Оригінальні дослідження
Original Researches

ГАСТРОЕНТЕРОЛОГІЯ
GASTROENTEROLOGY

Патологія печінки і жовчовивідної системи / Pathology of Liver and Biliary Excretion System

УДК 616.36-003.826+578.834.1+579.61 *DOI: https://doi.org/10.22141/2308-2097.57.1.2023.525*

Степанов Ю.М., Діденко В.І., Кленіна І.А., Татарчук О.М., Вішнаревська Н.С., Петішко О.П.
ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України», м. Дніпро, Україна

Оцінка стану мікрофлори товстого кишечника у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки з імунною відповіддю на SARS-CoV-2

For citation: Gastroenterologìa. 2023;57(1):23-29. doi: 10.22141/2308-2097.57.1.2023.525

Резюме. ***Актуальність.*** *Поширеність неалкогольної жирової хвороби печінки (НАЖХП) на сьогодні зростає в усьому світі та становить серйозну проблему, що обумовлює цікавість до її вивчення, особливо у хворих з імунною відповіддю на SARS-CoV-2. Дослідження останніх років присвячені вивченню впливу мікрофлори на розвиток та прогресування НАЖХП.* ***Мета:*** *визначити рівень дисбіотичних порушень мікробіоценозу товстої кишки у хворих на НАЖХП з імунною відповіддю на SARS-CoV-2.* ***Матеріали та методи.*** *Обстежено 34 хворі на НАЖХП, у яких виявлено IgG до SARS-CoV-2. Усі обстежені хворі були розподілені на дві групи: I групу становили 17 пацієнтів, у яких в анамнезі не виявлений SARS-CoV-2 за даними ПЛР; II — 17 хворих, у яких в анамнезі був виявлений SARS-CoV-2 за даними ПЛР. Контрольну групу становили 10 практично здорових осіб. Проводили хроматографічне визначення вмісту коротколанцюгових жирних кислот, видового та кількісного складу мікрофлори товстої кишки.* ***Результати.*** *Проведені мікробіологічні дослідження виявили наявність змін якісного та кількісного складу мікрофлори товстої кишки у 88,2 % хворих на НАЖХП, з переважанням дисбіозу II у 41,2 % хворих I групи та дисбіозу I у 70,6 % хворих II групи. Ці зміни були обумовлені зменшенням кількості біфідо- та лактофлори, підвищенням концентрації умовно-патогенних мікроорганізмів, грибів роду Candida spp. Мікробіом кишечника пацієнтів з НАЖХП, які перенесли SARS-CoV-2, показав порушення біосинтезу КЛЖК у копрофільтраті, що проявлялося у підвищенні медіани оцтової та пропіонової кислот та зниженні медіани масляної кислоти у пацієнтів I групи. Медіана анаеробного індексу (AI) мала статистично вірогідне зниження у пацієнтів I групи в 1,5 раза ($p < 0,05$) та тенденцію до зниження у пацієнтів II групи. Виявлено вірогідні міжгрупові відмінності AI, медіана якого в 1,4 раза була вищою в II групі ($p < 0,05$) порівняно з I групою.* ***Висновки.*** *Встановлено зниження рівня представників нормофлори, підвищення умовно-патогенних мікроорганізмів, тенденцію до зниження концентрації масляної кислоти, підвищення оцтової та пропіонової кислот в калі пацієнтів з НАЖХП, які перенесли SARS-CoV-2.*

Ключові слова: *неалкогольна жирова хвороба печінки, COVID-19, мікробіота товстої кишки, коротколанцюгові жирні кислоти.*

Вступ

Хронічні дифузні захворювання печінки набувають усе більшого поширення у світі, серед них перше місце посідає неалкогольна жирова хвороба печінки (НАЖХП), яку діагностують у майже половини дорослого населення, 25–30 % хворих мають небезпеку прогресування до тяжчої форми — неалкогольного стеатогепатиту [1–4]. Жирова інфільтрація панкреатобіліарного тракту асоційована з порушенням процесів травлення, що супроводжується розвитком дисбіотичних змін та інтестинальних розладів. Зміни кишкової мікробіоти, зі свого боку, можуть індукувати системну запальну реакцію та сприяти прогресуванню НАЖХП [5, 6].

У шлунково-кишковому тракті (ШКТ) людини в нормі живуть від 300 до 500 різних видів бактерій. Мікробний пейзаж проксимальних і дистальних відділів

© 2023. The Authors. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License, CC BY, which allows others to freely distribute the published article, with the obligatory reference to the authors of original works and original publication in this journal.

Для кореспонденції: Кленіна Інна Анатоліївна, кандидат біологічних наук, завідувачка науково-дослідного сектора, ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України», пр. Слобожанський, 96, м. Дніпро, 49074, Україна; e-mail: inklenina@gmail.com; контактний тел.: +380 (66) 731 33 03
For correspondence: Inna Klenina, Head of the Research Sector, SI "Institute of Gastroenterology of the NAMS of Ukraine", Slobozhanskii avenue, 96, Dnipro, 49074, Ukraine; e-mail: inklenina@gmail.com; contact phone: +380 (66) 731 33 03
Full list of authors information is available at the end of the article.

тонкої кишки значно різниться. Так, якщо у верхніх відділах тонкої кишки кількість мікроорганізмів становить приблизно 10^2 колонієутворюючих одиниць/мл (КУО/мл), то ближче до товстої кишки (ТК) їх вже налічується 10^9 КУО/мл. Крім того, в проксимальних відділах тонкої кишки найбільш поширеними є грампозитивні аеробні види бактерій, водночас грамнегативні анаеробні бактерії, такі як бактероїди, еубактерії, біфідобактерії, пептострептококи, румінококи, клостридії, лактобактерії, частіше локалізуються в дистальних відділах.

Видовий і кількісний склад мікрофлори кожного біотопу ШКТ досить сталий унаслідок впливу численних захисних факторів з боку як організму хазяїна, так і власне мікробіоти: генетична схильність; кисле шлункове середовище; антеградна перистальтика (третя фаза інтердигестивного мігруючого моторного комплексу), що перешкоджає адгезії мікроорганізмів, що проникають з їжею [5]; анатомічні сфінктери ШКТ; постійний рівень pH у різних біотопах; стан імунної системи слизових оболонок; бактерицидні речовини, що виробляються слизовими оболонками (лізоцим, лактоферин тощо); фагоцитарна активність макрофагів слизової оболонки; секреторний IgA; бактеріальні коліцини і мікроцини (ендогенні пептидні антибіотики мікробного походження).

Встановлено, що у пацієнтів з НАЖХП значно підвищена проникність кишкового бар'єра через порушення міжклітинних щільних з'єднань. Зростання абсолютної кількості мікроорганізмів або зміни у якісному складі, що спостерігаються при синдромі надмірного бактеріального росту, можуть призвести до збільшення кишкової проникності, бактеріальної транслокації, активації прозапальних шляхів та прогресування структурних змін печінки [7, 8]. Продукти кишкової мікробіоти активують шляхи запалення в печінці, викликаючи пошкодження печінки і погіршення НАЖХП. Порушення кишкового бар'єра разом з дисбіозом мікробіоти кишечника корелює з тяжкістю стеатозу і стану фіброзу [9].

Коротколанцюгові жирні кислоти (КЛЖК) включають оцтову, пропіонову та масляну кислоти, які утворюються в результаті ферментації кишковими мікробами неперетравлюваних вуглеводів, таких як некрохмальні полісахариди, резистентний крохмаль і різні сахариди, що погано засвоюються. КЛЖК не тільки забезпечують важливі джерела поживних речовин та енергії з кишкового епітелію, але також є попередниками для ліпогенезу та глюконеогенезу (метаболічний шлях, який призводить до утворення глюкози з невуглеводних вуглецевих субстратів, таких як лактат, гліцерин та глюкогенні амінокислоти). Глюконеогенез бере участь у розвитку НАЖХП після всмоктування та доставки поживних речовин до печінки через ворітну вену. Деякі клінічні дослідження показують, що зразки фекалій пацієнтів з несприятливим перебігом НАЖХП збагачені оцтовою, масляною та пропіоновою кислотами, а рівень КЛЖК корелює з тяжкістю НАЖХП [10, 11].

Нещодавно світ зіткнувся із новим небезпечним для життя вірусом SARS-CoV-2, збудником COVID-19. Цей вірус може викликати шлунково-кишкові та гепатобіліарні прояви на додаток до тяжкої респіраторної патології. ШКТ і гепатобіліарна дисемінація, ймовірно, є відображенням як реплікації SARS-CoV-2, так і імунопатологічних наслідків COVID-19 [12]. Зараз COVID-19 можна розглядати як системне інфекційно-запальне захворювання. Багато досліджень припускають тісний зв'язок між COVID-19 і травною системою [13]. Ураження печінки при COVID-19 може корелювати із загальною тяжкістю захворювання [14].

Досить мало даних, як саме змінюється склад мікрофлори кишечника у пацієнтів з НАЖХП, які перенесли COVID-19. Нещодавні дослідження показали, що пацієнти з інфекцією SARS-CoV-2 мають значно меншу бактеріальну різноманітність, меншу чисельність *Bifidobacterium* і *Faecalibacterium* і підвищену кількість *Bacteroides* на рівні роду порівняно з контрольною групою, яка зазнала SARS-CoV-2. Існують зворотні зв'язки між тяжкістю захворювання та чисельністю *Bifidobacterium* і *Faecalibacterium*, прямий зв'язок між тяжкістю та чисельністю *Bacteroides* [15]. Важливо, що дисбактеріоз кишечника, який характеризується зменшенням корисних бактеріальних спільнот і збільшенням умовно-патогенних мікроорганізмів, корелює з гіршими наслідками інфекції COVID-19, особливо у госпіталізованих пацієнтів із серйозними наявними захворюваннями ШКТ і печінки [12]. Що стосується інфекції SARS-CoV-2, існує імунологічна координація між кишечником і легенями [16, 17]. Численні дослідження показали, що здоровий мікробіом кишечника може бути пов'язаний зі зниженням смертності від SARS-CoV-2 [18] і що пробіотики слід розглядати для профілактики [19].

Інфекція SARS-CoV-2 змінює мікробіоту кишечника, спричиняючи зменшення різноманітності мікробіоти, збільшення кількості умовно-патогенних мікроорганізмів, таких як *Clostridium hathewayi*, *Actinomyces viscosus*, *Streptococcus* та *Veillonella*, поряд зі зменшенням кількості корисних бактерій, включно з *Faecalibacterium prausnitzii*, яка є однією із бактерій, що продукують масляну кислоту. Надлишок *Corrobacillus, Clostridium ramosum* і *Clostridium hathewayi* позитивно корелював з тяжкістю COVID-19, тоді як кількість *Faecalibacterium prausnitzii*, що продукують КЛЖК, зворотно корелювала з тяжкістю захворювання [20–22].

У дослідженні за участю 66 пацієнтів із COVID-19 концентрації КЛЖК у калі були значно нижчими у пацієнтів із COVID-19 із тяжким перебігом, ніж у контрольній групі без COVID-19, і спостережуване одночасне виснаження *F. prausnitzii*, вочевидь, сприяє зниженню здатності до біосинтезу КЛЖК у пацієнтів із COVID-19. У тому ж дослідженні рівні КЛЖК у калі залишалися зниженими навіть при останньому огляді, через 30 днів після захворювання, що вказує на те, що інфекція SARS-CoV-2 може чинити тривалий вплив на склад мікробіому кишечника [20–22]. Деякими дослідниками було показано, що коронавірусне захворювання SARS-CoV-2 пов'язане зі зміненим складом мікробіоти кишечника. Філогенетичні групи кишкових бактерій, які беруть участь у метаболізмі КЛЖК, були виснажені (встановлено зниження їх концентрації) у пацієнтів з НАЖХП, інфікованих SARS-CoV-2 [11].

Метою дослідження було визначення рівня дисбіотичних порушень мікробіоценозу товстої кишки у хворих на НАЖХП з імунною відповіддю на SARS-CoV-2.

Матеріали та методи

Під спостереженням знаходились 34 хворі на НАЖХП, у яких виявлено IgG до SARS-CoV-2. Рівень IgG до SARS-CoV-2 визначали імуноферментним методом тест-системою фірми Vitrotest. Серед обстежених було 28 (82,4 %) чоловіків та 6 (17,6 %) жінок, середній вік становив (42,6 ± 2,1) року. Усі обстежені хворі були розподілені на дві групи: I групу становили 17 пацієнтів, у яких в анамнезі не виявлений SARS-CoV-2 за даними ПЛР; II — 17 хворих, у яких в анамнезі був виявлений SARS-CoV-2 за даними ПЛР. Контрольну групу становили 10 практично здорових осіб.

Подані для публікації матеріали не заперечують положенням біоетики, дослідження проводилося з дотриманням біоетичних WMA, Helsinki Declaration of General Assembly of World Medical Association (2013) — «Ethical principles for medical research involving human subjects», згідно з чинним законодавством України, схвалене комісією з питань медичної та біологічної етики ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України».

Дослідження видового та кількісного складу мікрофлори ТК проводили методом посіву десятикратних розведень (10^{-1}–10^{-9}) на стандартний набір селективних та диференційно-діагностичних поживних середовищ для виділення аеробних та анаеробних мікроорганізмів. Для визначення популяційного рівня мікроорганізмів підраховували кількість однотипних колоній. Глибину дисбіотичних порушень оцінювали, використовуючи градацію за ступенями, яка свідчить про амплітуду відхилень мікробіоценозу ТК: відсутність відхилень — еубіоз; наявність відхилень — дисбіоз. Дисбіоз I ступеня — компенсований, легкий, який характеризується незначними змінами в аеробній частині мікробіоценозу (зниження або збільшення популяції кишкової палички), відсутність змін з боку біфідо- та лактофлори; II ступеня — субкомпенсований, середній, характеризується незначним зменшенням вмісту біфідо- і лактобактерій та появою кількісних змін з боку кишкової палички та інших умовно-патогенних мікроорганізмів (протея, клебсієл, стафілококів тощо); III ступеня — декомпенсований, тяжкий, для якого характерне значне зниження вмісту біфідо- та лактофлори, суттєве зменшення кількості кишкової палички, значне зростання кількості умовно-патогенних і патогенних бактерій та грибів роду *Candida* spp.

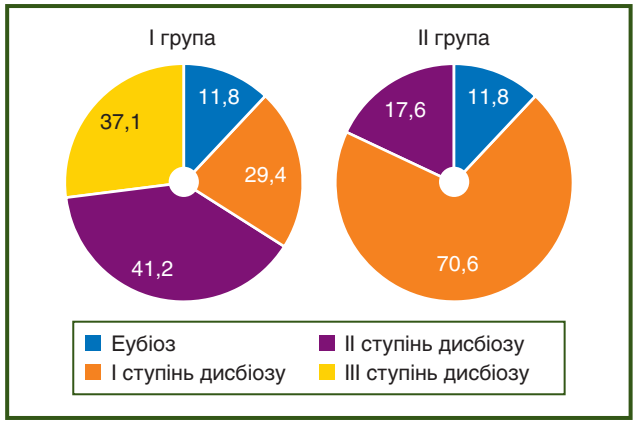

Рисунок 1 — Розподіл обстежених хворих за частотою виявлення різних ступенів дисбіозу

Визначення КЛЖК у копрофільтраті пацієнтів проводили на хроматографі Chromatek-Crystal 5000, який обладнаний капілярною колонкою, наповненою нерухомою фазою: HP-FFAP (опис: 30 м довжина × 0,320 мм діаметр × 0,25 мкм плівка), та полум'яно-іонізаційним детектором при 220 °C, з азотом як газом-носієм зі швидкістю потоку 1,2 мл/хв, за методикою Guohua Zhao (2006). Площі під піками були розраховані за допомогою програми-інтегратора Chromatek 652281, підключеної до газового хроматографа. Ідентифікацію кожної коротколанцюгової жирної кислоти проводили шляхом порівняння її часу утримування з часом її відповідного стандарту. Використовували стандарти коротколанцюгових жирних кислот — оцтової, пропіонової та масляної фірми Sigma-Aldrich, США.

Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою програми Statistica 6.0. Кількісні дані подані у вигляді медіани (Me), нижнього та верхнього квартилів (Q1; Q3). Порівняння кількісних показників здійснювали за допомогою U-критерію Манна — Уїтні. Якісні показники подані у вигляді абсолютних та відносних частот, їх порівняння проводили за допомогою критерію χ^2. Відмінності показників вважались вірогідними при рівні значущості, не нижчому за 95 %.

Результати

Проведені мікробіологічні дослідження вмісту ТК у хворих з імунною відповіддю на SARS-CoV-2 при НАЖХП показали наявність глибоких змін якісного та кількісного складу мікрофлори у 88,2 % (у 30 із 34) хворих (рис. 1).

Серед досліджених осіб субкомпенсована форма дисбіозу переважала у хворих I групи (41,2 %), компенсована — у хворих II групи (70,6 %). Дисбіотичні порушення головним чином були обумовлені різким зниженням чисельності основних симбіонтів товстокишкового мікробіоценозу та зростанням концентрації умовно-патогенної мікрофлори. Так, зниження рівня біфідобактерій (менше ніж 10^9 КУО/г) спостерігалось у 5 (29,4 %) хворих I групи та у 6 (35,3 %) хворих II групи, знижена концентрація лактобактерій (менше ніж 10^7 КУО/г) виявлена у 16 (94,1 %) хворих I групи та у 16 (94,1 %) хворих II групи (рис. 2, 3). У процесі дослідження лише у хворих I групи були виділені умовно-патогенні ентеробактерії: у 5,9 % хворих *Enterobacter* spp., у 17,6 % хворих — *Klebsiella* spp.

Staphylococcus aureus було визначено у 17,6 % пацієнтів I групи та у 11,8 % хворих II групи. Крім того, лише у хворих I групи було виділено *Proteus* spp. (5,9 %). У 35,3 % обстежених I групи та у 23,5 % — II групи був підвищений рівень дріжджоподібних грибів роду *Candida* spp. (≥ 10^2 КУО/г). Крім того, у 11,8 % хворих як I, так і II групи висівали гемолітичні біовари кишкової

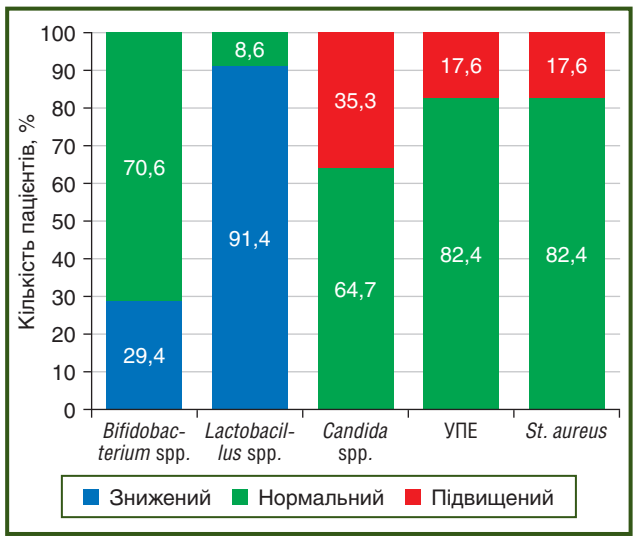

Рисунок 2 — Частота змін складу мікрофлори товстої кишки у пацієнтів I групи

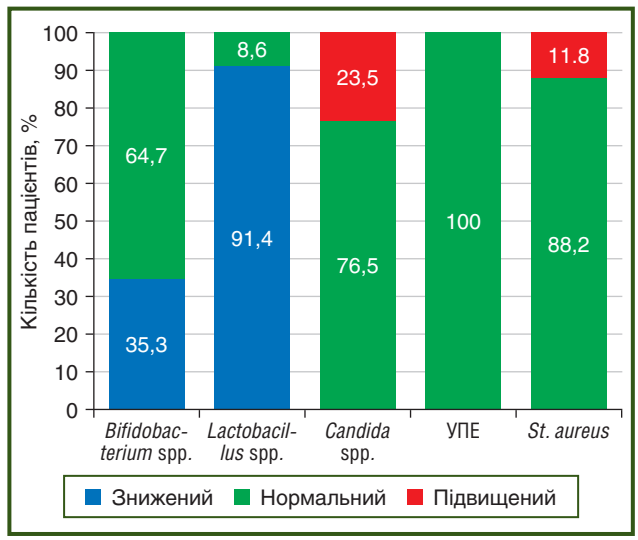

Рисунок 3 — Частота змін складу мікрофлори товстої кишки у пацієнтів II групи

палички, яких у нормі не повинно бути у вмісті ТК, при цьому у половині випадків спостерігалось їх домінування над кишковою паличкою з нормальною ферментативною активністю.

Характеристика вмісту КЛЖК у копрофільтраті пацієнтів з неалкогольною жировою хворобою печінки з імунною відповіддю на SARS-CoV-2 наведена в табл. 1.

Порівняно з контрольною групою у пацієнтів з НАЖХП, які перенесли SARS-CoV-2, спостерігалися значні зміни у функціональності кишкового мікробіому, що характеризувалися посиленням здатності до біосинтезу оцтової та пропіонової кислот у копрофільтраті. Так, медіана вмісту оцтової кислоти у копрофільтраті пацієнтів I групи підвищувалася в 1,3 раза ($p > 0,05$), а медіана вмісту пропіонової кислоти в 2,4 раза ($p < 0,01$). У пацієнтів II групи медіана вмісту оцтової кислоти мала тенденцію до підвищення в 1,1 раза, а медіана вмісту пропіонової була вірогідно підвищеною в 2 рази ($p < 0,05$).

Медіана вмісту масляної кислоти у пацієнтів II групи мала тенденцію до зниження в 1,2 раза порівняно з групою контролю.

З урахуванням дисбалансу у синтезі КЛЖК медіана анаеробного індексу (АІ) мала статистично вірогідне зниження у пацієнтів I групи в 1,5 раза ($p < 0,05$) та тенденцію до зниження в 1,1 раза у пацієнтів II групи. Виявлено вірогідні міжгрупові відмінності АІ, медіана якого в 1,4 раза була вищою в II групі ($p < 0,05$) порівняно з I групою.

Обговорення

Останніми роками активно вивчається роль кишкової мікробіоти у розвитку НАЖХП. Було показано, що кишкова мікробіота відіграє важливу роль у підтримці метаболічних змін при НАЖХП [5, 7, 8]. Результати останніх досліджень вказують на те, що розвиток НАЖХП пов'язаний із значними змінами у складі мікробіоти кишечника, а також підвищенням рівня бактеріальних ендотоксинів [23]. У дослідженні Z. Safari встановлено, що у хворих на НАЖХП частіше виявляються *Enterobacteriaceae* та рід *Escherichia*, *Ruminococcus* [24]. У нашому дослідженні встановлено наявність глибоких змін якісного та кількісного складу мікрофлори товстої кишки у 88,2 % хворих. У хворих I групи (41,2 %) домінуючою була субкомпенсована форма дисбіозу, II групи (70,6 %) — компенсована. Зміни кількісного та якісного складу мікробіоценозу ТК були обумовлені дисбалансом аеробної та анаеробної мікрофлори. Спостерігалося зменшення кількості біфідо- і лактофлори, підвищення — кишкової палички, її гемолітичних біо-

Таблиця 1 — Спектр коротколанцюгових жирних кислот у копрофільтраті пацієнтів з неалкогольною жировою хворобою печінки з імунною відповіддю на SARS-CoV-2, Me (Q1; Q3)

Показник, мг/г	Контрольний показник (n = 10)	I група (n = 17)	II група (n = 17)
Оцтова кислота (С2)	3,8 (3,6; 4,3)	4,8 (3,6; 7,0)	3,9 (2,9; 4,4)
Пропіонова кислота (С3)	1,0 (0,4; 1,9)	2,4 (1,8; 2,8)**	2,0 (1,7; 3,2)*
Масляна кислота (С4)	14,6 (13,1; 17,1)	13,0 (9,4; 18,8)	12,2 (7,15; 17,9)
∑ (С2–С4)	20,0 (19,2; 21,8)	20,6 (15,4; 25,6)	18,5 (12,2; 24,5)
Анаеробний індекс	4,2 (3,5; 4,6)	2,7 (2,0; 3,9)*	3,8 (2,9; 4,84)#

Примітки: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$ — вірогідність відмінностей між показниками хворих порівняно з контрольною групою; # — $p < 0,05$ — вірогідність відмінностей між I та II групами.

Рисунок 4 — Склад кишкової мікробіоти та коротколанцюгових жирних кислот у пацієнтів з неалкогольною жировою хворобою печінки з імунною відповіддю на SARS-CoV-2

варів, умовно-патогенних мікроорганізмів та дріжджоподібних грибів. Лише у хворих I групи було виділено *Proteus* spp. Частота виділення дріжджоподібних грибів роду *Candida* spp. була вищою у хворих I групи (35,3 % хворих).

Деякими дослідниками повідомляється, що мікробіом кишечника у пацієнтів з НАЖХП, які перенесли SARS-CoV-2, показав порушення здатності до біосинтезу КЛЖК у копрофільтраті. У нашому дослідженні аналіз фекальних метаболітів показав тенденцію до зниження концентрації масляної кислоти, підвищення оцтової та пропіонової кислот у калі пацієнтів з НАЖХП, які перенесли SARS-CoV-2, порівняно з контрольною групою. Збільшення концентрації КЛЖК у калі сприяє зменшенню pH кишкового середовища, що сприяє стримуванню зростання патогенних мікроорганізмів. Крім зниження pH, оцтова і молочна КЛЖК сприяють регуляції моторної і секреторної активності кишечника, мають послаблюючий і антимікробний ефекти. Пропіонова кислота транспортується в печінку і включається в процес глюконеогенезу, синтезу біогенних амінів, поліпшує мікроциркуляцію в слизовій оболонці кишечника і підтримує в ньому метаболічні процеси, блокує адгезію до колоноцитів умовно-патогенної мікрофлори. Цілком ймовірно, що підвищення концентрації КЛЖК у калі свідчить про їхню протекторну дію на фоні зниження продукуючих їх мікроорганізмів [11].

Таким чином, питання про те, чи впливає змінена продукція КЛЖК кишковою мікробіотою на перебіг захворювання у пацієнтів з НАЖХП, які перенесли SARS-CoV-2, заслуговує на продовження дослідження, щоб продемонструвати, чи постійно змінюється склад мікробіоти кишечника та фекальні рівні КЛЖК.

Висновки

1. У 88,2 % хворих на НАЖХП з імунною відповіддю на SARS-CoV-2 виявили наявність глибоких змін якісного та кількісного складу мікрофлори товстої кишки з переважанням дисбіозу II ступеня (41,2 %) в I групі та дисбіозу I ступеня (70,6 %) в II групі.

2. У пацієнтів, у яких в анамнезі не виявлений SARS-CoV-2 за даними ПЛР, у 17,6 % випадків визначенні умовно-патогені мікроорганізми, в 35,3 % — гриби роду *Candida* spp.

3. Мікробіом кишечника пацієнтів з НАЖХП, які перенесли SARS-CoV-2, показав порушення біосинтезу КЛЖК у копрофільтраті, що проявлялося у підвищенні медіани оцтової та пропіонової кислот та зниженні медіани масляної кислоти у пацієнтів I групи.

4. Медіана AI мала статистично вірогідне зниження у пацієнтів I групи в 1,5 раза ($p < 0,05$) та тенденцію до зниження у пацієнтів II групи. Виявлено вірогідні міжгрупові відмінності AI, медіана якого в 1,4 раза була вищою в II групі ($p < 0,05$) порівняно з I групою.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів та власної фінансової зацікавленості при підготовці даної статті.

Інформація про фінансування. Робота виконувалася в рамках науково-дослідної роботи «Вивчити особливості перебігу неалкогольної жирової хвороби печінки у хворих з імунною відповіддю до SARS-CoV2 та обґрунтувати нові підходи до діагностично-лікувальної тактики» (номер держреєстрації 0121U111551). Усі пацієнти підписали інформовану згоду на участь у цьому дослідженні.

Внесок авторів. *Степанов Ю.М.* — концепція дослідження; *Діденко В.І.* — дизайн дослідження; *Клеміна І.А.* — аналіз даних хроматографії, оформлення статті;

Татарчук О.М. — аналіз даних мікробіологічного дослідження, оформлення статті; *Вішнаревська Н.С.* — проведення мікробіологічного дослідження; *Петішко О.П.* — статистична обробка матеріалу, редагування статті.

References

1. *Srivastava A, Gailer R, Tanwar S, et al. Prospective evaluation of a primary care referral pathway for patients with non-alcoholic fatty liver disease. J Hepatol. 2019 Aug;71(2):371-378. doi:10.1016/j.jhep.2019.03.033.*
2. *Younossi ZM. Non-alcoholic fatty liver disease - a global public health perspective. J Hepatol. 2019 Mar;70(3):531-544. doi:10.1016/j.jhep.2018.10.033.*
3. *Caballería L, Pera G, Arteaga I, et al. High Prevalence of Liver Fibrosis Among European Adults With Unknown Liver Disease: A Population-Based Study. Clin Gastroenterol Hepatol. 2018 Jul;16(7):1138-1145.e5. doi:10.1016/j.cgh.2017.12.048.*
4. *Kar S, Paglialunga S, Jaycox SH, Islam R, Paredes AH. Assay validation and clinical performance of chronic inflammatory and chemokine biomarkers of NASH fibrosis. PLoS One. 2019 Jul 10;14(7):e0217263. doi:10.1371/journal.pone.0217263.*
5. *Zavhorodnia NYu, Lukianenko OYu, Klenina IA, Hrabovska OI, Tatarchuk OM, Vishnarevska NS. Assessment of the intestinal microbiota and fecal short-chain fatty acids content in children with non-alcoholic fatty liver disease. Gastroenterologìa. 2020;54(1):68-74. doi:10.22141/2308-2097.54.1.2020.199143. (in Ukrainian).*
6. *Zavhorodnia NYu, Lukianenko OYu, Konenko IS. The state of pancreatobiliary system and intestinal microflora in children with nonalcoholic fatty liver disease. Gastroenterologìa. 2016;62(4):37-42. doi:10.22141/2308-2097.4.62.2016.81092. (in Ukrainian).*
7. *Sirchak YeS, Griga VI, Petrichko OI, Pichkar YI. Efficiency of using Bifidobacterium infantis 35624 in patients with non-alcoholic fatty liver disease. Gastroenterologìa. 2020;54(1):8-17. doi:10.22141/2308-2097.54.1.2020.199136.*
8. *Fadieienko GD, Solomentseva TA. Possibilities of non-pharmacological correction of intestinal microbiota in patients with non-alcoholic fatty liver disease. Modern gastroenterology. 2020;(5):71-78. doi:10.30978/MG-2020-5-71. (in Russian).*
9. *Jasirwan COM, Lesmana CRA, Hasan I, Sulaiman AS, Gani RA. The role of gut microbiota in non-alcoholic fatty liver disease: pathways of mechanisms. Biosci Microbiota Food Health. 2019;38(3):81-88. doi:10.12938/bmfh.18-032.*
10. *Chu H, Duan Y, Yang L, Schnabl B. Small metabolites, possible big changes: a microbiota-centered view of non-alcoholic fatty liver disease. Gut. 2019 Feb;68(2):359-370. doi:10.1136/gutjnl-2018-316307.*
11. *Zhang F, Wan Y, Zuo T, et al. Prolonged Impairment of Short-Chain Fatty Acid and L-Isoleucine Biosynthesis in Gut Microbiome in Patients With COVID-19. Gastroenterology. 2022 Feb;162(2):548-561.e4. doi:10.1053/j.gastro.2021.10.013.*
12. *Levy E, Stintzi A, Cohen A, Desjardins Y, Marette A, Spahis S. Critical appraisal of the mechanisms of gastrointestinal and hepatobiliary infection by COVID-19. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2021 Aug 1;321(2):G99-G112. doi:10.1152/ajpgi.00106.2021.*
13. *Lei HY, Ding YH, Nie K, et al. Potential effects of SARS-CoV-2 on the gastrointestinal tract and liver. Biomed Pharmacother. 2021 Jan;133:111064. doi:10.1016/j.biopha.2020.111064.*
14. *Chams N, Chams S, Badran R, et al. COVID-19: a multidisciplinary review. Front Public Health. 2020 Jul 29;8:383. doi:10.3389/fpubh.2020.00383.*
15. *Hazan S, Stollman N, Bozkurt HS, et al. Lost microbes of COVID-19: Bifidobacterium, Faecalibacterium depletion and decreased microbiome diversity associated with SARS-CoV-2 infection severity. BMJ Open Gastroenterol. 2022 Apr;9(1):e000871. doi:10.1136/bmjgast-2022-000871.*
16. *Ahlawat S, Asha, Sharma KK. Immunological co-ordination between gut and lungs in SARS-CoV-2 infection. Virus Res. 2020 Sep;286:198103. doi:10.1016/j.virusres.2020.198103.*
17. *Follmer C. Viral Infection-Induced Gut Dysbiosis, Neuroinflammation, and α-Synuclein Aggregation: Updates and Perspectives on COVID-19 and Neurodegenerative Disorders. ACS Chem Neurosci. 2020 Dec 16;11(24):4012-4016. doi:10.1021/acschemneuro.0c00671.*
18. *Janda L, Mihalčin M, Šťastná M. Is a healthy microbiome responsible for lower mortality in COVID-19? Biologia (Bratisl). 2021;76(2):819-829. doi:10.2478/s11756-020-00614-8.*
19. *Tiwari SK, Dicks LMT, Popov IV, et al. Probiotics at war against viruses: what is missing from the picture? Front Microbiol. 2020 Aug 20;11:1877. doi:10.3389/fmicb.2020.01877.*
20. *Sajdel-Sulkowska EM. Neuropsychiatric Ramifications of COVID-19: Short-Chain Fatty Acid Deficiency and Disturbance of Microbiota-Gut-Brain Axis Signaling. Biomed Res Int. 2021 Oct 5;2021:7880448. doi:10.1155/2021/7880448.*
21. *Włodarczyk J, Czerwiński B, Fichna J. Short-chain fatty acids-microbiota crosstalk in the coronavirus disease (COVID-19). Pharmacol Rep. 2022 Dec;74(6):1198-1207. doi:10.1007/s43440-022-00415-7.*
22. *Zhang C, Shi L, Wang FS. Liver injury in COVID-19: management and challenges. Lancet Gastroenterol Hepatol. 2020 May;5(5):428-430. doi:10.1016/S2468-1253(20)30057-1.*
23. *Stepanov YuM, Didenko VI, Klenina IA, Zigalo EV, Petishko OP. Pathogenetic aspects of the effects of the bacterial overgrowth syndrome on metabolism of free fatty acids in patients with chronic diffusive liver diseases. Modern gastroenterology. 2019;6(110):21-27. doi:10.30978/MG-2019-6-21. (in Ukrainian).*
24. *Safari Z, Gérard P. The links between the gut microbiome and non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). Cell Mol Life Sci. 2019 Apr;76(8):1541-1558. doi:10.1007/s00018-019-03011-w.*

Отримано/Received 21.01.2023
Рецензовано/Revised 03.02.2023
Прийнято до друку/Accepted 10.02.2023

Information about authors
Stepanov Yu.M., corresponding member of the National Academy of Sciences of Ukraine, MD, professor, Director, State Institution "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Dnipro, Ukraine; e-mail: gastro@amnu.gov.ua; https://orcid.org/0000-0002-6721-2468
Didenko V.I., MD, PhD, Senior Researcher, Deputy Director for Research, State Institution "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Dnipro, Ukraine; e-mail: vladdidenko23@gmail.com; https://orcid.org/0000-0001-8953-396X
Klenina I.A., PhD, Head of the research sector, State Institution "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Dnipro, Ukraine; e-mail: inklenina@gmail.com; https://orcid.org/0000-0002-5878-179X
Tatarchuk O.M., MD, PhD, senior researcher, associate senior researcher of the research sector, State Institution "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Dnipro, Ukraine; e-mail: om_tat@ukr.net; https://orcid.org/0000-0002-0672-972X
Vishnarevska N.S., bacteriologist of the research sector, State Institution "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Dnipro, Ukraine; e-mail: natalia12345239@gmail.com; https://orcid.org/0000-0002-3300-6930
Petishko O.P., researcher of the department of scientific-organizational, methodical work and information technologies, State Institution "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Dnipro, Ukraine; e-mail: petishko_oksana@i.ua; https://orcid.org/0000-0002-4559-4055

Conflicts of interests. Authors declare the absence of any conflicts of interests and own financial interest that might be construed to influence the results or interpretation of the manuscript.
Funding information. The work was performed as part of research work "To study the features of the course of non-alcoholic fatty liver disease in patients with an immune response to SARS-CoV-2 and to substantiate new approaches to diagnostic and therapeutic tactics" (state registration number 0121U111551). All patients signed an informed consent to participate in this study.
Contribution of the authors. *Stepanov Yu.M.* — concept of research; *Didenko V.I.* — design of research; *Klenina I.A.* — chromatography data analysis, writing an article; *Tatarchuk O.M.* — microbiological research data analysis, writing an article; *Vishnarevska N.S.* — conducting a microbiological study; *Petishko O.P.* — statistical processing of material, editing of the article.

Yu.M. Stepanov, V.I. Didenko, I.A. Klenina, O.M. Tatarchuk, N.S. Vishnarevska, O.P. Petishko
State Institution "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Dnipro, Ukraine

Evaluation of the state of colonic microflora in patients with non-alcoholic fatty liver disease with immune response to SARS-CoV-2

Abstract. ***Background.*** The prevalence of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is currently increasing worldwide and is a serious problem that causes interest in its study, especially in patients with an immune response to severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 (SARS-CoV-2). In recent years, studies have been investigating the influence of microflora on the development and progression of NAFLD. The purpose of the study was to determine the level of dysbiotic disorders of the colonic microbiocenosis in patients with NAFLD with an immune response to SARS-CoV-2. ***Materials and methods.*** We examined 34 patients with NAFLD who were found to have IgG to SARS-CoV-2. All examined patients were divided into two groups: group I consisted of 17 patients with no history of SARS-CoV-2 according to the polymerase chain reaction (PCR) data; group II — 17 patients with a history of SARS-CoV-2 by PCR. The control group consisted of 10 practically healthy individuals. Chromatographic determination of the content of short-chain fatty acids, species and quantitative composition of the colonic microflora was performed. ***Results.*** The microbiological studies revealed changes in the qualitative and quantitative composition of the colonic microflora in 88.2 % of patients with NAFLD, with a predominance of dysbiosis II in 41.2 % of patients in group I and dysbiosis I in 70.6 % of patients in group II. These changes were due to a decrease in the number of bifidobacteria and lactobacilli, an increase in the concentration of opportunistic pathogens, fungi of the genus Candida spp. The intestinal microbiome of patients with NAFLD who had SARS-CoV-2 showed impaired biosynthesis of short-chain fatty acids in the coprofiltrate, which was manifested by an increase in the median acetic and propionic acids and a decrease in the median butyric acid in patients of group I. The median anaerobic index had a statistically significant decrease in patients of group I by 1.5 times ($p < 0.05$) and a tendency to a decrease in patients of group II. Significant intergroup differences were found for anaerobic index, its median was 1.4 times higher in group II ($p < 0.05$) compared with group I. ***Conclusions.*** A decrease in the level of normoflora representatives, an increase in opportunistic pathogens, a tendency to a decrease in the concentration of butyric acid, an increase in acetic and propionic acids in the feces were found in patients with NAFLD who had SARS-CoV-2.

Keywords: non-alcoholic fatty liver disease; COVID-19; colonic microbiota; short-chain fatty acids