

Вплив специфічного штаму *E. coli* Nissle 1917 на ефективність лікування печінкової енцефалопатії

Е.Г. Манжалій

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця МОЗ України, Київ, Україна

Мета роботи: оцінити вплив пробіотика на основі штаму *E. coli* Nissle 1917 на ефективність лікування печінкової енцефалопатії (ПЕ).

Матеріали та методи. Усього в обстеження було включено 52 особи. Пацієнти з ПЕ були поділені на 3 групи відповідно до способу лікування: 1-ша група — 14 хворих, яких лікували лактулозою, 2-га група — 14 хворих, яким призначали рифаксимін, 3-тя група — 14 хворих, що отримували пробіотик на основі штаму *E. coli* Nissle 1917 за схемою і склали основну групу (ОГ). До групи порівняння залучено 10 практично здорових осіб. В ОГ були включені дорослі пацієнти із цирозом печінки та гепатитом із переходом у цироз з двома і більше документованими епізодами ПЕ впродовж останніх 6 міс, крім того, не менше одного епізоду — впродовж останніх 3 міс. Із них 35% пацієнтів — з 1 ступенем тяжкості ПЕ, 25% — з 2 ступенем тяжкості за критеріями West Haven і 40% пацієнтів — із латентною (мінімальною) ПЕ. Ефективність лікування у всіх групах порівнювали, оцінюючи концентрацію аміаку у крові, прозапальних цитокінів, рівень дисбіотичних порушень і когнітивних функцій. Когнітивні функції визначали за методикою тесту Штрупа за Ваая та співавт. (2013) із застосуванням мобільного додатка EncephalApp_Stroop. Усі показники у кожній групі вимірювали до та після лікування. Застосовані стандартні методи статистики.

Результати. Показано, що після лікування із застосуванням лактулози концентрація аміаку зменшилася на 11,8% ($p < 0,05$). У хворих, які приймали рифаксимін або пробіотик на основі *E. coli* Nissle 1917, зниження аміаку було більш суттєвим, ніж після застосування лактулози. Показник зменшення рівня аміаку у групі із пробіотиком становив 38,5% ($p < 0,05$). Отримані дані свідчать про те, що терапевтичне застосування *E. coli* Nissle 1917 було майже на 30% ефективнішим порівняно із лактулозою. У пацієнтів, які отримували пробіотик на основі штаму *E. coli* Nissle 1917, було виявлено найбільш виражене відновлення симбіотичної мікрофлори. Нормалізацію вмісту біфідофлори реєстрували у 57,1% ($p < 0,05$) хворих, лактофлори — у 35,7% ($p < 0,05$). У хворих, яких лікували пробіотиком, зменшення запальних процесів значущо не відрізнялося від ефектів рифаксими́ну. За умов прийому *E. coli* Nissle 1917 рівень ІНФ- γ знизився на 44,8% ($p < 0,05$), ІЛ-6 — на 47,0% ($p < 0,05$), а ІЛ-8 — на 51,9% ($p < 0,05$) порівняно з відповідним показником до лікування. Лікування лактулозою збільшило швидкість проходження Stroop тесту на 18,1% ($p < 0,05$), рифаксиміном — на 23,2% ($p < 0,05$), а пробіотиком *E. coli* Nissle 1917 — на 31,4% ($p < 0,05$).

Висновки. Пробіотик штаму *E. coli* Nissle 1917 зменшував вміст аміаку, рівень прозапальних цитокінів у крові, відновлював порушену мікрофлору кишківника та покращував когнітивні функції пацієнтів з ПЕ. Застосування штаму *E. coli* Nissle 1917 у групі лікування ПЕ було більш ефективним порівняно із групою, яка приймала лактулозу.

Ключові слова:

печінкова енцефалопатія, хронічні захворювання печінки, цироз, мікробіота, штам *E. coli* Nissle 1917, когнітивні функції, цитокіни.

Печінкову енцефалопатію (ПЕ) розглядають як порушення функціонування мозку, викликане печінково-клітинною недостатністю та/або портосистемним шунтуванням. Цей стан

проявляється широким спектром неврологічних або психіатричних відхилень від субклінічних змін до коми. У розвиток цього захворювання здійснюють внесок численні патогенні чинники.

КОНТАКТНА ІНФОРМАЦІЯ

Манжалій Еліна Георгіївна, к. мед. н.,
Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, Україна. E-mail: elinam@ukr.net

Стаття надійшла до редакції 11.09.2019 р.

Проте вважають, що домінуючу роль у розвитку ПЕ відіграють аміак і меркаптани.

Аміак утворюється із нітрогену нутрієнтів у кишківнику насамперед через руйнування сечовини уреазою колоніальної мікрофлори [2]. За нормальних умов печінка метаболізує аміак до сечовини. При ураженні печінки сполука потрапляє у системний кровообіг і провокує нітрооксидативний стрес головного мозку [3]. Відомо, що аміак посилює проникність гематоенцефалічного бар'єра, підвищує концентрацію ароматичних амінокислот у тканинах головного мозку, зокрема триптофану. Це призводить до синтезу несправжніх нейротрансмітерів при заміщенні ними справжніх. Зниження синтезу фізіологічних допаміну та норадреналіну призводить до неадекватної нейротрансмісії та розвитку ПЕ.

Разом із цим несправжні нейротрансмітери можуть синтезуватися не тільки у головному мозку. Їх джерелом також є мікрофлора кишківника. При порушенні функції печінки та порто-системних шунтів нейротрансмітери потрапляють у головний мозок і стають причиною ПЕ. У низці сучасних досліджень отримані переконливі докази зв'язку ПЕ із дисбіозом кишківника. Так, внутрішньоочеревинне введення ліпосахаридів (ЛПС) на моделі цирозу печінки (ЦП) миші асоціювалося з індукцією прекоми та розвитком цитотоксичного набряку головного мозку тварини [21].

Крім того, у хворих із ЦП спостерігалася позитивна кореляція між *Porphyromonadaceae* і *Alcaligenaceae*, з одного боку, та низькою виразністю когнітивних тестів, з іншого. Також при ПЕ було встановлено збільшення вмісту аміак-продукуючих бактерій *Alcaligenaceae* у кишківнику [6]. Застосування пробіотиків і ферментуючих волокон призводило до збільшення *Lactobacilli*, що не продукують уреазу, з істотним зниженням рівнів у крові аміаку та ендотоксинів, зворотному розвитку мінімальної ПЕ й поліпшенню оцінки тяжкості ЦП по Child-Pugh. Метааналіз впливу пре-, про- або синбіотиків, які модулюють кишкову флору, показав значне поліпшення мінімальної ПЕ [23]. Тому вважають, що у сучасних стратегіях лікування ПЕ необхідно враховувати склад кишкової мікробіоти.

Важливу роль у патогенезі ПЕ відіграє системне запалення. Накопичені дані дають змогу стверджувати, що рівень цитокінів є не лише показником запалення за умов хронічних захворювань печінки (ХЗП) та ПЕ, а й окремий етіологічний чинник цієї патології. Розглядають суттєвими такі механізми зв'язку системного запалення та нейрозапалення: периферичні тканини передають сигнали до головного мозку

через активацію аферентних волокон вагуса. Гематоенцефалічний бар'єр (ГЕБ) передає сигнали до головного мозку через утворення вторинних посередників (НО, простаноїдів) у відповідь на цитокінову стимуляцію. Цитокіни посилюють проникність ГЕБ, проникають у мозок у ділянках порушення ГЕБ, де зумовлюють активацію мікроглії та експресію генів прозапальних медіаторів [14, 15].

Велика кількість наукових робіт свідчить про протизапальні властивості мікрофлори та пробіотичних препаратів за умов різних патологій [16].

Пробіотичні препарати сприяють збільшенню протизапальних і зменшенню прозапальних цитокінів у крові [17]. Бактеріальні продукти здійснюють суттєвий вплив на вісь кишківник-печінка-мозок, локальний і системний імунітет. Імуномодуюча активність показана для коротколанцюгових жирних кислот (КЛЖК), що утворюються через ферментування бактеріями полісахаридів. Більшість кисломолочних бактерій в організмі людини — це представники роду *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Propionobacterium*, *Streptococcus*, облігатні або факультативні анаероби. Ці види бактерій переробляють вуглеводи у провітрі кишківника з утворенням коротколанцюгових жирних кислот (КЖК): оцтової, пропіонової, молочної, масляної, γ -оксимасляної, валеріанової. КЖК мають провідну роль у фізіології товстого кишківника. Вони становлять основний пул аніонів у його провітрі. КЛЖК активують нервові клітини через взаємодію із рецепторами, пов'язаними з G-білком GPR41 і GPR43 [18]. КЛЖК, як показано нещодавно, регулюють синтез серотоніну, що утворюється ентерохромафінними клітинами кишківника та складає 95% серотоніну організму [19]. Відомо про достовірний зв'язок серотоніну кишкового походження та функції головного мозку, зокрема при ПЕ [20]. Це може бути ще одним механізмом зв'язку модулювання мікрофлори та прогресування хвороби.

Дані літератури щодо впливу лактулози на склад мікрофлори суперечливі. На протизапальний вплив повідомлення про відновлення аутохтонної мікрофлори (*Lactobacillaceae*) під впливом лактулози на тлі такої терапії продемонстровано дисбіоз у кишківнику та зменшення співвідношення між аутохтонними та неаутохтонними бактеріями із високим вмістом грампозитивних бактерій *Enterobacteriaceae* та *Bacteroidaceae* [11]. Рифаксимін зумовлює м'яку зміну мікрофлори кишківника, підвищує присутність корисних видів, проте не здійснює впливу на загальне співвідношення бактерій [12]. Такий модулюючий ефект на склад кишкової флори частково

пояснює клінічну ефективність рифаксиміну у зменшенні ендотоксемії та маркерів запалення, що сприяють прогресуванню ПЕ. Протизапальну дію пробіотика штаму *E. coli Nissle 1917* підтверджено *ex vivo* на клітинах крові людини. Пробиотичний штам *E. coli Nissle 1917*, на відміну від низки штамів біфідобактерій і лактобактерій, стимулює вироблення протизапального активного цитокіну інтерлейкіну-10 [22]. Інші автори, які порівнювали вплив *Enterococcus faecium SF68* і лактулози на рівень аміаку, засвідчили однакову ефективність пробіотика та пребіотика [10].

Успішне відновлення мікрофлори може суттєво зменшити активність бактеріальної уреаз, абсорбції аміаку у кишківнику, інтенсивність запальних процесів та ендотоксемию через зниження рівня всмоктування токсинів індолів, оксидолів, фенолів, меркаптанів [13].

Враховуючи певні обмінні процеси нормальної мікрофлори та особливості штаму *E. coli Nissle 1917*: вироблення КЛЖК, метаболізм жовчних кислот, збільшення протизапальних і зменшення прозапальних цитокінів, їхнє застосування може бути ефективним для лікування ПЕ у хворих на ХЗП.

Мета роботи: оцінити вплив пробіотика на основі штаму *E. coli Nissle 1917* на ефективність лікування ПЕ.

Матеріали та методи

Клінічне обстеження хворих на ХЗП було виконано у гастроентерологічному відділенні клінічної бази Національного медичного університету імені О.О. Богомольця – КМКЛ № 3 та консультативно-діагностичному центрі Подільського району м. Києва. Дослідження схвалено комітетом із біоетики вказаних закладів і проведено із дотриманням принципів Гельсінської декларації. До початку дослідження всі пацієнти підписали інформовану згоду.

В обстеження було включено 52 особи (34 чоловіки та 18 жінок). Із них 42 хворих з ПЕ склали основну групу (ОГ) віком від 34 до 60 років (середній вік $(45,4 \pm 5,8)$ року), що перебували на стаціонарному лікуванні, а потім під амбулаторним спостереженням. До групи порівняння залучено 10 практично здорових осіб.

Верифікували діагноз на основі розширеного біохімічного аналізу із визначенням аміаку плазми, розгорнутого аналізу крові, маркерів вірусного гепатиту, еластометрії печінки, езофагогастродуоденоскопії, консультації невропатолога.

Серед пацієнтів давність захворювання складала від 5 до 12 років. В ОГ були включені дорослі пацієнти із ЦП і гепатитом із переходом у ЦП із двома і більше документованими епізодами

ПЕ впродовж останніх 6 міс та не менше одного епізоду – впродовж останніх 3 міс. Серед пацієнтів було 35% – з 1 ступенем тяжкості ПЕ, 25% – з 2 ступенем тяжкості за критеріями West Haven і 40% пацієнтів – із латентною (мінімальною) ПЕ.

42 пацієнти ОГ із ПЕ були поділені ще на 3 групи відповідно до способу лікування: 1-ша група – 14 хворих, яких лікували лактулозою; 2-га група – 14 хворих, яким призначали рифаксимін; 3-тя група – 14 хворих, що отримували пробіотик на основі штаму *E. coli Nissle 1917* за схемою перших 4 дні по 1 капсулі, а потім 2 капсули на добу впродовж 1 міс.

Визначення рівня цитокінів (ІЛ-6, ІЛ-8, ІНФ- γ) проводилося за допомогою ІФА-наборів фірми «Вектор Бест» (Новосибірськ, Росія). Концентрацію цитокінів розраховували за калібрувальним графіком і виражали у пг/мл.

Хворим проведено бактеріологічне дослідження калу на дисбіоз. Порівнювали результати бактеріологічного дослідження калу на дисбіоз: оцінювали відсотки пацієнтів у кожній групі, що характеризувалися зменшенням нижче норми вмісту симбіотичних бактерій *Bifidobacterium* ($< 10^7$ КУО/г), лактобактерій ($< 10^7$ КУО/г), *E. coli* із нормальними властивостями ($< 10^6$ КУО/г) і збільшенням вмісту *E. coli* зі зміненими властивостями ($> 10^6$ КУО/г), патогенних ентеробактерій (у нормі не виявляються) та грибів роду *Candida* ($> 10^4$ КУО/г). Враховуючи той факт, що окремі пацієнти характеризувалися зміною одного компонента мікрофлори, а інші були у межах норми, ми визначали також відсоток пацієнтів, які характеризуються зміною вмісту хоча б одного із представників мікробіоценозу.

Когнітивні функції визначали за методикою тесту Штрупа за Вајаї та співавт. (2013) [1] із застосуванням мобільного додатка Encerphal App_Stroop. Кожен пацієнт проходив тест на смартфоні двічі: до та після лікування, а всі результати реєстрували. Тест складався із двох етапів: без ефекту Штрупа (stroop off) і з ефектом Штрупа (stroop on). На кожному етапі пацієнтам пред'являлися стимули, забарвлені у червоний, синій або зелений колір, а вони мали безпомилково позначити цей колір. В одному проході тесту слід було визначити 10 стимулів, а загалом проходів у кожному етапі було 5. Перед кожним етапом програма видавала по 2 тренувальні проходи. Якщо пацієнт робив помилку, тобто натискав невірний колір, прохід зупинявся і перезавантажувався спочатку, і пацієнту необхідно було завершити 5 проходів безпомилково. На етапі stroop off пацієнти бачили на екрані нейтральний стимул «###» в одному із

трьох кольорів і мали безпомилково встановити колір. На етапі stroop on пацієнти бачили на екрані текстові стимули RED, BLUE, GREEN, кожен напис міг бути у трьох можливих кольорах (червоному, синьому або зеленому), тобто загалом було 9 можливих комбінацій, а пацієнт мав безпомилково оцінити колір, незважаючи на написану назву кольору. Етап з ефектом Штруппа більш складний, адже тут виникає більша кількість помилок і більше необхідно часу для відповіді, коли колір не позначається його назвою (наприклад, слово «червоний» надруковане синім чорнилом замість червоного). Після закінчення тесту оцінювали загальний час (с), необхідний для завершення на етапі stroop off та stroop on.

Ефективність лікування у всіх групах порівнювали, оцінюючи концентрацію аміаку у крові, прозапальних цитокінів, рівень дисбіотичних порушень і когнітивних функцій. Усі показники у кожній групі вимірювали до та після лікування.

Статистичну обробку даних здійснювали у пакеті програм SPSS-20. Показники, що вивчали, представлено у вигляді середнє ± стандартна похибка середнього ($M \pm m$). Розподіл даних було проаналізовано із використанням критерію нормальності Колмогорова—Смирнова. Отримані значення мали параметричний розподіл, тому відмінності між групами були проаналізовані за допомогою дисперсійного аналізу (ANOVA) із використанням тесту Т'юкі для попарних порівнянь. Для порівняння даних у тих самих пацієнтів до та після лікування застосували тест Ст'юдента для залежних вибірок. Для оцінки відмінностей між категоріальними даними (між відсотками пацієнтів у групах) застосовували критерій χ -квадрат. Відмінності між групами вважали статистично значущими при значенні p менше ніж 0,05.

Результати та обговорення

У всіх пацієнтів ОГ перед початком лікування був зареєстрований підвищений рівень аміаку у крові у середньому $107,0 \pm 3,7$ порівняно з $32,0 \pm 4,5$ у групі порівняння ($p < 0,001$).

Лактулоза (4-О- β -галактопіранозил-D-фруктоза) широко застосовується у лікуванні ПЕ. Вона зменшує рН у кишківнику у результаті утворення КЛЖК, створюючи умови для зростання кислоторезистентних лакто- та біфідобактерій, що не експресують фермент уреазу [2, 7]. Після лікування із застосуванням лактулози концентрація аміаку зменшилася на 11,8% ($p < 0,05$) (рис. 1). Отримані дані свідчать, що ефективність лактулози недостатньо висока, що узгоджується з іншими роботами, у яких не була

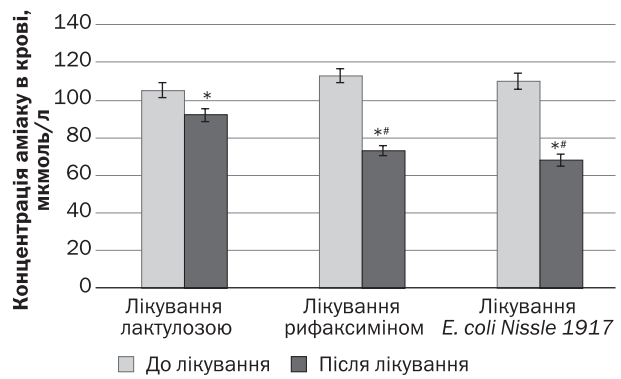


Рис. 1. Концентрація аміаку у крові пацієнтів із печінковою енцефалопатією за умов лікування лактулозою, рифаксиміном і пробіотиком *E. coli Nissle 1917* ($n = 14$ у кожній групі)

Примітка. * $p < 0,05$ порівняно із рівнем до лікування; ** $p < 0,05$ порівняно із лікуванням лактулозою. Так само у рис. 2—6.

виявлена ефективність лактулози [8, 9]. У хворих, яким за терапевтичний чинник давали рифаксимін або пробіотик на основі *E. coli Nissle 1917*, зниження аміаку було більш суттєвим, ніж після застосування лактулози. Рифаксимін — антибіотик, що не абсорбується у кишківнику. Одним із механізмів його є помірне модулювання кишкової мікробіоти та зменшення навантаження токсинами, що продукуються у кишківнику. У групі із рифаксиміном вміст аміаку зменшувався на 35,9% ($p < 0,05$) порівняно із рівнем до лікування та на 21,5% ($p < 0,05$) порівняно із рівнем аміаку у пацієнтів, які отримували лактулозу (див. рис. 1).

Було визначено вплив *E. coli Nissle 1917* на ефективність лікування ПЕ. Показник зменшення рівня аміаку у групі із пробіотиком становив 38,5% ($p < 0,05$) (див. рис. 1). Отримані дані свідчать про те, що терапевтичне застосування *E. coli Nissle 1917* було майже на 30% ефективнішим порівняно із лактулозою. Штам *E. coli Nissle 1917* за допомогою спеціальних адгезивних органел (за типом F-1A, F-1C і фігурні фімбрії) має здатність приєднуватися до слизової оболонки товстого кишківника й організувати мікроколонії, формуючи біоплівки. Вони також є мобільні через наявність джгутиків, що дає їм перевагу колонізації товстої кишки. Отже, ці бактерії, як було показано, підсилюють слизовий бар'єр також через взаємодії з імуномодулюючими та протизапальними механізмами. *E. coli Nissle* гальмує зростання грамнегативних анаеробних бактерій секрецією антимікробних речовин (мікроцинів) і сидерофорів, які захоплюють залізо і тим запобігають росту певного патологічного бактеріального штаму [22].

Таблиця. Відсоток пацієнтів із печінковою енцефалопатією та супутньою зміною мікрофлори за умов лікування лактулозою, рифаксиміном і пробіотиком *E. coli Nissle 1917* (n = 14 у кожній групі), %

Група мікрофлори	Відсоток пацієнтів із дисбіотичними порушеннями					
	Пацієнти, яких лікували лактулозою		Пацієнти, яких лікували рифаксиміном		Пацієнти, яких лікували <i>E. coli Nissle 1917</i>	
	До лікування	Після лікування	До лікування	Після лікування	До лікування	Після лікування
Біфідобактерії	78,6	57,1*	71,4	42,9*	85,7	28,6**
Лактобактерії	64,3	42,9*	57,1	35,7*	57,1	21,4**
<i>E. coli</i> із нормальними властивостями	28,6	28,6	35,7	28,6	35,7	7,1**
<i>E. coli</i> зі зміненими властивостями	28,6	21,4	28,6	14,3*	28,6	0,0**
Патогенні ентеробактерії	35,7	28,6	35,7	21,4*	35,7	0,0**
Гриби <i>Candida</i>	42,9	35,7	50,0	28,6*	50,0	7,1**
Виявлена зміна хоча б однієї групи мікроорганізмів	85,7	71,4*	92,9	64,3*	92,9	28,6**

Примітка. *p < 0,05 порівняно з рівнем до лікування; **p < 0,05 порівняно з лікуванням лактулозою.

Це підтверджує перспективність вивчення *E. coli Nissle 1917* у лікуванні ПЕ.

На тлі порушення функціонування печінки у хворих діагностували дисбіотичні порушення у кишківнику. Понад 85% пацієнтів у всіх групах характеризувалися зміною хоча б однієї групи нормофлори (таблиця). Вміст біфідобактерій і лактобактерій був меншим за 10^7 КУО/г у більше як 70 та 57% хворих відповідно (див. таблицю). Близько 30% пацієнтів мали зменшений вміст бактерій кишкової палички із нормальними властивостями та підвищений вміст бактерій зі зміненими властивостями (див. таблицю). Патогенні ентеробактерії визначали у 35,7% у кожній групі хворих на ПЕ, а гриби роду *Candida* були виявлені майже у половини пацієнтів (див. таблицю).

За умов застосування лактулози суттєво зменшувався відсоток хворих із дисбіотичними порушеннями біфідо- та лактофлори (див. таблицю). Достовірне покращення інших показників мікрофлори у цій групі не реєстрували. У групі пацієнтів, які отримували рифаксимін, спостерігали нормалізацію вмісту біфідобактерій і лактобактерій у 28,6% (p < 0,05) та 21,4% (p < 0,05) відповідно. Також було виявлено зменшення кількості хворих зі збільшеним вмістом зміненої кишкової палички, патогенних ентеробактерій і грибів *Candida*. У пацієнтів, які отримували пробіотик на основі штаму *E. coli Nissle 1917*, було виявлено найбільш виражене відновлення симбіотичної мікрофлори. Нормалізацію вмісту біфідофлори реєстрували у 57,1% (p < 0,05) хворих, лактофлори — у 35,7% (p < 0,05) (див. таблицю). Після лікування *E. coli Nissle 1917* не було виявлено кишкових паличок зі зміненими властивостями та патогенних ентеробактерій у жодного із пацієнтів; та лише в одного хворого реєстрували підвищення вмісту дріжджеподібних грибів (див. таблицю).

На тлі ураження печінки у усіх хворих реєстрували інтенсифікацію запальних процесів. Це підтверджувалося зростанням концентрації прозапальних цитокінів у крові: ІЛ-6, ІЛ-8 та ІНФ- γ у 2–10 разів порівняно із показниками норми. У групі пацієнтів, яких лікували лактулозою, після курсу введення препарату вміст прозапальних ІНФ- γ та ІЛ-8 достовірно не змінився, проте виявлено зменшення рівня ІЛ-6 на 25,7% (p < 0,05) порівняно з рівнем до лікування (рис. 2–4).

Застосування рифаксиміну призвело до значущого зменшення концентрації ІНФ- γ на 29,8% (p < 0,05), ІЛ-6 — на 49,9% (p < 0,05) та ІЛ-8 — на 39,6% (p < 0,05) у сироватці крові пацієнтів другої групи (див. рис. 2–4). У хворих, яких лікували пробіотиком, зменшення запальних процесів значущо не відрізнялося від ефектів рифаксиміну. Так, за умов прийому *E. coli Nissle 1917* рівень ІНФ- γ знизився на 44,8% (p < 0,05), ІЛ-6 — на 47,0% (p < 0,05), а ІЛ-8 — на 51,9% (p < 0,05) порівняно з відповідним показником до лікування (див. рис. 2–4). Порівнюючи ефективність *E. coli Nissle 1917* та лактулози у лікуванні ПЕ, можна стверджувати про більш сильні протизапальні властивості пробіотика, який ефективніше, більш ніж на 20% порівняно з лактулозою, зменшував рівень досліджених прозапальних цитокінів.

Окремо у хворих на ПЕ були оцінені когнітивні порушення за методикою штруп-тесту за Вајаї та співайт. (2013), який був розділений на два етапи. На першому більш простому етапі (stroop off, без ефекту Штрупа) за допомогою мобільного додатка пацієнтам пред'являли текстовий стимул «###» у трьох можливих кольорах (червоному, синьому або зеленому), а пацієнт мав безпомилково оцінити колір. Реєстрували загальний час правильного визначення 10 пред'явлених стимулів у 5-ти проходах

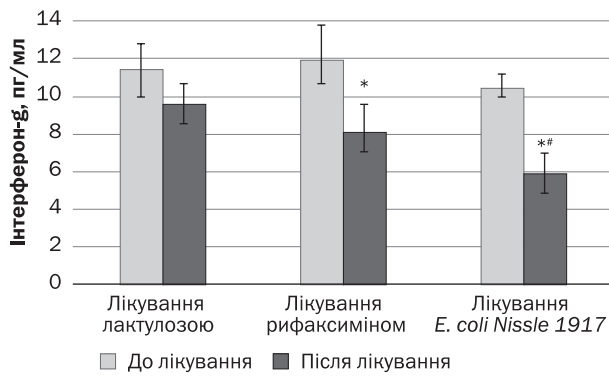


Рис. 2. Концентрація інтерферону-γ у сироватці крові пацієнтів із печінковою енцефалопатією за умов лікування лактулозою, рифаксиміном і пробіотиком *E. coli Nissle 1917* (n = 14 у кожній групі)

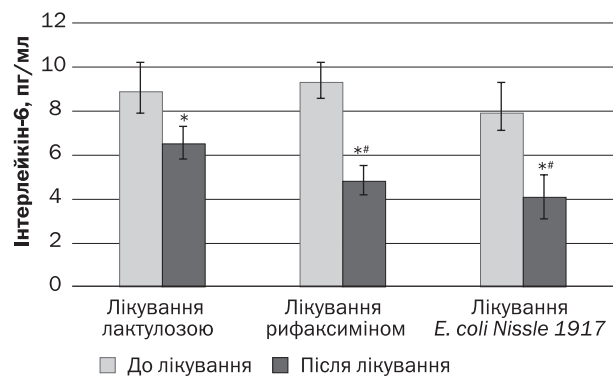


Рис. 3. Концентрація інтерлейкіну-6 у сироватці крові пацієнтів із печінковою енцефалопатією за умов лікування лактулозою, рифаксиміном і пробіотиком *E. coli Nissle 1917* (n = 14 у кожній групі)

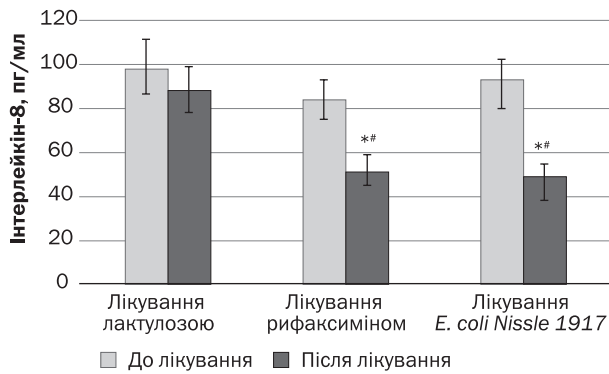


Рис. 4. Концентрація інтерлейкіну-8 у сироватці крові пацієнтів із печінковою енцефалопатією за умов лікування лактулозою, рифаксиміном і пробіотиком *E. coli Nissle 1917* (n = 14 у кожній групі)

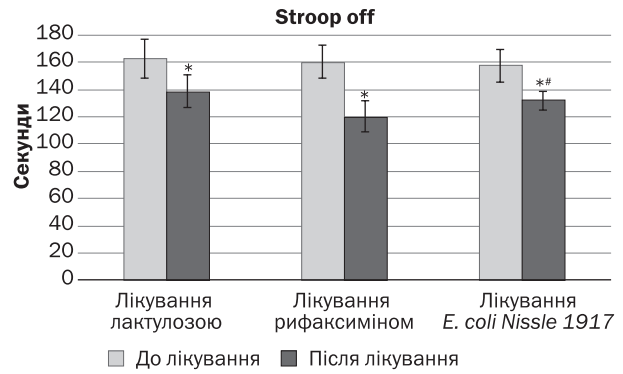


Рис. 5. Загальний час оцінки пред'явлених стимулів мобільним додатком на першому етапі (stroop off) у пацієнтів із печінковою енцефалопатією за умов лікування лактулозою, рифаксиміном і пробіотиком *E. coli Nissle 1917* (n = 14 у кожній групі)

(тобто загальна кількість відповідей складала 50). Показано, що у хворих із печінковою енцефалопатією час проходження тесту перевищував значення здорових людей майже у 2 рази, тобто якщо здорова людина правильно визначала колір 10 текстових символів у середньому менше ніж за 20 с, то більшість пацієнтів із ПЕ проходили цей тест більше ніж за 20–30 с (затрата часу на 5 вирішень тесту становила відповідно (160 ± 10) с).

Лікування ПЕ суттєво покращило когнітивні здібності пацієнтів. За умов введення лактулози час, необхідний для вирішення тесту stroop off, скорочувався на 16,7% ($p < 0,05$), після лікування рифаксиміном – на 25,2% ($p < 0,05$), після лікування пробіотиком – на 28,5% ($p < 0,05$). При цьому ефективність пробіотика щодо відновлення розумової працездатності була вищою, ніж у лактулози: хворі третьої групи вирішували

тест на 18,0% ($p < 0,05$) швидше порівняно із першою групою (рис. 5).

На другому етапі (stroop on, з ефектом Штрупа) програма пред'являла один із трьох можливих текстових стимулів «RED», «BLUE», «GREEN» у трьох можливих кольорах (червоному, синьому або зеленому), тобто загалом було 9 можливих комбінацій, а пацієнт мав безпомилково оцінити колір тексту безвідносно до його текстового позначення. Складність етапу полягала у необхідності правильно співставити колір, ігноруючи назву кольору, тому загальний час для проходження цього тесту був дещо більшим, ніж на етапі stroop off.

У хворих на ПЕ швидкість правильних відповідей була у 2 рази меншою, ніж у здорових. Лікування лактулозою збільшило швидкість проходження цього тесту на 18,1% ($p < 0,05$), рифаксиміном – на 23,2% ($p < 0,05$), а пробіо-

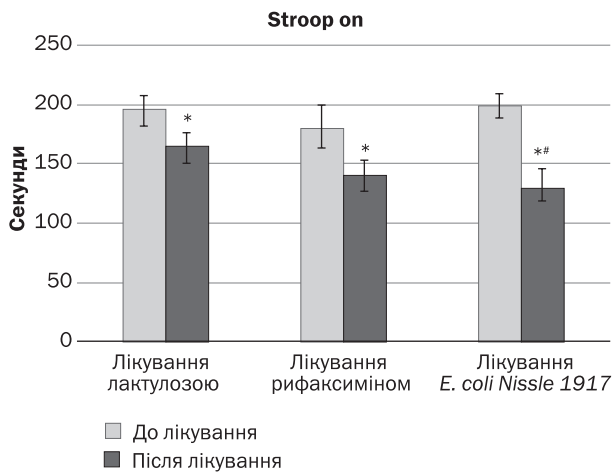


Рис. 6. Загальний час оцінки пред'явлених стимулів мобільним додатком на другому етапі (stroop on) у пацієнтів із печінковою енцефалопатією за умов лікування лактулозою, рифаксиміном і симбіотиком *E. coli Nissle 1917* (n = 14 у кожній групі)

Конфлікту інтересів немає.

Список літератури

- Bajaj J.S. The stroop smartphone application is a short and valid method to screen for minimal hepatic encephalopathy / J.S. Bajaj, L.R. Thacker, D.M. Heuman [et al.] // *Hepatology* (Baltimore, Md.).— 2013.— Vol. 58, N 3.— P. 1122–1132.
- Gómez-Hurtado I. Gut microbiota-related complications in cirrhosis / I. Gómez-Hurtado, J. Such, Y. Sanz, R. Francés // *World journal of gastroenterology*.— 2014.— Vol. 20, N 42.— P. 15624–15631.
- Shawcross D.L. Role of ammonia and inflammation in minimal hepatic encephalopathy / D.L. Shawcross, G. Wright, S.W.M. Olde Damink, R. Jalan // *Metabolic brain disease*.— 2007.— Vol. 22, N 1.— P. 125–138.
- Butterworth R.F. The liver-brain axis in liver failure: neuroinflammation and encephalopathy / R.F. Butterworth // *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*.— 2013.— Vol. 10, N 9.— P. 522–528.
- Wright G. Ammonia and inflammation in the pathogenesis of hepatic encephalopathy: pandora's box? / G. Wright, R. Jalan // *Hepatology* (Baltimore, Md.).— 2007.— Vol. 46, N 2.— P. 291–294.
- Bajaj J.S. Linkage of gut microbiome with cognition in hepatic encephalopathy / J.S. Bajaj, J.M. Ridlon, P.B. Hylemon [et al.] // *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology*.— 2012.— Vol. 302, N 1.— P. G168–175.
- Gluud L.L. Lactulose, rifaximin or branched chain amino acids for hepatic encephalopathy: what is the evidence? / L.L. Gluud, G. Dam, M. Borre [et al.] // *Metabolic Brain Disease*.— 2013.— Vol. 28, N 2.— P. 221–225.
- Riggio O. Effect of lactitol and lactulose administration on the fecal flora in cirrhotic patients / O. Riggio, M. Varriale, G.P. Testore [et al.] // *Journal of clinical gastroenterology*.— 1990.— Vol. 12, N 4.— P. 433–436.
- Als-Nielsen B. Non-absorbable disaccharides for hepatic encephalopathy: systematic review of randomised trials / B. Als-Nielsen, L.L. Gluud, C. Gluud // *BMJ* (Clinical research ed.).— 2004.— Vol. 328, N 7447.— P. 1046 p.
- Loguercio C. Long-term effects of enterococcus faecium sf68 versus lactulose in the treatment of patients with cirrhosis and grade 1–2 hepatic encephalopathy / C. Loguercio, R. Abbiati, M. Rinaldi [et al.] // *Journal of Hepatology*.— 1995.— Vol. 23, N 1.— P. 39–46.
- Bajaj J.S. Altered profile of human gut microbiome is associated with cirrhosis and its complications / J.S. Bajaj, D.M. Heuman, P.B. Hylemon [et al.] // *Journal of Hepatology*.— 2014.— Vol. 60, N 5.— P. 940–947.
- Bajaj J.S. Review article: potential mechanisms of action of rifaximin in the management of hepatic encephalopathy and other complications of cirrhosis / J.S. Bajaj // *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*.— 2016.— Vol. 43, suppl. 1.— P. 11–26.
- Rai R. Gut microbiota: its role in hepatic encephalopathy / R. Rai, V.A. Saraswat, R.K. Dhiman // *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*.— 2015.— Vol. 5, suppl. 1.— P. 29–36.
- Bémeur C. Liver-brain proinflammatory signalling in acute liver failure: role in the pathogenesis of hepatic encephalopathy and brain edema / C. Bémeur, R.F. Butterworth // *Metabolic Brain Disease*.— 2013.— Vol. 28, N 2.— P. 145–150.
- Jayakumar A.R. Neuroinflammation in hepatic encephalopathy: mechanistic aspects / A.R. Jayakumar, K.V. Rama Rao, M.D. Norenberg [et al.] // *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*.— 2015.— Vol. 5.— P. S21–S28.
- Valentini M. Immunomodulation by gut microbiota: role of toll-like receptor expressed by t cells / M. Valentini, A. Piermattei, G. Di Sante [et al.] // *Journal of Immunology Research*.— 2014.— Vol. 2014.— P. 586939.
- Rogers G.B. From gut dysbiosis to altered brain function and mental illness: mechanisms and pathways / G.B. Rogers, D.J. Keating, R.L. Young [et al.] // *Molecular Psychiatry*.— 2016.— Vol. 21, N 6.— P. 738–748.
- Nøhr M.K. Gpr41/ffar3 and gpr43/ffar2 as cosensors for short-chain fatty acids in enteroendocrine cells vs ffar3 in enteric neurons and ffar2 in enteric leukocytes / M.K. Nøhr, M.H. Pedersen, A. Gille [et al.] // *Endocrinology*.— 2013.— Vol. 154, N 10.— P. 3552–3564.
- Yano J.M. Indigenous bacteria from the gut microbiota regulate host serotonin biosynthesis / J.M. Yano, K. Yu, G.P. Donaldson [et al.] // *Cell*.— 2015.— Vol. 161, N 2.— P. 264–276.
- Dhanda S. Role of dopaminergic and serotonergic neurotransmitters in behavioral alterations observed in rodent model of hepatic encephalopathy / S. Dhanda, R. Sandhir // *Behavioural Brain Research*.— 2015.— Vol. 286.— P. 222–235.
- Wright G. Endotoxemia produces coma and brain swelling in bile duct ligated rats / G. Wright, N.A. Davies, D.L. Shawcross [et al.] // *Hepatology*.— 2007.— N 45.— P. 1517–1526. doi: 10.1002/hep.21599.
- Zyrek A.A. Molecular mechanisms underlying the probiotic effects of *Escherichia coli* Nissle 1917 involve ZO-2 and PKCzeta redistribution resulting in tight junction and epithelial barrier repair / A.A. Zyrek, Cichon C, S. Helms, C. Enders, U. Sonnenborn, M.A. Schmidt // *Cell Microbiol*.— 2006.— Nov. 3.
- Shukla S. Meta-analysis: the effect of gut flora modulation using prebiotics, probiotics and synbiotics on minimal hepatic encephalopathy / S. Shukla, A. Shukla, S. Mehboob, S. Guha // *Aliment. Pharmacol. Ther.*— 2011.— Vol. 33.— P. 662–671. doi: 10.1111/j.1365–2036.2010.04574.x.

Э.Г. Манжалий

Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца МЗ Украины, Киев, Украина

Влияние специфического штамма *E. coli Nissle 1917* на эффективность лечения печеночной энцефалопатии

Цель исследования: оценить влияние пробиотика на основе штамма *E. coli Nissle 1917* на эффективность лечения печеночной энцефалопатии (ПЭ).

Материалы и методы. Всего в обследование были включены 52 человека. Пациенты с ПЭ были разделены на 3 группы в соответствии со способом лечения: 1-я группа — 14 больных, которые получали лактулозу; 2-я группа — 14 больных, которым назначили рифаксимин; 3-я группа — 14 больных, получавших по схеме пробиотик на основе штамма *E. coli Nissle 1917*. В группу сравнения вошли 10 практически здоровых лиц.

В основную группу были включены взрослые пациенты с циррозом печени и гепатитом с переходом в цирроз печени с двумя и более документированными эпизодами ПЭ в течение последних 6 мес, не менее одного эпизода — в течение последних 3 мес. Из них 35% пациентов — с 1 степенью тяжести ПЭ, 25% — со 2 степенью тяжести по критериям West Haven и 40% пациентов — с латентной (минимальной) ПЭ. Эффективность лечения во всех группах сравнивали, оценивая концентрацию аммиака в крови, провоспалительных цитокинов, уровень дисбиотических нарушений и когнитивных функций. Когнитивные функции определяли по методике теста Штрупа по Вајај и соавт. (2013) с применением мобильного приложения EncephalApp_Stroop. Все показатели в каждой группе определяли до и после лечения. Использованы стандартные методы статистики.

Результаты. Показано, что после лечения с применением лактулозы концентрация аммиака уменьшилась на 11,8% ($p < 0,05$). У больных, которые принимали рифаксимин или пробиотик на основе *E. coli Nissle 1917*, снижение аммиака было более существенным, чем после применения лактулозы. Показатель уменьшения уровня аммиака в группе с пробиотиком составил 38,5% ($p < 0,05$). Полученные данные свидетельствуют о том, что терапевтическое применение *E. coli Nissle 1917* было почти на 30% эффективнее по сравнению с лактулозой. У пациентов, получавших пробиотик на основе штамма *E. coli Nissle 1917*, было обнаружено наиболее выраженное восстановление симбиотической микрофлоры. Нормализацию содержания бифидофлоры регистрировали в 57,1% ($p < 0,05$) больных, лактофлоры — в 35,7% ($p < 0,05$).

У больных, которые получили пробиотик, уменьшение воспалительных процессов значимо не отличалось от эффектов рифаксимиона. В условиях приема *E. coli Nissle 1917* уровень ИФН- γ снизился на 44,8% ($p < 0,05$), ИЛ-6 — на 47,0% ($p < 0,05$), а ИЛ-8 — на 51,9% ($p < 0,05$) по сравнению с соответствующим показателем до лечения. Лечение лактулозой увеличило скорость прохождения Stroop теста на 18,1% ($p < 0,05$), рифаксимином — на 23,2% ($p < 0,05$), а пробиотиком *E. coli Nissle 1917* — на 31,4% ($p < 0,05$).

Выводы. Пробиотик штамма *E. coli Nissle 1917* уменьшал содержание аммиака, уровень провоспалительных цитокинов в крови, восстанавливал нарушенную микрофлору кишечника и улучшал когнитивные функции пациентов с ПЭ. Применение штамма *E. coli Nissle 1917* в группе лечения ПЭ было более эффективным по сравнению с группой, принимавшей лактулозу.

Ключевые слова: печеночная энцефалопатия, хронические заболевания печени, цирроз, микробиота, штамм *E. coli Nissle 1917*, когнитивные функции, цитокины.

E.G. Manzhaliy

O.O. Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

Effect of a specific *E. coli Nissle 1917* strain on the effectiveness of treatment hepatic encephalopathy

Objective: to evaluate the effect of probiotics based on *E. coli Nissle 1917* strain on the effectiveness of hepatic encephalopathy (HE)

Materials and methods. In total, 52 subjects were included in the survey. Patients with HE were divided into 3 groups according to the treatment modality: group 1—14 patients were treated with lactulose, group 2—14 patients who were prescribed rifaximin, group 3—14 patients who received a probiotic based on *E. coli Nissle 1917* strain according to the scheme and formed the main group (MG). The group of comparison involved 10 practically healthy persons. MG included adult patients with cirrhosis and hepatitis with cirrhosis with two or more documented episodes of PE during the last 6 months, and at least one episode in the last 3 months. Of these, 35% of patients with grade 1 Liver Failure, 25% with grade 2 West Haven criteria, and 40% of patients with latent (minimum) HE. Treatment efficacy in all groups was compared by evaluating blood ammonia, pro-inflammatory cytokines, level of dysbiotic disorders and cognitive function. Cognitive functions were determined by the method of the Stroop test by Bajaj and other authors (2013), while using the EncephalApp_Stroop mobile application. All indicators in each group were measured before and after treatment.

Results. It was shown that after lactulose treatment, ammonia concentration decreased by 11.8% ($p < 0.05$). Patients who took rifaximin or a probiotic based on *E. coli Nissle 1917* had a lower ammonia reduction than after lactulose. The reduction in ammonia in the probiotic group was 38.5% ($p < 0.05$). The research data suggested that therapeutic use of *E. coli Nissle 1917* was nearly 30% more effective than lactulose. Patients treated with the *E. coli Nissle 1917* strain probiotic showed the most pronounced restoration of symbiotic microflora. Normalization of the content of bifidoflora was recorded in 57.1% ($p < 0.05$) of patients, lactoflora — in 35.7% ($p < 0.05$).

In patients treated with a probiotic, the reduction of inflammatory processes was not significantly different from the effects of rifaximin. Thus, when receiving *E. coli Nissle 1917*, the level of INF- γ decreased by 44.8% ($p < 0.05$), IL-6 – by 47.0% ($p < 0.05$), and IL-8 – by 51.9% ($p < 0.05$) compared to the corresponding indicator before treatment. Comparing the efficacy of *E. coli Nissle 1917* and lactulose in the treatment of HE, we can say that the stronger anti-inflammatory properties of the probiotic, which more effectively, by more than 20% compared to lactulose, reduced the level of proinflammatory cytokines studied.

Lactulose treatment increased the Stroop test rate by 18.1% ($p < 0.05$), rifaximin by 23.2% ($p < 0.05$), and the *E. coli Nissle 1917* probiotic by 31.4% ($p < 0.05$).

Conclusions. The probiotic strain of *E. coli Nissle 1917* reduced the content of ammonia, the level of proinflammatory cytokines in the blood, restored impaired intestinal microflora and improved the cognitive function of patients with HE. The use of *E. coli Nissle 1917* in the HE treatment group was more effective than the lactulose group.

Key words: hepatic encephalopathy, chronic liver diseases, cirrhosis, microbiota, *E. coli Nissle 1917* strain, cognitive function, cytokines.