

С.М. Ткач, А.Э. Дорофеев, Т.Л. Чеверда, Л.М. Купчик
Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, Киев

Патогенетическая роль кишечной микробиоты при заболеваниях печени

В обзоре описана взаимосвязь кишечной микробиоты с развитием неалкогольной жировой болезни печени, алкогольной жировой болезни печени, цирроза печени и их осложнений. Установлено, что кишечный дисбиоз может играть одну из ключевых патогенетических ролей в развитии и прогрессировании указанной патологии, повышая кишечную проницаемость, снижая защитные свойства слизистого барьера, усиливая транслокации микроорганизмов в системный кровоток и повышая риск возникновения инфекционных осложнений.

Ключевые слова: кишечная микробиота, избыточный бактериальный рост, неалкогольная жировая болезнь печени, алкогольный стеатогепатит.

Введение

Кишечник человека содержит чрезвычайно огромное и разнообразное сообщество микроорганизмов (МКО), которые находятся в симбиотическом взаимоотношении с организмом хозяина, способствуя нормальному обмену веществ и пищеварению. Нарушение количественного и качественного состава кишечной микробиоты (КМ) может приводить к возникновению и прогрессированию различных заболеваний, среди которых существенное место занимают болезни печени. Результаты исследований последних лет свидетельствуют о том, что дисбиотические изменения со стороны КМ способствуют возникновению неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП), неалкогольного стеатогепатита (НАСГ), алкогольной болезни печени (АБП) и цирроза печени (ЦП). Вклад КМ в болезни печени выходит за рамки простой транслокации бактериальных продуктов через нарушенный кишечный барьер (КБ). Одинаково важными в патогенезе заболеваний печени являются некоторые внешние и внутренние факторы, а также микробные метаболиты, продуцируемые дисбиотической кишечной средой.

Состав КМ и заболевания печени

НАЖБП и НАСГ. Как известно, НАЖБП тесно связана с ожирением и инсулинорезистентностью, являясь печеночным проявлением метаболического синдрома. Ее рассматривают как доброкачественное и чрезвычайно распространенное заболевание. У около трети населения развитых стран установлен простой стеатоз печени, а у 30% из них развивается НАСГ, характеризующийся развитием воспаления и фиброза печени разной степени выраженности. Примерно 1/3 всех случаев НАСГ в течение 5–10 лет прогрессирует до 3–4-й стадии фиброза (цирроза) (Browning J.D. et al., 2004; Caldwell S., Argo C., 2010; Williams C.D. et al., 2011).

Состав КМ у пациентов с НАЖБП и НАСГ в настоящее время оценивают с помощью некультуральных методов, таких как коли-

чественная полимеразная цепная реакция (ПЦР) и глубокое секвенирование области бактериальной 16S рибосомальной РНК (Mouzaki M. et al., 2013; Zhu L. et al., 2013). Установлено, что образцы КМ у пациентов с НАЖБП или НАСГ имеют меньшее количество бактерий семейства *Ruminococcaceae*, чем у здоровых лиц. Взрослые пациенты с НАСГ имеют более высокий уровень *Clostridium coccoides*, чем пациенты с гистологически подтвержденной НАЖБП. Но при сравнении бактериального таксономического состава у лиц с НАЖБП и НАСГ получены вариabельные и даже противоречивые результаты, что связано с небольшой выборкой пациентов, различием в исследуемых когортах, недостаточным документированием заболевания печени и отличиями в методологии (Zhu L. et al., 2013). Чтобы определить, действительно ли у пациентов с НАЖБП и НАСГ состав КМ существенно отличается, необходимы дальнейшие более масштабные исследования.

Синдром избыточного бактериального роста (ИБР) в тонком кишечнике (ТК) является расстройством, при котором в ТК содержится аномально большое количество бактерий ($\geq 10^5$ в 1 мл). ИБР в ТК более распространен среди пациентов с ожирением или НАЖБП (Sabaté J.M. et al., 2008; Miele L. et al., 2009). Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что кишечная проницаемость (КП) и ИБР коррелируют с тяжестью стеатоза, но не с фиброзом или воспалением печени (Miele L. et al., 2009). Синдром ИБР определяли у примерно 50% пациентов с НАСГ, что значительно больше, чем у здоровых людей, сопоставимых по полу и возрасту (Sabaté J.M. et al., 2008). В практической медицине синдром ИБР диагностируют с помощью водородных дыхательных тестов. Однако до настоящего времени продолжают дебаты относительно того, могут ли дыхательные тесты достаточно точно выявлять ИБР, поскольку общее количество бактерий в кале, определяемое с помощью этих методов, не отличается у здоровых людей и лиц с НАЖБП или НАСГ (Mouzaki M. et al., 2013). Для разъяснения этого спора необходимы дальнейшие ис-

следования. Для переоценки и уточнения распространенности ИБР у пациентов с НАЖБП или НАСГ необходимы исследования, основанные на методах диагностики, не связанных с культивированием или дыхательными тестами.

АБП. Злоупотребление алкоголем является одной из ведущих причин хронических заболеваний печени. Хроническая АБП может прогрессировать от простого стеатоза до стеатогепатита, фиброза печени и у 15–40% пациентов — до ЦП. Пациенты с АБП, как правило, не имеют каких-либо клинических симптомов и их печень продолжает нормально функционировать (Yap A.W., Schnabl B., 2012).

Исследований по изучению роли КМ при АБП не так много, как при ожирении или НАЖБП. Таксономию пристеночных бактерий у пациентов с алкогольным ЦП и алкоголиков без явного заболевания печени оценивали при секвенировании 16S рРНК. При этом удельный вес *Bacteroidaceae* в образцах последних был ниже, чем у лиц, не употребляющих алкоголь (Mutlu E.A. et al., 2012).

Несмотря на важность проведения исследований КМ у людей, испытания на животных моделях в тщательно контролируемых условиях обладают некоторыми преимуществами. Чаще всего доклинические исследования проводят на мышках одного помета, которые, как правило, впервые колонизируются бактериями от матери и обычно имеют один и тот же состав КМ (Schnabl B., Brenner D.A., 2014). Изменения микробиоты под воздействием различных факторов окружающей среды можно контролировать и сравнивать с мышами, которые имели такой же изначальный микробный состав.

Так, в одной из моделей АБП мышей помещали на определенные жидкие диеты и проводили им внутривенные инфузии этанола, тогда как контрольный помет находился на той же диете, но вместо этанола им вводили такое же по калорийности количество раствора декстрозы. При использовании этой модели исследователи смогли выявить количественные и качественные изменения в микробиоме, свя-

занные с потреблением этанола. ИБР наблюдался на протяжении почти всего желудочно-кишечного тракта, при этом дисбиоз характеризовался значительным сокращением пропорций пробиотических бактерий рода *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* и *Lactococcus* (Yan A.W., Schnabl B., 2012). Связанное с приемом этанола уменьшение количества кишечных *Lactobacillus* подтверждали результаты количественной ПЦР в реальном времени. А несколько исследований выявили, что введение пробиотиков, содержащих *Lactobacillus*, уменьшает проявления АБП на животных моделях (Kirpich I.A. et al., 2008; Wang Y. et al., 2011; 2012; Hartmann P. et al., 2013). Результаты небольшого клинического испытания также показали улучшение течения АБП у пациентов, применяющих пробиотики (Kirpich I.A. et al., 2008). Аналогичные наблюдения на животных моделях также установили ИБР аэробных и анаэробных бактерий в культурах тонкокишечных аспиратов пациентов, которые хронически злоупотребляли алкоголем (Schnabl B., Brenner D.A., 2014). На основании результатов клинических и доклинических исследований можно утверждать, что чрезмерное употребление алкоголя сопровождается дисбиозом и повышенной кишечной бактериальной нагрузкой.

При развитии АБП изменениям в КМ способствует множество факторов, включающих нарушение тонкокишечной моторики, изменение в секреции желудочной кислоты и нарушения врожденного интестинального иммунного ответа (Schnabl B., Brenner D.A., 2014). Антибактериальные молекулы, являющиеся частью врожденного иммунного ответа, секретируются энтероцитами или кишечными клетками Панета. В частности, после 3 нед внутрижелудочного введения лабораторным мышам этанола количество регенераторных островков, выделяющих антимикробные молекулы Reg3b и Reg3g в ТК, значительно уменьшилось (Yan A.W. et al., 2011). Необходимы дальнейшие исследования для определения способности врожденного иммунного ответа уменьшать прогресс заболевания и степень его уменьшения. Комменсальная микробиота не только продуцирует этанол, но и метаболизирует его (Schnabl B., Brenner D.A., 2014). До сих пор неясно, изменяет ли этанол непосредственно микробиоту как пищевой компонент или как источник энергии для некоторых бактериальных штаммов.

ЦП. Фиброз печени может привести к конечной стадии заболевания печени или ЦП, в результате которого нарушаются ее метаболические функции. Хотя у пациентов с фиброзом печени возможно бессимптомное течение, развитие ЦП у этих больных является основным фактором, определяющим заболеваемость и смертность. Основными клиническими осложнениями ЦП являются инфекции, асцит, почечная недостаточность, кровотечение из варикозно расширенных вен и печеночная энцефалопатия. Пациенты с этими осложнениями имеют плохой прогноз, им часто показана трансплантация печени.

В нескольких исследованиях оценивали таксономический состав КМ у пациентов с ЦП (Chen Y. et al., 2011; Wu Z.W. et al., 2012; Xu M. et al., 2012). Общей чертой ЦП явилось увеличение числа потенциально патогенных бактерий в сочетании с уменьшением числа полезных бактерий. Фекальные микробные культуры среди пациентов с ЦП различной этиологии очень похожи. Тем не менее, секвенирование общего 16S рПНК участка гена бактерий показало, что фекальные микробные культуры, выделенные у пациентов с алкогольным ЦП, имеют значительное увеличение семейства *Prevotellaceae* по сравнению с пациентами, имеющими ЦП вследствие вирусного гепатита В, или здоровыми людьми (Chen Y. et al., 2011). Следовательно, этиология в определенной степени может определять состав КМ у пациентов с конечными стадиями заболеваний печени.

Количественный анализ бактериальных культур аспиратов тощей кишки показал, что большинство пациентов с ЦП имеют ИБР в ТК (Chen Y. et al., 2011; Schnabl B., Brenner D.A., 2014). Они не только имеют таксономические различия микробных культур по сравнению с людьми без ЦП, но и повышенную бактериальную нагрузку на кишечник. Факторы, способствующие усилению ИБР у пациентов с ЦП, включают ослабление перистальтики ТК, уменьшение выделения желчи, измененную секрецию иммуноглобулина А и противомикробных молекул (Schnabl B., Brenner D.A., 2014). У крыс с ЦП, асцитом и транслокацией жизнеспособных бактерий в брыжеечные лимфатические узлы клетки Панета продуцируют более низкие уровни дефензинов и молекул Reg3 по сравнению с крысами без бактериальной транслокации, особенно в отношении бактерий семейства *Enterobacteriaceae* (Teltschik Z. et al., 2012). Таким образом, ослабление кишечной иммунной защиты, связанное с терминальной стадией заболевания печени, может способствовать качественным и количественным изменениям КМ. Новые методы секвенирования для анализа микробиоты должны помочь определить вклад этих факторов в изменение состава КМ.

Функциональные последствия изменений КМ

НАЖБП и НАСГ. У большинства пациентов с НАЖБП диагностируют ожирение и диабет. Ожирение и резистентность к инсулину являются факторами риска возникновения НАЖБП и связаны с изменениями КМ (Schnabl B., Brenner D.A., 2014). КМ играет очень важную роль в развитии ожирения: мыши без микрофлоры защищены от увеличения массы тела и ожирения, вызванного питанием с высоким содержанием жиров (Ding S. et al., 2010).

Роль изменений систематики бактерий в развитии НАЖБП и НАСГ не настолько велика, как роль изменений бактериальных генов (метагеномика и метатранскриптомика) (Yan A.W. et al., 2011). Так, при ожирении кишечный метаболит обладает повышенной способностью накапливать калории из рациона «хозяина». Бактериальные ферменты

помогают усваивать из рациона непереваживаемые другим способом полисахариды и извлекать из них калории (Turnbaugh P.J. et al., 2006; Xu M. et al., 2012). Также кишечные бактерии подавляют синтез индуцируемого голоданием адипозного фактора, известного как ангиопоэтин-подобный белок-4, и секрецию ТК, что приводит к повышенному накоплению триглицеридов (ТГ) в печени (Schnabl B., Brenner D.A., 2014). Этот процесс обеспечивает прямую связь между КМ и накоплением жира в печени.

Комплексное взаимодействие между КМ и организмом «хозяина» обуславливается различными метаболитами. Некоторые изменения бактериальных метаболитов связаны с ожирением, с НАЖБП. Один из таких метаболитов — этанол, являющийся продуктом КМ. При определении уровня этанола в выдыхаемом воздухе и крови животных с ожирением он оказался выше, чем у животных с недостаточной массой тела (Turnbaugh P.J. et al., 2009). Алкоголь поглощается и поступает в печень через портальный кровоток, приводит к накоплению ТГ в клетках печени, а также посредством выработки активных форм кислорода может обуславливать вторичное повреждение печени, которая уже накопила жиры, способствуя развитию стеатогепатита (Hartmann P. et al., 2013). Уровень этанола в крови у детей с ожирением при НАЖБП не повышен, в отличие от детей с НАСГ (Zhu L. et al., 2013). Для дальнейшего анализа и подтверждения этих данных необходимо проведение специальных метатранскриптомических и метаболомических исследований.

Еще одним важным метаболитом, участвующим в патогенезе НАЖБП и НАСГ, является холин. Долгое время считали, что именно его недостаток в рационе приводит к заболеванию печени. Такая диета уже давно используется при моделировании НАСГ на грызунах. Однако до недавнего времени не было известно, что недостаток холина может возникнуть и в патофизиологических условиях. Диета с высоким содержанием жиров приводит к формированию КМ, которая превращает пищевой холин в метиламин, снижая содержание фосфатидилхолина, циркулирующего в плазме крови, что аналогично эффекту диеты с низким содержанием холина, вызывающей НАСГ (Schnabl B., Brenner D.A., 2014). Фосфатидилхолин необходим для накопления и секреции липопротеинов очень низкой плотности. Недостаток холина вследствие нарушений МК на фоне низкой печеночной секреции липопротеина очень низкой плотности приводит к накоплению ТГ в клетках печени, в то время как повышение содержания триметиламина в плазме крови и печеночный метаболизм триметиламина-N-оксида связаны с атеросклерозом и заболеваниями сердечно-сосудистой системы (Wang Z. et al., 2011; Tang W.H. et al., 2013). Хотя у людей, находящихся на питании с низким содержанием холина, часто возникает НАЖБП, для ее развития также необходим единственный нуклеотидный полиморфизм в промоторной области гена фосфатидилэтанол-амин-N-метилтрансферазы (PEMT), который влияет на повторное образование фосфатидилхо-

лина (Spencer M.D. et al., 2011). Таким образом, связанные с особенностями диеты изменения КМ могут привести к резким изменениям метаболитов в организме хозяина.

Продукты жизнедеятельности МКО также участвуют в патогенезе НАЖБП и НАСГ. У детей с НАЖБП отмечено значительно более высокую концентрацию эндотоксина в плазме крови, чем у пациентов контрольной группы (Alisi A. et al., 2010). У пациентов взрослого возраста с НАСГ также наблюдали наличие эндотоксинов в крови (Schnabl B., Brenner D.A., 2014). Наиболее убедительные доказательства важности транслоцируемых продуктов жизнедеятельности МКО получены в результате проведения доклинических исследований при НАЖБП. Рецептор липополисахаридов (ЛПС), передающий сигналы через толл-подобный рецептор-4 в гемопоэтических клетках, необходим для развития стеатоза печени, а не ожирения у мышей (Saber M. et al., 2009). Мыши, невосприимчивые к патогенассоциированным молекулярным паттернам (ПАМП) или нисходящим сигналам (от рецептора), устойчивы к НАСГ (Miura K. et al., 2010). Продукты жизнедеятельности МКО поступают в печень через порталный кровоток и среди прочих эффектов вызывают воспаление. Мыши, генетически склонные к ожирению, более восприимчивы к воздействию эндотоксинов на печень, и у них развивается стеатогепатит после воздействия даже ЛПС в низких дозах (Farhadi A. et al., 2008; Schnabl B., Brenner D.A., 2014). Для транслокации продуктов жизнедеятельности МКО из просвета кишечника во внекишечное пространство необходима повышенная КП и разрушение мукозного барьера. По сравнению со здоровыми людьми, у пациентов с НАЖБП значительно повышена КП вследствие нарушения целостности плотных клеточных контактов между эпителиоцитами (Miele L. et al., 2009). Чрезмерное развитие микрофлоры очень важно для пациентов с повышенной КП, поскольку приводит к увеличению ПАМП в просвете кишечника.

Интестинальное воспаление является началом дисфункции КБ, поскольку может повышать КП и приводить к транслокации продуктов жизнедеятельности МКО. Ожирение сопровождается воспалением слизистой оболочки (СО) кишечника; у лиц с ожирением потеря массы тела в результате соблюдения диеты уменьшает интестинальное воспаление и изменяет экспрессию воспалительных и опухолевых генов (Rendy S. et al., 2011). У мышей диета с высоким содержанием жиров повышает активность фактора транскрипции ядерного фактора κB и экспрессию фактора некроза опухоли (ФНО)- α в ТК (Ding S. et al., 2010). Само интестинальное воспаление зависит от КМ: животные с отсутствием микрофлоры от него надежно защищены. Исследования мышей с недостатком Nlrp3 и Nlrp6 предоставили более явные свидетельства в пользу интестинального воспаления и транслокации бактерий. У таких мышей не могут образовываться цитоплазматические мультисубъединичные комплексы, состоящие из семейства белков, содержащих нуклео-

тидсвязывающие домены и богатые лейцином повторы, а также пирин, содержащего домены, называемые инфламмасомами (Farhadi A. et al., 2008). Инфламмасы являются индикаторами экзогенных ПАМП или эндогенных молекулярных паттернов, ассоциированных с повреждениями, регулирующих расщепление предшественников воспалительных цитокинов, таких как проинтерлейкин (ИЛ-1 β и про-ИЛ-18. У мышей потеря инфламмаса Nlrp3 и Nlrp6 через хемокин (С-С) лиганд 5 (CCL5) связана с дисбиозом кишечника и последующим воспалением толстого кишечника. Дисбиоз, как правило, характеризуется увеличением количества *Prevotella* (Hepao-Mejia J. et al., 2012). Последующее перемещение МКО ведет к увеличению накопления продуктов их жизнедеятельности, таких как ЛПС и ДНК бактерий, в воротной вене. Они вызывают воспалительную реакцию в печени, что способствует прогрессии НАЖБП в НАСГ. Этот фенотип может передаваться при совместном проживании диких мышей и мышей, склонных к НАСГ (Hepao-Mejia J. et al., 2012). Следовательно, дисбиоз вызывает воспаление толстого кишечника и транслокацию МКО, что приводит к переходу стеатоза печени в НАСГ. Таким образом, дисбиоз играет важную роль в развитии болезней печени.

Изменения КМ, связанные с питанием и особенностями организма «хозяина», запускают развитие НАЖБП и НАСГ. Изменения КМ могут оказывать воздействие на печень при помощи транслоцируемых продуктов жизнедеятельности МКО или абсорбированных бактериальных метаболитов. А прямое взаимодействие между КМ и организмом «хозяина» в кишечнике изменяет кишечный гомеостаз в целом, что влияет на печень как на орган, находящийся вне кишечного тракта.

АБП

Отличительным признаком алкоголизма является разрушение КБ (Elamin E.E. et al., 2013). Экспериментальные животные с АБП имеют повышенную КП, а у пациентов отмечается нарушение КБ (Hartmann P. et al., 2013). Лучшим способом выявления повышенной КП, вероятно, является непосредственное измерение продуктов жизнедеятельности МКО, которые образуются только в просвете кишечника, но могут быть транслоцированы во внекишечное пространство, кровь и органы. Уровень эндотоксинов в плазме крови у пациентов с алкогольной зависимостью без признаков болезни печени и у пациентов с алкогольным гепатитом или алкогольным ЦП выше, чем у здоровых лиц (Schnabl B., Brenner D.A., 2014).

Стерилизация кишечника защищает от повышенной КП и предотвращает транслокацию МКО (Teltschik Z. et al., 2012). Несмотря на то что мыши с нефункциональным Tlr4 защищены от экспериментальной АБП, уровень содержания эндотоксинов в воротной вене у них повышается до уровня, аналогичного содержанию эндотоксинов у мышей со свободным Tlr4 , что свидетельствует о том, что Tlr4 не контролирует КП (Turner J.R., 2009).

Каким же образом КМ может повысить КП при АБП? Кишечные бактерии метаболизируют этанол и вырабатывают ацетальдегид (Turner J.R., 2009). Этанол и ацетальдегид разрушают целостность плотных межклеточных контактов между эпителиоцитами СО (Miura K. et al., 2010; Schnabl B., Brenner D.A., 2014). КМ также синтезирует этанол, который может оказывать разрушительное воздействие на КБ. А уменьшение количества комменсальных пробиотических штаммов бактерий может негативно повлиять на защитные плотные контакты (Wang Y. et al., 2012). В естественных условиях стабилизатор мембран тучных клеток предотвращает изменение эпителиального барьера. Следовательно, воспалительные клетки кишечника, такие как тучные клетки, могут влиять на возникновение повышенной КП и активироваться при качественных и/или количественных изменениях КМ. Для определения функционального воздействия КМ на дисфункцию слизистого КБ и АБП необходимо проведение дальнейших метагеномных и метаболомических исследований. Сама АБП может ухудшить КБ при повышении системного уровня ИЛ-1 β или ФНО- α , разрушающего плотные межклеточные контакты (Turner J.R., 2009). Пока неясно, в какой степени изменения функции печени влияют на повреждение барьера СО.

Кишечный дисбиоз и ИБР играют важную роль в патогенезе АБП у лиц с повышенной КП. Последняя способствует перемещению продуктов жизнедеятельности МКО из просвета кишечника во внекишечные органы. Уровень заболеваемости АБП у мышей, защищенных от ИБР в кишечнике, понижен, несмотря на повышенную КП (Hartmann P. et al., 2013). У крыс, которых кормили невсасывающимися антибиотиками, снижающими нагрузку грамотрицательных бактерий в кишечнике, также отмечен более низкий системный уровень эндотоксинов и развивалось менее тяжелое повреждение печени после введения этанола. Вызванное у них воспаление и повреждение печени также значительно ниже у мышей с экспрессией нефункционального Tlr4 , чем у мышей с экспрессией свободного белка (Turner J.R., 2009; Schnabl B., Brenner D.A., 2014).

После употребления этанола продукты жизнедеятельности МКО из кишечника транслоцируются в печень и у людей, и у животных. У пациентов или животных с повышенной КП их количество определяется общим количеством кишечных бактерий, находящихся в просвете. ПАМП поступают в печень через систему воротной вены. Таким образом, алкоголь в качестве повреждающего вещества и продукты жизнедеятельности МКО могут совместно способствовать развитию болезни печени. То есть, изменения КМ (в частности ИБР) и повышенная транслокация МКО участвуют в развитии АБП.

Терминальные стадии болезней печени

КМ задействован в развитии осложненной ЦП, таких как печеночная энцефалопатия и инфекции. Такие факторы, как повы-

шенное содержание эндотоксина, системное воспаление и избыточная продукция аммиака, участвуют в патогенезе печеночной энцефалопатии (Talan T.H. et al., 2013). Санация кишечника невоспалительными селективными антибиотиками (рифаксимин) является эффективным способом лечения субклинической и выраженной энцефалопатии (Bass N.M. et al., 2010; Sidhu S.S. et al., 2011).

Бактериальная транслокация у здоровых лиц не только важна для развития иммунной системы: она может иметь и негативные последствия, способствуя развитию НАЖБП, НАСГ и АБП. У пациентов с ЦП она вызывает воспаление и гемодинамические нарушения, способствуя инфекционным осложнениям — спонтанному бактериальному перитониту и бактериемии со смертностью 38–40% (Arvaniti V. et al., 2010; Bellot P. et al., 2013).

У пациентов с ЦП в транслокации кишечных бактерий и продуктов их жизнедеятельности участвуют несколько механизмов, в частности проницаемый КБ и иммунодефицит, также тесно связанные с состоянием КМ (Wiest R. et al., 2014). Большинство инфекционных осложнений вызывают грамотрицательные бациллы, особенно кишечная палочка. Установлено, что содержание бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, включая роды *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus* и *Enterobacter*, в микробиоте пациентов с ЦП повышается (Chen Y. et al., 2011; Wu Z.W. et al., 2012; Xu M. et al., 2012). ИБР в ТК у пациентов с ЦП ассоциируется с наличием эндотоксинов в кровеносной системе и способствует транслокации бактерий в системный кровоток, возможно, играя решающую роль в возникновении инфекционных осложнений (Bajaj J.S. et al., 2012; Kalambokis G.N., Tsianos E.V., 2012; Bellot P. et al., 2013; Xie G. et al., 2013). Санация кишечника рифаксимином снижает содержание эндотоксинов в крови и тяжесть заболевания печени (Kalambokis G.N., Tsianos E.V., 2012). Хотя для подтверждения данных предварительных результатов требуется проведение рандомизированных плацебо-контролируемых исследований.

К дополнительным факторам, влияющим на транслокацию бактерий, относится кишечное воспаление и изменения системы иммунного надзора кишечника. Так, у пациентов с ЦП имеется воспаление двенадцатиперстной кишки, что может способствовать повышенной КП (Bajaj J.S. et al., 2012; Bellot P. et al., 2013). У крыс с ЦП в собственной пластинке СО кишечника и брыжеечных лимфатических узлах увеличено количество активированных дендритных клеток CD103⁺, сочетающееся с определяемой бактериальной ДНК, но при отсутствии жизнеспособных бактерий в брыжеечных лимфатических узлах. В то же время у крыс с жизнеспособными бактериями в брыжеечных лимфатических узлах дендритные клетки CD103⁺ не активированы, что свидетельствует о толерантности и истощении. Стерилизация кишечника рифаксимином предотвращает транслокацию бактерий и снижает активацию и функционирование дендритных клеток

CD103⁺, что свидетельствует о том, что бактериальная транслокация связана скорее с КМ, чем с организмом «хозяина» (Miele L. et al., 2009).

Хотя КМ участвует в развитии заболевания печени еще на этапе, предшествующем ЦП, патологические функции КМ изменяются и на последующих этапах его развития. Транслоцируемые жизнеспособные бактерии и продукты жизнедеятельности МКО играют важную роль в развитии клинических осложнений, ассоциированных с терминальной стадией болезни печени. Решающим фактором смертности данной группы пациентов может оказаться транслокация бактерий, а не дисфункция печени.

Взаимодействие печени и кишечника через желчные кислоты

Желчные кислоты (ЖК) выступают в роли посредника между печенью и кишечником. Они вырабатываются в виде соединений глицина или таурина в печени из холестерина для последующей секреции в ТК. Конъюгированные ЖК попадают в терминальный отдел подвздошной кишки и возвращаются в печень (энтерогепатическая циркуляция). Кишечные бактерии толстого кишечника через деконъюгацию и дегидроксилирование синтезируют вторичные ЖК. ЖК играют важную роль в поглощении входящих в рацион жиров и витаминов, выступают в роли лигандов для ядерного фарнезоидного X-рецептора (FXR) и конъюгированного с G-белком рецептора TGR5: кишечник сообщает с печенью при помощи энтерогепатической циркуляции.

Не удивительно, что у крыс без микробиоты профиль ЖК изменен и характеризуется высоким содержанием ЖК, конъюгированных с таурином при относительно низком содержании неконоъюгированных ЖК, и ЖК, конъюгированных с глицином (Swann J.R. et al., 2011). В образцах кала пациентов с ЦП отмечают пониженное общее содержание ЖК, в результате уменьшения выделения желчи. Соотношение содержания вторичных и первичных ЖК в кале также снижено, что может быть обусловлено снижением микробной деконъюгации, однако для подтверждения этого необходимы исследования экспрессии бактериальных генов. Уровни содержания конъюгированных и неконоъюгированных ЖК в образцах плазмы крови пациентов с ЦП выше, особенно на более поздних стадиях заболевания (Swann J.R. et al., 2011). Об изменении содержания ЖК в плазме крови также свидетельствовали данные исследования на экспериментальных моделях НАСГ и АБП, хотя пока непонятно, влияет ли микробиота на эти изменения (Tanaka N. et al., 2012; Xie G. et al., 2013).

ЖК оказывают прямое бактериостатическое воздействие. Поэтому у пациентов с ЦП ИБР в кишечнике может быть обусловлен снижением общего содержания секретируемых в кишечник ЖК (Kakiyama G. et al., 2013). Введение конъюгированных ЖК крысам с ЦП приводило к нормализации секреции желчи, снижению ИБР в кишечнике и уменьшению бактериальной транслокации

(Schnabl B., Brenner D.A., 2014). Конъюгированные ЖК связываются с FXR клеток кишечного эпителия, что увеличивает выработку противомикробных белков ангиогенина-1 и рибонуклеазы-4. Это предотвращает чрезмерный рост бактерий и способствует целостности клеток эпителия (Mudaliar S. et al., 2013); ЖК прямо и опосредованно подавляют рост бактерий посредством регулирования экспрессии противомикробных генов клетками организма «хозяина».

Микробная модификация ЖК является важным механизмом, посредством которого микробиота может взаимодействовать с организмом «хозяина» и воздействовать не только на заболевание печени, но и на другие органы и метаболические пути. FXR и TGR5 участвуют в развитии метаболического синдрома. Так, мыши, не имеющие FXR, защищены от генетического и алиментарного ожирения, но не от стеатоза печени (Schnabl B., Brenner D.A., 2014). Обетихоловая кислота, являющаяся агонистом FXR, на втором этапе проведения клинических исследований снижала уровень маркеров воспаления и фиброза печени у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа и НАЖБП (Prawitt J. et al., 2011). У мышей активация TGR5 в бурой жировой ткани и мышцах посредством ЖК увеличивала потребление энергии и снижала алиментарное ожирение. Агонист TGR5 (новый изучающийся препарат INT-777) вызывает высвобождение кишечного глюканоподобного пептида-1 и снижает ожирение и стеатоз печени у мышей, находящихся на диете с высоким содержанием жиров (Schnabl B., Brenner D.A., 2014).

КМ может участвовать в развитии болезни печени посредством модификации ЖК в кишечнике и регуляции передачи сигналов FXR и TGR5. При проведении дальнейших исследований необходимо обратить внимание на то, каким образом изменение экспрессии бактериальных генов и профиля ЖК влияет на организм хозяина и участвует в развитии болезни печени путем модуляции FXR и TGR5.

Будущие направления

Дальнейшие исследования должны еще более детально оценить микробную экспрессию генов, белков и метаболитов, фокусируясь, в первую очередь, на людях. Улучшение понимания тонких механизмов гомеостаза между кишечником и КМ должно привести к новому взгляду на патогенез заболеваний печени и к разработке принципиально новых терапевтических стратегий. Уже сейчас существует достаточно доказательств для обоснования применения модуляции КМ с целью лечения пациентов с заболеваниями печени. Конечная цель — восстановление эубиоза, что может восстановить и сам кишечный гомеостаз.

Список использованной литературы

Alisi A., Manco M., Devito R. et al. (2010) Endotoxin and plasminogen activator inhibitor-1 serum levels associated with nonalcoholic steatohepatitis in children. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 50(6): 645–649.

- Arvaniti V., D'Amico G., Fede G. et al.** (2010) Infections in patients with cirrhosis increase mortality four-fold and should be used in determining prognosis. *Gastroenterology*, 139(4): 1246–1256.
- Bajaj J.S., Hylemon P.B., Ridlon J.M. et al.** (2012) Colonic mucosal microbiome differs from stool microbiome in cirrhosis and hepatic encephalopathy and is linked to cognition and inflammation. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 303(6): 675–685.
- Bajaj J.S., Ridlon J.M., Hylemon P.B. et al.** (2012) Linkage of gut microbiome with cognition in hepatic encephalopathy. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 302(1): 168–175.
- Bass N.M., Mullen K.D., Sanyal A. et al.** (2010) Rifaximin treatment in hepatic encephalopathy. *N. Engl. J. Med.*, 362(12): 1071–1081.
- Bellot P., Francés R., Such J.** (2013) Pathological bacterial translocation in cirrhosis: pathophysiology, diagnosis and clinical implications. *Liver Int.*, 33(1): 31–39.
- Browning J.D., Szczepaniak L.S., Dobbins R. et al.** (2004) Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology*, 40(6): 1387–1395.
- Caldwell S., Argo C.** (2010) The natural history of non-alcoholic fatty liver disease. *Dig. Dis.*, 28(1): 162–168.
- Chen Y., Yang F., Lu H. et al.** (2011) Characterization of fecal microbial communities in patients with liver cirrhosis. *Hepatology*, 54(2): 562–572.
- Ding S., Chi M.M., Scull B.P. et al.** (2010) High-fat diet: bacteria interactions promote intestinal inflammation which precedes and correlates with obesity and insulin resistance in mouse. *PLoS One*, 5(8): e12191.
- Elamin E.E., Masclee A.A., Dekker J., Jonkers D.M.** (2013) Ethanol metabolism and its effects on the intestinal epithelial barrier. *Nutr. Rev.*, 71(7): 483–499.
- Farhadi A., Gundlapalli S., Shaikh M. et al.** (2008) Susceptibility to gut leakiness: a possible mechanism for endotoxaemia in non-alcoholic steatohepatitis. *Liver Int.*, 28(7): 1026–1033.
- Hartmann P., Chen P., Wang H.J. et al.** (2013) Deficiency of intestinal mucin-2 ameliorates experimental alcoholic liver disease in mice. *Hepatology*, 58(1): 108–119.
- Henao-Mejia J., Elinav E., Jin C. et al.** (2012) Inflammation-mediated dysbiosis regulates progression of NAFLD and obesity. *Nature*, 482(7384): 179–185.
- Kirpich I.A., Solovieva N.V., Leikhter S.N. et al.** (2008) Probiotics restore bowel flora and improve liver enzymes in human alcohol-induced liver injury: a pilot study. *Alcohol*, 42(8): 675–682.
- Kakiyama G., Pandak W.M., Gillevet P.M. et al.** (2013) Modulation of the fecal bile acid profile by gut microbiota in cirrhosis. *J. Hepatol.*, 58(5): 949–955.
- Kalambokis G.N., Tsianos E.V.** (2012) Rifaximin reduces endotoxaemia and improves liver function and disease severity in patients with decompensated cirrhosis. *Hepatology*, 55(2): 655–656.
- Miele L., Valenza V., La Torre G. et al.** (2009) Increased intestinal permeability and tight junction alterations in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 49(6): 1877–1887.
- Miura K., Kodama Y., Inokuchi S. et al.** (2010) Toll-like receptor 9 promotes steatohepatitis by induction of interleukin-1 β in mice. *Gastroenterology*, 139(1): 323–334.
- Mouzaki M., Comelli E.M., Arendt B.M. et al.** (2013) Intestinal microbiota in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 58(1): 120–127.
- Mudaliar S., Henry R.R., Sanyal A.J. et al.** (2013) Efficacy and safety of the farnesoid X receptor agonist obeticholic acid in patients with type 2 diabetes and nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*, 145(3): 574–582.
- Mutlu E.A., Gillevet P.M., Rangwala H. et al.** (2012) Colonic microbiome is altered in alcoholism. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 302(9): 966–978.
- Pendyala S., Neff L.M., Suárez-Fariñas M., Holt P.R.** (2011) Diet-induced weight loss reduces colorectal inflammation: implications for colorectal carcinogenesis. *Am. J. Clin. Nutr.*, 93(2): 234–242.
- Prawitt J., Abdelkarim M., Stroeve J.H. et al.** (2011) Farnesoid X receptor deficiency improves glucose homeostasis in mouse models of obesity. *Diabetes*, 60(7): 1861–1871.
- Sabaté J.M., Jouët P., Harnois F. et al.** (2008) High prevalence of small intestinal bacterial overgrowth in patients with morbid obesity: a contributor to severe hepatic steatosis. *Obes. Surg.*, 18(4): 371–377.
- Saber M., Woods N.B., de Luca C. et al.** (2009) Hematopoietic cell-specific deletion of toll-like receptor 4 ameliorates hepatic and adipose tissue insulin resistance in high-fat-fed mice. *Cell. Metab.*, 10(5): 419–429.
- Schnabl B., Brenner D.A.** (2014) Interactions between the intestinal microbiome and liver diseases. *Gastroenterology*, 146(6): 1513–1524.
- Sidhu S.S., Goyal O., Mishra B.P. et al.** (2011) Rifaximin improves psychometric performance and health-related quality of life in patients with minimal hepatic encephalopathy (the RIME Trial). *Am. J. Gastroenterol.*, 106(2): 307–316.
- Spencer M.D., Hamp T.J., Reid R.W. et al.** (2011) Association between composition of the human gastrointestinal microbiome and development of fatty liver with choline deficiency. *Gastroenterology*, 140(3): 976–986.
- Swann J.R., Want E.J., Geier F.M. et al.** (2011) Systemic gut microbial modulation of bile acid metabolism in host tissue compartments. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108 Suppl. 1: 4523–4530.
- Tanaka N., Matsubara T., Krausz K.W. et al.** (2012) Disruption of phospholipid and bile acid homeostasis in mice with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*, 56(1): 118–129.
- Tang W.H., Wang Z., Levison B.S. et al.** (2013) Intestinal microbial metabolism of phosphatidylcholine and cardiovascular risk. *N. Engl. J. Med.*, 368(17): 1575–1584.
- Teltschik Z., Wiest R., Beisner J. et al.** (2012) Intestinal bacterial translocation in rats with cirrhosis is related to compromised Paneth cell antimicrobial host defense. *Hepatology*, 55(4): 1154–1163.
- Tranah T.H., Vijay G.K., Ryan J.M., Shawcross D.L.** (2013) Systemic inflammation and ammonia in hepatic encephalopathy. *Metab. Brain Dis.*, 28(1): 1–5.
- Turnbaugh P.J., Ley R.E., Mahowald M.A. et al.** (2006) An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*, 444(7122): 1027–1031.
- Turnbaugh P.J., Hamady M., Yatsunenko T. et al.** (2009) A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature*, 457(7228): 480–484.
- Turner J.R.** (2009) Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nat. Rev. Immunol.*, 9(11): 799–809.
- Wang Z., Kilpfall E., Bennett B.J. et al.** (2011) Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature*, 472(7341): 57–63.
- Wang Y., Kirpich I., Liu Y. et al.** (2011) Lactobacillus rhamnosus GG treatment potentiates intestinal hypoxia-inducible factor, promotes intestinal integrity and ameliorates alcohol-induced liver injury. *Am. J. Pathol.*, 179(6): 2866–2875.
- Wang Y., Liu Y., Sidhu A. et al.** (2012) Lactobacillus rhamnosus GG culture supernatant ameliorates acute alcohol-induced intestinal permeability and liver injury. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 303(1): 32–41.
- Wiest R., Lawson M., Geuking M.** (2014) Pathological bacterial translocation in liver cirrhosis. *J. Hepatol.*, 60(1): 197–209.
- Williams C.D., Stengel J., Asike M.I. et al.** (2011) Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among a largely middle-aged population utilizing ultrasound and liver biopsy: a prospective study. *Gastroenterology*, 140(1): 124–131.
- Wu Z.W., Lu H.F., Wu J. et al.** (2012) Assessment of the fecal lactobacilli population in patients with hepatitis B virus-related decompensated cirrhosis and hepatitis B cirrhosis treated with liver transplant. *Microb. Ecol.*, 63(4): 929–937.
- Xie G., Zhong W., Li H. et al.** (2013) Alteration of bile acid metabolism in the rat induced by chronic ethanol consumption. *FASEB J.*, 27(9): 3583–3593.
- Xu M., Wang B., Fu Y. et al.** (2012) Changes of fecal Bifidobacterium species in adult patients with hepatitis B virus-induced chronic liver disease. *Microb. Ecol.*, 63(2): 304–313.
- Yan A.W., Fouts D.E., Brandl J. et al.** (2011) Enteric dysbiosis associated with a mouse model of alcoholic liver disease. *Hepatology*, 53(1): 96–105.
- Yan A.W., Schnabl B.** (2012) Bacterial translocation and changes in the intestinal microbiome associated with alcoholic liver disease. *World J. Hepatol.*, 4(4): 110–118.
- Zhu L., Baker S.S., Gill C. et al.** (2013) Characterization of gut microbiomes in nonalcoholic steatohepatitis (NASH) patients: a connection between endogenous alcohol and NASH. *Hepatology*, 57(2): 601–609.

Патогенетична роль кишечної мікробіоти при захворюваннях печінки

С.М. Ткач, А.Е. Дорофеев,
Т.Л. Чеведа, Л.М. Купчик

Резюме. В огляді описано взаємозв'язок кишкової мікробіоти з розвитком неалкогольної жирової хвороби печінки, алкогольної жирової хвороби печінки, цирозу печінки та їх ускладнень. Встановлено, що кишковий дисбіоз може відігравати одну з ключових патогенетичних ролей у розвитку та прогресуванні зазначеної патології, підвищуючи кишкову проникність, знижуючи захисні властивості слизового бар'єру, посилюючи транслокації мікроорганізмів у системний кровотік та підвищуючи ризик інфекційних ускладнень.

Ключові слова: кишкова мікробіота, надмірний бактеріальний ріст, неалкогольна жирова хвороба печінки, неалкогольний стеатогепатит.

Pathogenetic role of intestinal microbiota in liver diseases

S.M. Tkach, A.E. Dorofeyev,
T.L. Cheverda, L.M. Kupchik

Summary. In the article the up-to-date data regarding relationships between intestinal microbiota and liver diseases (nonalcoholic fatty liver disease, alcoholic fatty liver disease, cirrhosis and its complications) are presented. It concluded that dysbiosis may play important pathogenetic role in these pathology by increasing of intestinal permeability, impairment of protection of mucosa, increasing of bacterial translocation to systemic bloodstream and increasing of the risk of infection

Key words: gut microbiota, bacterial overgrowth, nonalcoholic fatty liver disease, nonalcoholic steatohepatitis.

Адрес для переписки:

Чеведа Татьяна Леонидовна
01053, Киев, бульв. Тараса Шевченка, 17
Національний медичинський
університет імені А.А. Богомольця,
кафедра внутрішньої медицини № 1
E-mail: cheverda.dok@mail.ru

Получено 28.07.2015