середньої $\frac{1}{3}$ (посередині між кінчиком акроміального відростка лопатки і ліктьовим відростком ліктьової кістки) неробочої ненапруженої руки. Окружність м'язів плеча (ОМП) обчислювали за формулою:

$$ОМП = ОП - 3,14 \times ТШЖС.$$

За ступенем нутритивної недостатності усі хворі поділені на 3 групи: I — 64 пацієнти без нутритивної недостатності, II — 24 — з легким, III — 10 із середнім ступенем нутритивної недостатності.

Групу контролю становили 20 практично здорових осіб без ознак нутритивної недостатності.

Дослідження видового та кількісного складу мікрофлори вмісту ТК проводили методом посіву 10-кратних розведень (10^{-1} – 10^{-9}) на стандартний набір елективних та диференційно-діагностичних поживних середовищ для виділення аеробних та анаеробних мікроорганізмів. Градацію відхилень у складі кишкової мікрофлори здійснювали за трьома ступенями: I — компен-

сований (легкий), II — субкомпенсований (середній), III — декомпенсований (тяжкий) дисбактеріоз.

Хроматографію КЖК у копрофільтраті пацієнтів проводили на хроматографі «Крістал-5000» за методикою G. Zhao (2006). Контрольні значення вмісту КЖК в калі: оцтова кислота (С2) — 0,013–0,028 мкл/мл, пропіонова кислота (С3) — 0,0043–0,0057 мкл/мл, масляна кислота (С4) — 0,068–0,08 мкл/мл.

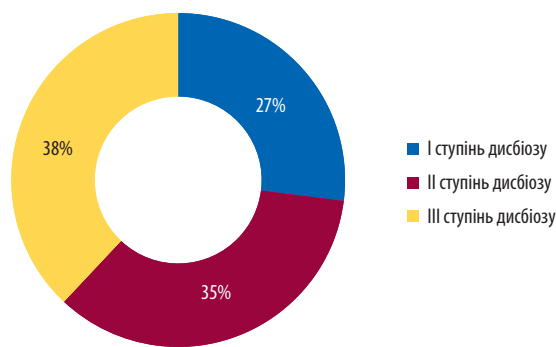
Обробку результатів здійснювали у пакеті «Statistica 6.0». Оскільки більшість даних мала нормальний розподіл, використовували показники параметричної статистики. Вірогідність різниці між вибірками оцінювали за t-критерієм Стюдента, розбіжності вважали вірогідними при $p < 0,05$. Усі кількісні показники наведені у вигляді $M \pm m$, де M — середнє арифметичне, m — похибка середнього арифметичного. Кореляційний аналіз проводили за допомогою коефіцієнта кореляції Пірсона.

Усі засоби виміральної техніки, які використовували при виконанні роботи, пройшли метрологічну повірку в установленому порядку.

Результати та їх обговорення

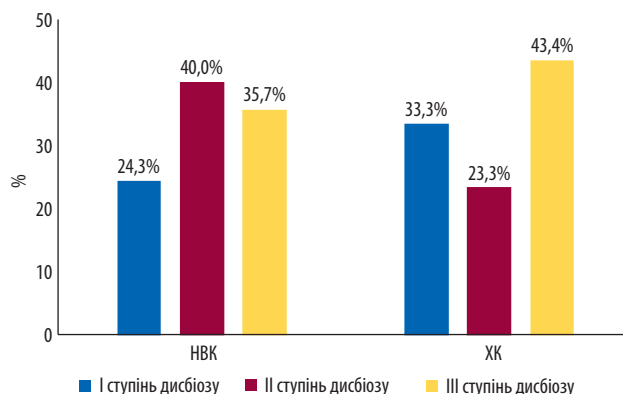
За результатами проведених мікробіологічних досліджень, у 100,0% пацієнтів із ХЗЗК відмічали порушення мікробіоценозу ТК. Порівняльний аналіз показав, що у загальній групі хворих на ХЗЗК переважали пацієнти з декомпенсованою формою дисбіозу (38%) (рис. 1).

Рисунок 1 Розподіл хворих на ХЗЗК за ступенем дисбіозу



У хворих на НВК домінував дисбіоз II ступеня, що становило 40,0% хворих, тоді як у хворих на ХК переважав III ступінь дисбіозу (43,4%) (рис. 2).

Рисунок 2 Розподіл частоти дисбіотичних порушень за нозологією



Аналіз досліджених показників за нозологіями виявив різницю у вираженості дисбіотичних порушень між хворими на НВК та ХК (табл. 1).

Як при НВК, так і при ХК виявлено зниження основних симбіонтів мікробіоценозу ТК. Так, зниження рівня біфідобактерій відмічено у 26 (86,7%) хворих на ХК проти 63 (90,0%) пацієнтів із НВК, знижена концентрація лактобактерій зафіксована у всіх хворих на ХК проти 62 (88,6%) — на НВК.

У процесі дослідження виділені умовно-патогенні ентеробактерії (УПЕ) родів *Klebsiella* (16,1% хворих на НВК та 26,7%

Таблиця 1 Стан мікрофлори ТК у хворих на ХЗЗК

Мікроорганізми	Показники концентрації	ХЗЗК (n=100)	НВК (n=70)	ХК (n=30)
<i>Bifidobacterium</i>	≥ 8,0 КУО/г (норма)	11 (11,0%)	7 (10,0%)	4 (13,3%)
	< 8,0 КУО/г (нижче норми)	89 (89,0%)	63 (90,0%)	26 (86,7%)
<i>Lactobacillus</i>	≥ 6,0 КУО/г (норма)	8 (8,0%)	8 (11,4%)	0 (0%)
	< 6,0 КУО/г (нижче норми)	92 (92,0%)	62 (88,6%)	30 (100,0%)
Ентерококи	< 6,0 КУО/г (нижче норми)	24 (24,0%)	14 (20,0%)	10 (33,3%)
<i>Escherichia coli</i> з нормальною ферментативною активністю	≥ 6,0 КУО/г (норма)	64 (64,0%)	46 (65,7%)	18 (60,0%)
	< 6,0 КУО/г (нижче норми)	36 (36,0%)	24 (34,3%)	12 (40,0%)
<i>Escherichia coli</i> лактазонегативні	> 10 ⁴ КУО/г (вище норми)	5 (5,0%)	5 (7,1%)	0 (0%)
<i>Escherichia coli</i> гемолітичні	> 10 ⁴ КУО/г (вище норми)	24 (24,0%)	15 (21,4%)	9 (30,0%)
Гриби роду <i>Candida</i>	≥ 4,0 КУО/г (вище норми)	36 (36,0%)	25 (35,7%)	11 (36,6%)
Непатогенний стафілокок	> 10 ⁴ КУО/г (вище норми)	13 (13,0%)	2 (2,9%)	11 (36,6%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	≥ 4,0 КУО/г (вище норми)	9 (9,0%)	9 (12,9%)	0 (0%)
УПЕ	≥ 5,0 КУО/г (вище норми)	39 (39,0%)	26 (37,1%)	13 (43,3%)
Патогенні ентеробактерії		Не виявлені	Не виявлені	не виявлені

хворих на ХК), *Citrobacter* (6,5% хворих на НВК та 6,7% хворих на ХК). Крім того, у пацієнтів із ХЗЗК з однаковою частотою (6,5% хворих на НВК та у 6,7% хворих на ХК) виділено *Proteus*, концентрація яких сягала 8,9 КУО/г. Слід відмітити, що УПЕ роду *Enterobacter* виділені тільки у хворих на НВК (10,9%). Також у 12,9% хворих на НВК визначено патогенний стафілокок.

У 35,7% обстежених хворих на НВК та у 36,6% хворих на ХК відмічено підвищений рівень дріжджоподібних грибів роду *Candida* (≥ 4,0 КУО/г). У 21,4% хворих на НВК та у 30,0% хворих на ХК висівали гемолітичні біовари *Escherichia coli*.

Кількісні зміни виявлених відхилень у мікробіоценозі ТК у хворих на ХЗЗК представлені в табл. 2.

Таблиця 2 Стан мікробіоценозу ТК у пацієнтів із ХЗЗК

Мікроорганізми (показники концентрації)	Частота виявлених порушень, %	Середні показники концентрації (M±m) (КУО/г)	
		У хворих на ХЗЗК	Контроль
<i>Bifidobacterium</i> (< 8,0 КУО/г)	89,0	6,23±0,21*	9,56±0,57
<i>Lactobacillus</i> (< 6,0 КУО/г)	92,0	2,57±0,15*	6,91±0,27
<i>Candida</i> (≥ 4,0 КУО/г)	36,0	1,83±0,21	3,30±0,30
УПЕ (≥ 5,0 КУО/г)	39,0	1,82±0,30	4,20±0,30

*p<0,001 порівняно з контролем.

Так, вірогідне зниження рівня біфідобактерій виявлено у 89,0% пацієнтів із ХЗЗК (p<0,001), знижена концентрація лактобактерій — у 92,0% пацієнтів (p<0,001). Ступінь дисбіозу зворотно корелював з рівнем біфідобактерій (r=-0,37; p<0,001) та позитивно — з наявністю УПЕ (r=0,45; p<0,001). У процесі дослідження у загальній групі виділені УПЕ родів *Enterobacter* (10,9%), *Serratia* (1,8%), *Klebsiella* (28,1%), *Citrobacter* (2,2%), *Proteus* (11,7%). Майже у 1/3 хворих їх концентрація сягала 8,9 КУО/г. У 36,0% обстежених зафіксовано підвищений рівень дріжджоподібних грибів роду *Candida* (≥ 4,0 КУО/г). Встановлено позитивний кореляційний зв'язок рівня дріжджоподібних грибів роду *Candida* з кількістю паличкоядерних лейкоцитів (r=0,25; p<0,001), сегментоядерних лейкоцитів (r=0,29; p<0,001) та негативний кореляційний зв'язок з кількістю еозинофілів (r=-0,26; p<0,05) та лімфоцитів (r=-0,26; p<0,001). Крім того, у 24% хворих висівали гемолітичні біовари *Escherichia coli*, яких в нормі не повинно бути у вмісті ТК, при цьому у половині випадків відмічали їх домінування над *Escherichia coli* з нормальною ферментативною активністю.

Аналіз показників мікрофлори ТК у групах хворих з різним нутритивним статусом показав суттєві зміни стану мікрофлори ТК в досліджених групах та виявив різницю в розподілі хворих за глибиною дисбіотичних порушень (табл. 3).

Таблиця 3 Стан мікробіоценозу ТК у пацієнтів із ХЗЗК залежно від ступеня нутритивної недостатності

Група	Кількість хворих з дисбіозом							
	Усього		I ступеня		II ступеня		III ступеня	
	n	%	n	%	n	%	n	%
I	64	100,0	26	40,6	21	32,8	17	26,5
II	24	100,0	5	20,8	10	41,6	9	37,5
III	10	100,0	4	40,0	3	30,0	5	50,0

Як видно з табл. 3, серед хворих досліджених груп субкомпенсована форма дисбіозу переважала у пацієнтів II групи (41,6%), компенсована — мала майже однакову частоту у I і III групах (40,6 та 40% відповідно). Декомпенсовану форму дисбіозу частіше відмічали у хворих III групи (50,0%), на відміну від I групи, де її частота становила лише 26,5%.

Середні показники кількості мікроорганізмів у вмісті ТК та частота виявлених змін їх концентрації залежно від нутритивного статусу наведені у табл. 4.

Таблиця 4 Характеристика мікробіоценозу ТК у хворих залежно від ступеня нутритивної недостатності

Мікроорганізми (показники концентрації)	Середні показники концентрації (M±m), КУО/г/кількість хворих зі змінами у складі мікрофлори, %			
	I група	II група	III група	Контроль
<i>Bifidobacterium</i> (< 8,0 КУО/г)	6,89±0,45*/63,2	6,07±0,29*/71,4	6,07±0,37*/79,3	9,58±0,57
<i>Lactobacillus</i> (< 6,0 КУО/г)	2,57±0,38*/94,7	2,55±0,22*/92,0	2,69±0,32*/90,0	6,93±0,29
<i>Candida</i> (≥ 4,0 КУО/г)	1,23±0,50/26,3	1,86±0,29/41,3	2,22±0,39/55,2	3,2±0,30
УПЕ (≥ 5,0 КУО/г)	1,89±0,75/26,3	1,87±0,4/27,0	1,66±0,56/24,1	4,3±0,30

*p<0,001 порівняно з контролем.

За даними аналізу, суттєві відмінності у складі нормофлори вмісту ТК зафіксовані у хворих в усіх групах. Зниження концентрації біфідобактерій у вмісті ТК у пацієнтів III групи виявляли найчастіше — у 79,3% випадків, тоді як у хворих I та II групи цей показник становив відповідно 63,2 та 71,4%. Дефіцит лактобактерій найчастіше відмічали у пацієнтів I групи (94,7%).

Крім того, у III групі вищою була частота виділення дріжджоподібних грибів роду *Candida*: на 28,9% вище, ніж у I групі, та на 13,9%, ніж у II групі. Частота виявлення УПЕ була майже однакою у всіх трьох групах: 26,3; 27 та 24,1% відповідно.

Для більш детального вивчення порушень у мікробіоценозі кишкової у 76 пацієнтів з ХЗЗК досліджували вміст КЖК С2-С4 у калі.

Метод газової хроматографії з визначення абсолютного та відносного вмісту КЖК у копрофільтраті дозволяє в досить короткі строки оцінити структурні зміни та метаболічну активність мікрофлори кишечника. Так, рівень оцтової кислоти (C2) у 100,0% пацієнтів усіх трьох груп (з/без нутритивної недостатності) з ХЗЖК був зниженим відносно контролю ($p < 0,001$), такі самі зміни виявлені й у пацієнтів з НВК та ХК. Так, у пацієнтів із НВК відмічали вірогідне зниження рівня оцтової кислоти у 3,3 рази ($p < 0,001$) відносно контролю у II групі та майже у 10 разів у III групі. Це вказувало на виражене пригнічення продуцентів цього метаболіту, що підтверджувалося мікробіологічним дослідженням — у пацієнтів із ХЗЖК висівали гемолітичні біовари *Escherichia coli*, спостерігали їх домінування над *Escherichia coli* з нормальною ферментативною активністю. Кількісні показники рівнів КЖК залежно від нозології та ступеня нутритивної недостатності відображені у табл. 5–7.

Таблиця 5 Вміст КЖК в копрофільтраті пацієнтів із ХЗЖК без нутритивної недостатності, мкл/мл

Показник	Контроль (n=7), M±m	ХЗЖК (n=55), M±m	НВК (n=44), M±m	ХК (n=11), M±m
Оцтова кислота (C2)	0,20±0,003	0,035±0,050**	0,029±0,039**	0,058±0,081**
Пропіонова кислота (C3)	0,0045±0,0002	0,02±0,026	0,017±0,004	0,03±0,026*
Масляна кислота (C4)	0,08±0,001	0,03±0,04	0,03±0,036	0,04±0,0009

* $p < 0,05$ — вірогідність змін порівняно з групою контролю; ** $p < 0,001$ — вірогідність змін порівняно з групою контролю.

У пацієнтів із НВК виявлено вірогідне підвищення рівнів пропіонової кислоти (C3) у 4,4 рази ($p < 0,05$) у II та III групах. Це вказує на посилення процесів пропіонового бродіння у хворих на НВК з нутритивною недостатністю.

Тенденція до підвищення вмісту нерозгалужених КЖК, які утворюються при анаеробному бродінні вуглеводів у цих хворих, дає можливість припустити участь кишкової мікрофлори у розвитку та прогресуванні ХЗЖК, тож можливо використовувати показники КЖК у копрофільтраті у якості маркерів цих змін.

Таблиця 6 Вміст КЖК у копрофільтраті пацієнтів із ХЗЖК з легким ступенем нутритивної недостатності, мкг/мкл

Показник	Контроль (n=7), M±m	ХЗЖК (n=17), M±m	НВК (n=11), M±m	ХК (n=6), M±m
Оцтова кислота (C2)	0,20±0,003	0,045±0,067**	0,061±0,079**	0,014±0,013**
Пропіонова кислота (C3)	0,0045±0,0002	0,016±0,017	0,02±0,019*	0,008±0,007
Масляна кислота (C4)	0,08±0,001	0,02±0,02	0,03±0,02	0,032±0,028*

* $p < 0,05$ — вірогідність змін порівняно з групою контролю; ** $p < 0,001$ вірогідність змін порівняно з групою контролю.

Таблиця 7 Вміст КЖК у копрофільтраті пацієнтів із ХЗЖК з середнім ступенем нутритивної недостатності, мкг/мкл

Показник	Контроль (n=7), M±m	ХЗЖК (n=4), M±m	НВК (n=3), M±m	ХК (n=1), M±m
Оцтова кислота (C2)	0,20±0,003	0,014±0,013**	0,019±0,01**	0,0±0,0**
Пропіонова кислота (C3)	0,0045±0,0002	0,017±0,015*	0,02±0,015*	0,003
Масляна кислота (C4)	0,08±0,001	0,02±0,02	0,01±0,014	0,0±0,0

* $p < 0,05$ — вірогідність змін порівняно з групою контролю; ** $p < 0,001$ вірогідність змін порівняно з групою контролю.

Також виявлено тенденцію до значного зниження показників масляної кислоти (C4), особливо у хворих на НВК у III групі (майже у 8 разів), однак слід зазначити, що зниження було значущим, проте невірогідним. Ця тенденція прямо вказує на зниження продуцентів масляної кислоти, яка є енергетичним субстратом для епітеліоцитів ТК. Це, в свою чергу, уповільнює та перешкоджає процесам загоєння та відновлення слизової оболонки при патологічному стані, що ускладнює перебіг і посилює тяжкість основного захворювання та неминує веде до погіршення нутритивного статусу. Тож можна розглянути можливість

використання цього показника як предиктора посилення тяжкості, а отже і погіршення нутритивного статусу.

Висновки

Проведені мікробіологічні дослідження свідчать про наявність глибоких змін якісного та кількісного складу мікрофлори ТК у 100,0% пацієнтів із ХЗЖК з переважанням дисбіозу III ступеня (38%). Основні зміни стосувалися вірогідного ($p < 0,001$) зменшення кількості основних симбіонтів мікробіоценозу ТК, а саме зниження рівня біфідобактерій у 89% та лактобактерій — у 92% пацієнтів у загальній групі ХЗЖК.

У хворих на ХК та НВК виявлено вірогідне зниження рівня біфідобактерій (86,7 та 90%) ($p < 0,001$). Рівень лактобактерій знижений в усіх хворих на ХК та 88,6% в групі НВК ($p < 0,001$).

Виявлено залежність дисбіотичних змін у досліджених хворих залежно від наявності або ступеня нутритивної недостатності. Декомпенсовану форму дисбіозу частіше відмічали у хворих III групи (50%), на відміну від I групи, де її частота становила лише 26,5%. Зниження концентрації біфідобактерій у вмісті ТК у хворих III групи виявляли найчастіше — у 79,3%, тоді як дефіцит лактобактерій найчастіше відмічали у хворих I групи (94,7%). Крім того, у III групі вищою була частота виділення дріжджоподібних грибів роду *Candida*.

При аналізі відносного вмісту КЖК у копрофільтраті виявлено, що рівень оцтової кислоти (C2) у 100% пацієнтів усіх трьох груп (з наявністю або без нутритивної недостатності) з ХЗЖК був зниженим відносно контролю ($p < 0,001$), що вказувало на виражене пригнічення продуцентів цього метаболіту (*Escherichia coli* з нормальною ферментативною активністю) і підтверджувалося мікробіологічним дослідженням.

У пацієнтів з НВК відмічали вірогідне підвищення рівнів пропіонової кислоти (C3) у 4,4 рази ($p < 0,05$) у II та III групах. Тенденція до підвищення вмісту нерозгалужених КЖК, які утворюються при анаеробному бродінні вуглеводів у цих хворих, дає можливість припустити участь кишкової мікрофлори у розвитку та прогресуванні ХЗЖК, тож можливо використовувати показники КЖК у копрофільтраті у якості маркерів цих змін.

Виявлено тенденцію до значного зниження показників масляної кислоти (C4), особливо у хворих на НВК у III групі. Враховуючи наслідки недостатності цього метаболіту у просвіті ТК, можливе використання цього показника як предиктора посилення тяжкості, а отже і погіршення нутритивного статусу.

Отже, різноспрямовані відхилення від контролю цих метаболітів можуть служити біохімічними маркерами структурних і функціональних порушень кишкового мікробіоценозу. Враховуючи вищенаведене, визначення показників вмісту КЖК може мати діагностичне і прогностичне значення.

Список використаної літератури/References:

- Nishida A., Inoue R., Inatomi O. et al. (2018) Gut microbiota in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Clin. J. Gastroenterol.*, 11(1): 1–10. doi:10.1007/s12328-017-0813-5.
- Younis N., Zarif R., Mahfouz R. (2020) Inflammatory bowel disease: between genetics and microbiota. *Mol. Biol. Rep.*, 47(4): 3053–3063. doi:10.1007/s11033-020-05318-5.
- Kaplan G.G., Ng S.C. (2017) Understanding and Preventing the Global Increase of Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology*, 152(2): 313–321. doi:10.1053/j.gastro.2016.10.020.
- Kaplan G.G. (2015) The global burden of IBD: from 2015 to 2025. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 12(12): 720–727. doi:10.1038/nrgastro.2015.150.
- Lavelle A., Sokol H. (2020) Gut microbiota-derived metabolites as key actors in inflammatory bowel disease. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 17(4): 223–237. doi:10.1038/s41575-019-0258-z.
- Zhu R., He P., Liu Z. et al. (2021) Editorial: Microbiome in IBD: From Composition to Therapy. *Front. Pharmacol.*, 12: 721992. doi:10.3389/fphar.2021.721992.
- Glassner K.L., Abraham B.P., Quigley E.M.M. (2020) The microbiome and inflammatory bowel disease. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 145(1): 16–27. doi:10.1016/j.jaci.2019.11.003.
- Rooks M.G., Garrett W.S. (2016) Gut microbiota, metabolites and host immunity. *Nat. Rev. Immunol.*, 16(6): 341–352. doi:10.1038/nri.2016.42.
- Agus A., Denizot J., Thévenot J. et al. (2016) Western diet induces a shift in microbiota composition enhancing susceptibility to Adherent-Invasive *E. coli* infection and intestinal inflammation. *Sci. Rep.*, 6: 19032. doi:10.1038/srep19032.

10. Scott N.A., Andrusaitė A., Andersen P. et al. (2018) Antibiotics induce sustained dysregulation of intestinal T cell immunity by perturbing macrophage homeostasis. *Sci. Transl. Med.*, 10(464): eaao4755. doi:10.1126/scitranslmed.aao4755.
11. Pascal V., Pozuelo M., Borrueal N. et al. (2017) A microbial signature for Crohn's disease. *Gut*, 66(5): 813–822. doi:10.1136/gutjnl-2016-313235.
12. Louis P., Flint H.J. (2017) Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota. *Environ Microbiol.*, 19(1): 29–41. doi:10.1111/1462-2920.13589.
13. Corrêa-Oliveira R., Fachi J.L., Vieira A. et al. (2016) Regulation of immune cell function by short-chain fatty acids. *Clin. Transl. Immunol.*, 5(4): e73. doi: 10.1038/cti.2016.17.
14. Parada Venegas D., De la Fuente M.K., Landskron G. et al. (2019) Short Chain Fatty Acids (SCFAs)-Mediated Gut Epithelial and Immune Regulation and Its Relevance for Inflammatory Bowel Diseases. *Front. Immunol.*, 10: 277. doi:10.3389/fimmu.2019.00277.
15. Fernando M.R., Saxena A., Reyes J.L., McKay D.M. (2016) Butyrate enhances antibacterial effects while suppressing other features of alternative activation in IL-4-induced macrophages. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 310(10): G822–G831. doi:10.1152/ajpgi.00440.2015.
16. Sun M., Wu W., Liu Z., Cong Y. (2017) Microbiota metabolite short chain fatty acids, GPCR, and inflammatory bowel diseases. *J. Gastroenterol.*, 52(1): 1–8. doi:10.1007/s00535-016-1242-9.
17. Franzosa E.A., Sirota-Madi A., Avila-Pacheco J. et al. (2019) Gut microbiome structure and metabolic activity in inflammatory bowel disease. *Nat. Microbiol.*, 4(2): 293–305. doi:10.1038/s41564-018-0306-4.

Features of dysbiotic changes of the large intestine and indicators of short-chain fatty acids in patients with chronic inflammatory bowel disease depending on the nutritional status

Yu.M. Stepanov, M.V. Titova

SI «Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Dnipro, Ukraine

Abstract. Objective: to determine the depth of dysbiotic disorders of the quantitative and qualitative composition of the microflora of the colon, as well as the levels of short-chain fatty acids (SCFA) in patients with chronic inflammatory bowel disease (CIBD), depending on the nosology and the degree of nutritional deficiency. **Materials and methods.** We examined 100 patients with CIBD, aged from 19 to 79 years, on average (42.54±1.5) years, including 70 patients with nonspecific ulcerative colitis (NEC), 30 — with Crohn's disease (CD). According to the degree of nutritional insufficiency, all patients were

divided into 3 groups (I — without signs of nutritional insufficiency, II — with mild degree and III — with moderate degree of nutritional insufficiency). All patients underwent general clinical examination, anthropometric measurements, bacteriological examination of feces and chromatography of SCFA in coprofiltrate. **Results.** Conducted microbiological studies revealed the presence of profound changes in the qualitative and quantitative composition of the microflora of the colon in 100.0% of patients with CIBD, with a predominance of dysbiosis III (38.0%). The main changes were related to the probable ($p<0.001$) decrease in the number of main symbionts of the colon microbiocenosis, namely the decrease in the level of bifidobacteria in 89.0% of patients and lactobacilli in 92.0% of patients in the general group of CIBD. Patients with CD and NEC showed a probable decrease in the level of bifidobacteria (86.7 and 90.0%) compared with the healthy individuals ($p<0.001$). Lactobacilli were reduced in all patients with CD and 88.6% in the NEC group ($p<0.001$). The dependence of dysbiotic changes in the studied patients on the presence or degree of nutritional insufficiency was revealed. Decompensated form of dysbiosis was more common in patients of group III (50.0%) in contrast to group I, where its frequency was only 26.5%. Decreases in the concentration of bifidobacteria in the contents of the colon in patients of group III were found most often — in 79.3%, while the deficiency of lactobacilli was most often observed in patients of group I (94.7%). In addition, in group III the frequency of yeast-like fungi of the genus *Candida* was higher (55.2%). When analyzing the relative content of SCFA in coprofiltrate, changes were observed in both the total content and indicators of individual SCFA compared with the healthy individuals, which indicated the inhibition of metabolic activity of normal microflora. It was found that the level of acetic acid (C2) in patients of all three groups (with or without nutritional deficiency) with CIBD was 100.0% reduced compared with the control ($p<0.001$). In patients with NEC there was a probable increase in levels of propionic acid (C3) in 4.4 times ($p<0.05$) in groups II and III, and also showed a tendency to a significant decrease in butyric acid (C4), mainly in patients of group III. **Conclusions.** Profound changes in the qualitative and quantitative composition of the microflora in the large intestine were identified in all patients with CIBD. The severity of dysbiotic changes increases with increasing severity of nutritional insufficiency, so it is possible to consider severe dysbiosis as a prognostic marker of nutritional status disorders. Divergent deviations from the control of the main metabolites of the colon microbiota can serve as biochemical markers of structural and functional disorders of the intestinal microbiocenosis. Given the above, the determination of the content of SCFA can have diagnostic and prognostic value.

Key words: nutritional status, microbiota, nonspecific ulcerative colitis, Crohn's disease, short-chain fatty acids.

Відомості про авторів:

Степанов Юрій Миронович — доктор медичних наук, професор, директор ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України», Дніпро, Україна.

Тітова Марина Вікторівна — аспірант, лікар-гастроентеролог II категорії, відділення і науковий відділ захворювань кишечника ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України», Дніпро, Україна.

Адреса для кореспонденції:

Тітова Марина Вікторівна
49074, Дніпро, просп. Слобожанський, 96
E-mail: titovamarichka@gmail.com

Information about the authors:

Stepanov Yuriy M. — Doctor of Medical Sciences, Professor, Director of the SI «Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Dnipro, Ukraine.

Titova Marina V. — graduate student, gastroenterologist of the II category, Department and scientific department of intestinal diseases of the SI «Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Dnipro, Ukraine.

Address for correspondence:

Marina Titova
49074, Dnipro, Slobozhansky ave., 96
E-mail: titovamarichka@gmail.com

Надійшла до редакції/Received: 10.08.2021

Прийнято до друку/Accepted: 18.08.2021