

ВПЛИВ КОРЕКЦІЇ МІКРОБІОМУ КИШКІВНИКА НА ГІПЕРАМОНІЄМІЮ У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ*

Жердьова Н. М.¹, Фалалеева Т. М.², Степура О. А.¹, Бака О. М.¹,

Швець Ю. В.², Пенчук Ю. М.², Костіцька І. О.³, Мазій С. І.¹, Хоревіна К. М.¹

¹ ДНУ «Центр інноваційних медичних технологій НАН України», м. Київ, Україна;

² Навчально-науковий центр «Інститут біології та медицини»

Київського національного університету імені Тараса Шевченка, м. Київ, Україна;

³ Івано-Франківський національний медичний університет, м. Івано-Франківськ, Україна
nadejda05.1977@gmail.com

Традиційні ускладнення цукрового діабету добре відомі та продовжують становити значний тягар для мільйонів пацієнтів. Проте прогрес у лікуванні цукрового діабету призвів до збільшення тривалості життя та появи інших, менш визнаних, ускладнень цієї патології. Крім того, дослідження продемонстрували зв'язок між цукровим діабетом і широким спектром супутніх захворювань, включно зі зниженням когнітивних функцій, функціональними порушеннями, афективними розладами, обструктивним апное сну, захворюваннями шлунково-кишкового тракту, тощо [1]. Хоча сучасні підходи до лікування досягли значного прогресу в контролі глікемії, але у деяких випадках вони все ще не забезпечують оптимальних результатів для пацієнтів [2]. Отже, переважна більшість хворих на цукровий діабет все ще бореться з декомпенсацією [2]. Складність до-

сягнення оптимального глікемічного контролю підкреслює необхідність вивчення додаткових або альтернативних шляхів, щоб запропонувати більше терапевтичних стратегій. Однією з причин декомпенсації та розвитку ускладнень у наших пацієнтів може бути гіперамоніємія [3]. Аміак є потужним нейротоксином, тому гіперамоніємія найчастіше проявляється неврологічними ознаками та симптомами залежно від основної патології [4, 5]. Так, у дослідженні пацієнтів з цукровим діабетом з гіперамоніємією частота виявлення периферичної діабетичної нейропатії становила 73,1%, кардіальної автономної нейропатії — 74,1%, порушення когнітивної функції — 96,2%, наявність стеатозу печінки помірного ступеня — 55,6%, важкого ступеня — 38,9%, слабо виражений фіброз печінки — 29,4% та помірно виражений — 35,3%. В цьому дослідженні було виявлено

* Роботу виконано за власної ініціативи авторів в межах пошукової тематики.

Автори гарантують повну відповідальність за все, що опубліковано в статті.

Автори гарантують відсутність конфлікту інтересів і власної фінансової зацікавленості при виконанні роботи та написанні статті.

Рукопис надійшов до редакції 05.08.2024.

позитивний взаємозв'язок між гіперамоніемією та інсулінорезистентністю, а саме, підвищенням показника індексу НОМА, але не було знайдено впливу рівня компенсації цукрового діабету на розвиток гіперамоніемії [3]. В той же час в іншому дослідженні, проведеному у хворих на цукровий діабет, виявлено значне підвищення рівня аміаку у осіб з неконтрольованим перебігом патології [6]. У більшості випадків гіперамоніемію пов'язують з розвитком цирозу печінки [7]. Але відомо, що гіперамоніемія може розвиватися на доциротичній стадії з прогресуванням портальної гіпертензії та фіброзом печінки внаслідок активації аміаком зірчастих клітин [8]. Так, у 52,5% пацієнтів із хронічними захворюваннями печінки, які вперше здали кров на цей аналіз, була виявлена гіперамоніемія [9]. Тому розуміння механізмів розвитку гіперамоніемії є необхідним для попередження розвитку потенційно небезпечних для життя неврологічних ускладнень. Мікробіом кишківника та пробіотики виявилися потенційно новими факторами у лікуванні діабету [10, 11]. Мета-аналіз за цією проблемою показав значні покращення за трьома ключовими результатами діабету: глікозильований гемоглобін (HbA_{1c}), глікемія плазми натще (ГПН) та рівні інсуліну в сироватці крові, збагачуючи поточне розуміння ролі пробіотиків і синбіотиків у лікуванні діабету. Однак неоднорідність результатів свідчить про те, що ефективність може змінюватися залежно від багатьох факторів, таких як тип діабету та конкретні штами пробіотиків або синбіотиків, що використовуються [12]. Ці результати узгоджуються зі свідченнями зростаючої кількості літератури, яка висвітлює потенційні переваги пробіотиків і синбіотиків у лікуванні діабету, зокрема в покращенні контролю глікемії [11, 13, 14]. Аміак утворюється в ре-

зультаті метаболізму білків їжі та тканин. Після травлення в тонкій кишці їжа розщеплюється на амінокислоти. У клітинах слизової оболонки кишківника амінокислоти розщеплюються з утворенням аміаку. У товстій кишці бактерії за допомогою уреаз можуть розкласти сечовину з утворенням аміаку. Кишківник є основним місцем виробництва аміаку. За нормальних фізіологічних обставин метаболізм переважною більшістю аміаку в печінці відбувається двома шляхами: один — цикл сечовини, інший — утворення глутаміну для тимчасової детоксикації [10]. Цей спосіб гарантує, що за нормальних фізіологічних умов печінка метаболізує майже весь аміак, отриманий із кишківника. Безумовно, для корекції гіперамоніемії як пероральні, так і внутрішньовенні препарати L-орнітину та L-аспартату виявилися ефективними для запобігання прогресуванню печінкової енцефалопатії за умов циротичних змін [9]. Тому необхідно розглянути шляхи лікування, спрямовані на зменшення утворення і всмоктування аміаку в кишківнику, та розглянути пробіотики і пребіотики як альтернативну можливість знизити рівень аміаку в сироватці крові та кишкових нейротоксичних речовин шляхом прискорення кишкового транспорту, а також зміни метаболізму та кількості кишкових бактерій. Відомо, що потужність пробіотичних засобів залежить від штаму мікроорганізмів, тому формування чіткої стратегії комплексного лікування діабету із включенням пробіотиків потребує прицільних тематичних випробувань.

Тому **метою** нашого дослідження було вивчити стан мікробіоти кишківника у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу з гіперамоніемією та оцінити вплив багатощамних пробіотиків на рівень аміаку.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Обстежено 25 пацієнтів, з них 18 осіб з гіперамоніемією (11 жінок та 7 чоловіків) та 7 без гіперамоніемії (7 жінок). У дослідження були включені пацієнти з цукровим діабетом 2 типу, у яких була діагностована гіперамоніемія та збережена можливість

спілкуватись та розуміти завдання, вміння читати та писати українською мовою, підписана форма інформованої згоди пацієнта. Пацієнт повинен бути на стабільній цукрознижувальній терапії останні 3 місяці. Дослідження проведено відповідно

до етичних та морально-правових вимог Статуту Української асоціації з біоетики та норм GCP (1992 р.), GLP (2002 р.), принципів Гельсінської декларації прав людини, Конвенції Ради Європи про права людини і біомедицину та ухвалено Комітетом з медичної етики при ДНУ «Центр інноваційних медичних технологій НАН України».

До лікування вимірювали антропометричні показники (індекс маси тіла (ІМТ)), лабораторні показники вимірювали до та після лікування (індекс НОМА, ГПН, інсулін, аланінамінотрансфераза (АЛТ), аспаратамінотрансфераза (АСТ), гамма-глутамінтранспептидаза (ГГТ) та аміак, HbA1c визначали тільки на початку дослідження. Кількісне визначення аміаку (NH_3) до та після лікування проводили ферментативним UF методом у плазмі крові пацієнтів на допомогу біохімічного автоматичного аналізатора Pentra C400 (Horiba Medical, Франція) та реагентів виробництва Randox Laboratories Ltd. (Великобританія) з використанням протоколів, які адаптовано до аналізатора Pentra C400. Референтний інтервал для нормальних значень складає 11–32 мкмоль/л, лінійність метода до 1180 мкмоль/л.

Для дослідження використовували свіжі зразки плазми крові. Кров відбирали методом венепункції із ліктвової вени за допомогою вакутайнерів з K_3EDTA (VacuSel, Туреччина). Кров збирали без застою і зберігали на льодяній бані не більше 30 хвилин, після чого зразки центрифугували 15 хвилин при 8°C за допомогою центрифуги MPW-M-Universal (Польща).

Для кількісної оцінки стеатозу печінки до лікування використовували стеатометрію (CAP, коефіцієнт затухання). Визначення коефіцієнту затухання є найбільш зручним методом діагностики стеатозу, що дозволяє проводити обстеження в реальному часі з одночасним проведенням В-режиму та вибором зони зацікавленості. Ультразвукова стеатометрія використовується як скринінгове обстеження при неалкогольній жировій хворобі печінки та є індикатором порушення ліпідного та вуглеводного обмінів.

Вимірюється коефіцієнт в дБ/см, розподіл на стадії з кореляцією до гістологічної класифікації (NAS):

- S0 — відсутність стеатозу — частка гепатоцитів, насичених ліпідами, до 5%, до 2,22 дБ/см;
- S1 — стеатоз легкого ступеня — частка гепатоцитів, насичених ліпідами, до 33%, 2,22–2,33 дБ/см;
- S2 — стеатоз помірного ступеня — частка змінених гепатоцитів до 66%, 2,33–2,9 дБ/см;
- S3 — стеатоз тяжкого ступеня — кількість насичених ліпідами гепатоцитів вище 66%, вище 2,9 дБ/см.

За допомогою цієї методики можна проводити контроль лікування.

Для оцінки фіброзу печінки проводилась еластографія.

Швидкісні показники є пропорціональними до жорсткості тканини, чим вище жорсткість середовища, тим вища швидкість поширення. Визначається в кПа.

Оцінка результатів була проведена за шкалою METAVIR:

- F0 — відсутність фіброзу — до 6 кПа;
- F1 — слабо виражений фіброз — 6-7 кПа;
- F2 — помірно виражений фіброз — 7-9,5 кПа;
- F3 — сильно виражений фіброз — 9,5-12,5 кПа;
- F4 — цироз — 12,5 та більше кПа.

Ступінь ожиріння, жирову масу тіла, відсоток жиру в організмі, показники вісцерального ожиріння реєстрували за допомогою монітора складу тіла на основі технології аналізу біоелектричного опору (аналізатор складу тіла Tanita SC-330, Tanita Corp., Японія).

Для визначення стану когнітивних функцій використовували шкалу МОСА. Якщо отримували нижче 27 балів, оцінювали як порушення когнітивних функцій.

Мікробіом кишківника до та після лікування було визначено за способом MALDI-TOF: *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, інші *Enterobacterales* (включно з *Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.*, *Escherichia (E.) coli*, *Klebsiella spp.*, *Morganella spp.*, *Proteus spp.*, *Providencia spp.*, *Yersinia spp.*), *Campilobacter spp.*,

Bifidobacterium spp., *Lactobacillus spp.*, неферментуючі організми (включно з *Pseudomonas spp.*, *Acinetobacter*), *Enterococcus spp.*, *Staphylococcus spp.* (включно з *Staphylococcus aureus*), *Streptococcus* (включно з *Streptococcus agalactiae*), *Clostridium difficile* та інші (*Clostridium perfringens*), *Bacteroides spp.* (включно з *Bacteroides fragilis*), анаеробні коки (включно з *Peptococcus spp.*, *Peptostreptococcus spp.*), *Aeromonas spp.*, *Bacillus spp.*, *Actinomyces spp.*, *Candida spp.* (включно з *Candida albicans*).

Оскільки показано, що саме багатоштамні препарати пробіотиків мають достовірну ефективність у зниженні HbA1c і сироваткового рівня інсуліну [12, 14–16], до комплексної терапії пацієнтів із цукровим діабетом включали капсули Лактіале® Мульти («Фармак», Україна). Ці капсули містять комбінацію із 14 штамів пробіотичних мікроорганізмів (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bacillus subtilis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactococcus lactis ssp. lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium infantis*, *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus salivarius*) — сумарно $2,0 \times 10^9$ КУО пробіотичних мікроорганізмів. Вищезазначений комплексний пробіотичний препарат був призначений всім пацієнтам з гіперамоніемією по 1 капсулі 2 рази на день перед їжею протягом 1 місяця.

Дані були аналізовані за допомогою програми SPSS версія 25. Описова статис-

тика була проведена для отримання демографічних даних. Дані представлені як середнє значення \pm стандартна похибка чи відсотки. Загальну лінійну модель (UNIANOVA) використовували для порівняння показників груп. Для визначення взаємозв'язку між показниками використовували аналіз лінійної регресії, дані подані у вигляді нестандартизованого коефіцієнта (B) і 95% довірчого інтервалу (95% ДІ) для B. Різницю вважали вірогідною за рівня значущості $p < 0,05$.

При статистичній обробці даних для визначення відмінностей у частоті виявлення мікроорганізмів в залежності від способу розмноження використовували точний тест Фішера. В якості описової статистики для характеристики ступеня мікробного обсіменіння використовували медіану та інтерквартильну відстань (ІКВ).

Щоб дослідити зв'язок між окремими метаданими та характеристиками мікроорганізмів (наприклад, таксономіями) шляхом поправки на інші можливі фактори, що змішують, ми використали багатовимірний регресійний аналіз, який є статистичною моделлю для коригування коваріат. Спочатку було проведено одновимірний однолінійний регресійний аналіз із трансформованою \log_{10} чисельністю кожної мікробної ознаки як об'єктивною змінною та кожним фактором метаданих як пояснювальною змінною.

Зв'язки між варіаціями кишкового мікробіому оцінювали за розбіжністю Брея-Кертиса.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Загальну характеристику обстежених пацієнтів наведено у таблиці 1.

Як видно з таблиці 1, різниці за загальними характеристиками між групами обстежених не спостерігалось. Хоча у деяких дослідженнях показано, що декомпенсація цукрового діабету впливає на розвиток гіперамоніемії [6], в нашому дослідженні групи вірогідно не відрізнялись за показниками глікованого гемоглобіну та рівнем глікемії.

За даними стеатометрії та стеатографії всі обстежені пацієнти мали стеатоз печін-

ки різного ступеня, але наявність фіброзу печінки частіше спостерігалась в групі з гіперамоніемією.

У обстежених пацієнтів мали місце прояви стеатозу та фіброзу печінки за умов наявності нормальних рівнів трансаміназ (табл. 1 та 2).

Стан когнітивних функцій у пацієнтів з гіперамоніемією був вірогідно гіршим і за шкалою МОСА становив $23,44 \pm 0,44$ балу порівняно з особами, які не мали підвищеного рівня амонію — $25,87 \pm 0,98$ балу ($p = 0,017$).

Таблиця 1

**Характеристика пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу
за наявності та відсутності гіперамоніємії до лікування**

Показник	Цукровий діабет 2 типу з гіперамоніємією	Цукровий діабет 2 типу без гіперамоніємії
Вік, роки	62,10 ± 1,80	58,14 ± 1,77
Тривалість діабету, роки	11,00 ± 1,31	10,14 ± 2,58
Індекс маси тіла, кг/м ²	31,76 ± 1,48	31,07 ± 1,12
Загальна жирова маса, %	31,30 ± 2,16	30,78 ± 1,68
Вісцеральна жирова маса, %	11,38 ± 1,09	10,57 ± 1,30
HbA1c, %	7,06 ± 0,23	7,81 ± 0,86
Глікемія плазми натще, ммоль/л	8,63 ± 0,66	8,50 ± 0,56
Аланінамінотрансфераза, од./л	20,72 ± 1,34	22,77 ± 2,10
Аспартатамінотрансфераза, од./л	21,72 ± 1,16	20,62 ± 1,98
Гамма-глутамінтранспептидаза, од./л	41,18 ± 4,55	48,37 ± 11,45
Аміак, мкмоль/л	43,64 ± 1,77	17,71 ± 2,28*

Примітка:

* P < 0,05 порівняно з групою пацієнтів з гіперамоніємією.

Таблиця 2

**Частота виявлення стеатозу та фіброзу печінки (%)
у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу та гіперамоніємією**

Ускладнення з боку печінки	Цукровий діабет 2 типу з гіперамоніємією	Цукровий діабет 2 типу без гіперамоніємії
<i>Стеатоз</i>		
1 ступінь	5,6	-
2 ступінь	66,7	57,1
3 ступінь	27,8	42,9
<i>Фіброз</i>		
0 ступінь	38,9	57,1
1 ступінь	44,4	14,3
2 ступінь	5,6	28,6
3 ступінь	11,1	-

Таблиця 3

**Характеристика пацієнтів до та після лікування
за допомогою пробіотиків в групі пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу
та гіперамоніємією**

Показник	До лікування	Після лікування	P
Аміак, мкмоль/л	43,64 ± 1,77	36,64 ± 1,69	< 0,001
Глікемія плазми натще, ммоль/л	8,63 ± 0,66	7,27 ± 0,49	< 0,001

Після проведеного лікування пробіотиком Лактіале® Мульти ми отримали статистично значуще зниження у пацієнтів рівня аміаку в середньому на 7,0 мкмоль/л та ГПН на 1,33 ммоль/л (див. табл. 3), що співпадає з даними ряду досліджень з вивчен-

ня впливу пробіотиків на стан компенсації при ЦД 2 типу. Так, відомо, що для лактобацил, які входять до складу обраного нами препарату, було продемонстровано антидіабетичну дію, зокрема здатність покращувати толерантність до глюкози, знижува-

ти продукцію протизапальних цитокінів, протидіяти окисному стресу [12], схожий ефект отриманий для *Bifidobacterium breve* та *Bifidobacterium longum* [12, 15]. Пацієнти з ЦД, які отримували набір пробіотиків включно з *B. bifidum* (2×10^9 КУО/мл) щодня, значно знизили резистентність до інсуліну, рівень глюкози в крові натще, а також підвищили чутливість до інсуліну, що покращило антиоксидантну здатність та вплинуло на зниження С-реактивного білка [12]. Ще один компонент — *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* — у дослідженнях призводить до суттєвого зниження вмісту тригліцеридів в осіб із надлишковою масою тіла. *Bacillus subtilis* теж має антидіабетичну активність. Важливо, що ці бацили здатні утворювати резистентні спори, які успішно адаптуються в кислому середовищі шлунку, досягають кишківнику та розмножуються там з утворенням значної кількості активних форм пробіотика. *B. subtilis* здатна утворювати стійкі біоплівки в кишківнику, що забезпечує довготривалу реалізацію сприятливих ефектів [16]. Було доведено, що *Streptococcus thermophilus* усуває вільні радикали та чинить модулювальний вплив на імунну систему кишківнику.

В дослідженнях продемонстровано здатність цієї бактерії запобігати розвитку інсуліно-резистентності, знижувати рівень глікемії натще, покращувати толерантність до глюкози та зменшувати вміст холестерину й прозапальних медіаторів у сироватці крові [17].

Найбільш важливу роль для мікробіоти кишківника відіграють лактобацили та біфідобактерії (табл. 4). Частота виявлення лактобацил до терапії та після неї становила 100% в обох випадках. Біфідобактерії також зустрічались в усіх групах пацієнтів до терапії та після. В усіх групах була присутня *E. coli* майже в однакових кількостях до терапії та після. Хоча після терапії *E. coli* зі зниженою ферментативною активністю і була присутня також у всіх пацієнтів, її кількість дещо знизилась, а кількість *E. coli* з гемолітичною активністю зменшилась до 0. Кількість представників *Enterococcus spp.* та *Klebsiella spp.* після терапії в обох випадках знизилась на 24% ($p > 0,05$), а представників роду *Candida* та анаеробних бактерій — на 12% ($p > 0,05$).

Частота виявлення *S. aureus* та *Pseudomonas spp.* на початку терапії становила 4 та 12% відповідно. Але після терапії в зразках вони виявлені не були. Представники

Таблиця 4

**Частота виявлення, медіана
та інтерквартильна відстань ступеня обсіменіння**

Характеристика	До терапії	Після терапії
<i>Bifidobacterium spp.</i>		
Частота виявлення, %	100	100
Медіана, КУО/г	10^5	10^5
ІКВ, КУО/г	10^5-10^8	10^5-10^8
<i>Lactobacillus spp.</i>		
Частота виявлення, %	100	100
Медіана, КУО/г	10^5	10^6
ІКВ, КУО/г	$10^5-5 \times 10^8$	$10^6-8 \times 10^8$
<i>E. coli</i>		
Частота виявлення, %	100	100
Медіана, КУО/г	10^3	10^3
ІКВ, КУО/г	$10^3-8 \times 10^8$	$10^3-3 \times 10^8$
<i>E. coli</i> (зі зниженою ферментативною активністю)		
Частота виявлення, %	100	100
Медіана, КУО/г	10^3	10^3
ІКВ, КУО/г	$10^3-8 \times 10^7$	$10^3-2 \times 10^6$

Характеристика	До терапії	Після терапії
<i>E. coli</i> (гемолітична)		
Частота виявлення, %	8	0
Медіана, КУО/г	10^7	0
ІКВ, КУО/г	$10^7-4 \times 10^7$	0
<i>Enterococcus spp.</i>		
Частота виявлення, %	92	68
Медіана, КУО/г	10^5	10^5
ІКВ, КУО/г	$10^5-6 \times 10^8$	10^5-10^7
<i>Klebsiella spp.</i>		
Частота виявлення, %	52	28
Медіана, КУО/г	10^3	10^3
ІКВ, КУО/г	$10^3-2 \times 10^7$	10^3-10^5
<i>S. aureus</i>		
Частота виявлення, %	4	0
Медіана, КУО/г	10^4	0
ІКВ, КУО/г	10^4	0
<i>Candida spp.</i>		
Частота виявлення, %	32	20
Медіана, КУО/г	10^3	10^3
ІКВ, КУО/г	$10^3-6 \times 10^5$	10^3
<i>Pseudomonas spp.</i>		
Частота виявлення, %	12	0
Медіана, КУО/г	10^6	0
ІКВ, КУО/г	$10^6-2 \times 10^7$	0
<i>Bacteroides spp.</i>		
Частота виявлення, %	88	88
Медіана, КУО/г	10^3	10^3
ІКВ, КУО/г	10^3-10^6	$10^3-5 \times 10^5$
<i>Анаеробні мікроорганізми</i>		
Частота виявлення, %	44	32
Медіана, КУО/г	10^3	10^3
ІКВ, КУО/г	$10^3-5 \times 10^5$	10^3-10^5

Примітки:

ІКВ — інтерквартильна відстань;

КУО — колонієутворювальна одиниця.

роду *Bacteroides spp.* у відсотковому відношенні у груп пацієнтів не змінились (88% до терапії та після; $p > 0,05$).

Вплив пробіотиків на характеристику мікробіому показав доволі велику дисперсність для різних пацієнтів. Було проведено порівняння мікробіоти різних пацієнтів до та після лікування пробіотиками.

Значення розбіжності Брея-Кертіса знаходиться в межах від 0 до 1, де 0 означає, що мікробіота має однаковий склад (містять однакові види в рівній кількості), а 1 означає, що збільшується кількість представників мікробіому різних груп.

Так, у пацієнтів № 1 та 10 розбіжність Брея-Кертіса (BC_{ij}) максимально наближа-

ється до нуля та становить 0,0711 та 0,0783 відповідно (табл. 5). Це вказує на те, що мікробіота пацієнтів майже не змінилась за час лікування.

Переважає кількість пацієнтів мала значення ВСіj в межах від 0,1006 до 0,4071, що показує на якісну зміну мікрофлори в результаті терапії. Кількісна складова мікробіоти змінювалася, а саме, збільшувалась кількість *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*, *E. coli*, *Enterococcus spp.*, *Bacteroides spp.* Широкий діапазон значень вказував на те, що пацієнти індивідуально реагували на лікування пробіотичним препаратом.

Пацієнти № 7, 13, 20, 22, 23, 24 при первинному дослідженні показали відсутність

гіперамоніємії, а тому терапію пробіотиком не отримували.

Отже, аналізуючи данні, ми можемо побачити, що вживання обраного мультиштамного пробіотика Лактіале® Мульти курсом 1 місяць перорального прийому по 1 капсулі 2 рази на день перед їжею призводить до зменшення шкідливих для організму людини бактерій в цілому. Індивідуальна реакція пацієнтів на терапію може бути пов'язана з особливостями способу життя.

Дані показують, що спостерігається збільшення *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*, *E. coli*, *Enterococcus spp.* та *Bacteroides spp.* і зменшення присутності бактерій з уразною активністю, і, як наслідок,

Таблиця 5

Зв'язки між варіаціями кишкового мікробіому за розбіжністю Брея-Кертиса (ВСіj)

Пацієнт	Сіj	Si	Sj	Всіj
1	31,4771213	31	36,7781513	0,0711
2	34	40,09691	40,8573325	0,160
3	31	48,0791812	39,8943161	0,2952
4	27,60206	27,7781513	33,60206	0,1006
5	23,7923917	37,7923917	38,2600714	0,3743
6	26	26,90309	33	0,1319
7	–	–	–	–
8	30	30	42,5563025	0,1730
9	35	41	43	0,1666
10	36,6434527	38,0413927	41,4771213	0,0783
11	34	40,09691	40,8573325	0,160
12	28	43,30103	42,8943161	0,3503
13	–	–	–	–
14	24,2552725	27,2552725	34,4216039	0,2134
15	31,7781513	64,122905	43,0791812	0,4071
16	–	–	–	–
17	36,0569049	65,3044905	48,9300316	0,3687
18	24,3802112	32,39794	24,3802112	0,1412
19	30	46,4248816	41	0,3136
20	–	–	–	–
21	32,7781513	35,7781513	39,20412	0,1257
22	–	–	–	–
23	–	–	–	–
24	–	–	–	–
25	34,3424227	43,8928956	38,3802112	0,1651

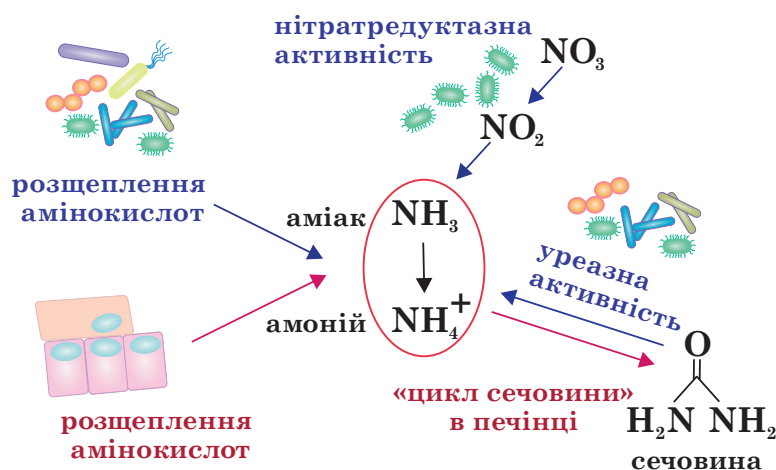


Рис. 1. Ключові метаболічні шляхи утворення аміаку в організмі людини. Червоний колір — біохімічні шляхи, що здійснюють еукаріотичні клітини. Синій колір — біохімічні шляхи, що здійснюють бактерії-коменсали.

нормалізація лабораторних показників, таких як рівень глікемії та аміаку.

Мікробіоту організму людини розглядають як потужний метаболічний орган, оскільки бактерії різних видів володіють унікальною метаболічною активністю, відмінною від такої, що закодована в геномі людини. Представники мікробіоти здійснюють низку біохімічних перетворень різних органічних та неорганічних сполук, подібно до біогеохімічної діяльності бактерій в масштабах нашої планети. Бактерії-коменсали продукують велику кількість метаболітів, частина з яких є універсальними та ідентичними до таких в організмі людини (молочна кислота, аміак, сірководень), а частина є унікальними і характерними лише для бактерій певних видів (коротколанцюгові жирні кислоти, вторинні жовчні кислоти, індол). Впродовж мільйонів років еволюції усі ці біохімічні цикли та утворені в них метаболіти дуже щільно інтегровані в загальний метаболічний профіль організму людини.

Однією з низькомолекулярних сполук, що утворюється в метаболічних циклах перетворення органічних сполук азоту в організмі людини, є аміак. У водному середовищі організму при взаємодії з молекулою води аміак перетворюється на амоній. Аміак утворюється в організмі людини в процесі дезамінування амінокислот, аденілової кислоти та інших азотвмісних сполук (сечовини) клітинами різних типів:

печінки, нирок, м'язової системи, нервової тканини. У центральній нервовій системі аміак продукується з глутаміну [20].

У продукції аміаку також беруть участь бактерії — представники мікробіоти. Це відбувається за різними механізмами (рис. 1). Бактерії багатьох видів подібно до еукаріотичних клітин організму людини здійснюють дезамінування амінокислот. Бактерії, що належать до родів *Staphylococcus*, *Helicobacter*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Streptococcus*, *Ureaplasma*, ентерогеморагічні *Escherichia coli* (ЕНЕС) продукують аміак внаслідок розщеплення сечовини за участі ферменту уреазы [21]. Зауважимо, що усі перераховані представники мікробіоти володіють виразним патогенним потенціалом. Уреаза є також потужним фактором патогенності. Бактерії інших видів, наприклад, непатогенні варіанти *Escherichia coli*, виділяють аміак шляхом відновлення азоту з нітратів та нітритів за участі ферментів — нітратредуктаз [22]. Деякі представники роду *Lactobacillus* власної нітратредуктазної активності не мають, але за умов присутності в мікрооточенні вітаміну К та гему, набувають властивості продукувати аміак з нітратів [5].

Якщо зауважити, що вітамін К продукується бактеріями виду *Escherichia coli*, то стає зрозумілим, що лактобактерії в асоціаціях з *Escherichia* можуть набувати нових біосинтетичних властивостей і бути продуцентами аміаку.

Аміак, що потрапив у кров, далі переноситься до печінки і підлягає там біотрансформації з утворенням сечовини у низці реакцій, які отримали назву «цикл сечовини». Зрозуміло, що патології печінки призводять до порушення функціонування біохімічного циклу перетворення аміаку на сечовину, що в решті решт веде до підвищення концентрації аміаку в плазмі крові.

Отже утворення аміаку в організмі людини відбувається внаслідок сумісної біохімічної активності клітин організму людини та мікробіоти. В нормі вміст аміаку в плазмі крові становить 10–35 мкмоль/л. З віком вміст аміаку збільшується [23]. Також підвищений вміст аміаку (гіперамоніємія) асоційований з низкою патологічних станів людини, що супроводжуються порушенням активності нервової системи: печінковою енцефалопатією, хворобою Альцгеймера [24, 25]. При цьому причиною порушення функціонування нервової системи є саме підвищений вміст в периферичній крові і тканинах організму аміаку. На експериментальній моделі з використанням щурів було показано, що підвищений рівень аміаку у материнському організмі під час гестації призводить до тривалих когнітивних порушень у новонароджених щурів [26].

Нині вже доведено, що розвиток ЦД 2 типу супроводжується змінами композиції мікробіоти кишківника [27, 28]. У її складі збільшується кількість бактерій, що володіють вираженим патогенним потенціалом, і зменшується представництво бактерій тих видів, що мають позитивний вплив на здоров'я людини [29].

В проведеному нами дослідженні було підтверджено, що композиція мікробіоти

пацієнтів з ЦД 2 типу має ознаки дисбактеріозу. У більшості пацієнтів було визначено зменшену кількість представників родів *Lactobacillus* та *Bifidobacterium*, а також підвищений вміст бактерій родів *Escherichia* та *Pseudomonas*. Застосування у пацієнтів двічі на день впродовж місяця комплексного пробіотика Лактіале® Мульти, що містить бактерії 14 штамів, переважно лактобактерій та біфідобактерій, призводило до часткового відновлення популяції цих бактерій у кишківнику хворих. Також було відмічено, що після застосування обраного мультиштамного пробіотика в групі пацієнтів з гіперамоніємією відмічалось достовірне зниження рівня аміаку та глікемії в сироватці крові. На наш погляд, це може бути пов'язане саме зі зміною композиції мікробіоти кишківника пацієнтів. Зменшення відсоткового вмісту бактерій, що володіють уреазною активністю, з одночасним збільшенням кількості лакто- та біфідобактерій може бути причиною зменшення продукції аміаку кишковою мікробіотою.

Іноземні автори в своїх дослідженнях довели, що застосування лактулози, як одного з засобів зменшення рівня аміаку, призводить до підвищення вмісту в мікробіоті бактерій родів *Lactobacillus* та *Bifidobacterium* [30–32]. Розщеплення лактулози бактеріями товстої кишки призводить до утворення низки кислот: молочної, оцтової та мурашиної, що далі веде до закислення мікрооточення, внаслідок чого всмоктування аміаку дещо знижується. На наш погляд, додавання подібних пребіотичних препаратів також може вплинути на композицію мікробіоти в кишечнику та її метаболічну активність.

ВИСНОВКИ

1. У пацієнтів, хворих на цукровий діабет 2 типу, з гіперамоніємією визначався дисбіоз кишківника зі зменшеною кількістю представників родів *Lactobacillus* та *Bifidobacterium* та підвищеним вмістом бактерій родів *Escherichia* та *Pseudomonas*.
2. Після проведеного лікування мультиштамним пробіотичним препаратом впродовж

1 місяця по 2 капсули на добу кількісна складова мікробіоти змінювалася, а саме, збільшувалася кількість *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*, *E. coli*, *Enterococcus spp.* та *Bacteroides spp.* і зменшувалася присутність бактерій з уреазною активністю, що призвело до вірогідно значущого зменшення рівня аміаку та рівня глікемії натще.

3. Досліджений мультиштамний пробіотик, що містить комбінацію із 14 штабів пробіотичних мікроорганізмів, може бути рекомендований як альтернатив-

ний та додатковий метод профілактики та лікування гіперамоніємії та гіперглікемії у хворих на цукровий діабет 2 типу.

ЛІТЕРАТУРА (REFERENCES)

- Tomic D, Shaw JE, Magliano DJ. *Nat Rev Endocrinol* 2022;18: 525-539. <https://doi.org/10.1038/s41574-022-00690-7>
- Lin X, Xu Y, Pan X, et al. *Sci Rep* 2020;10: 14790. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71908-9>
- Zherd'ova N, Stepura O, Iskanderova E, et al. *Probl Endocrine Pathol* 2022;79(1): 112-117. <https://doi.org/10.21856/j-PEP.2022.1.15>
- Upadhyay R, Bleck TP, Busl KM. *Case Rep Med* 2016; 2016: 8512721. <http://doi.org/10.1155/2016/8512721>.
- Olde Damink SW, Jalan R, Dejong CH. *Metab Brain Dis* 2009; 24(1): 169-181. <http://doi.org/10.1007/s11011-008-9122-5>.
- Hyperammonemia in uncontrolled Type 2 Diabetes Mellitus. *J Dental Med Sci* 2016;15(10): 14-19 <http://doi.org/10.9790/0853-1510031419>
- Ong JP, Aggarwal A, Krieger D, et al. *Am J Med* 2003;114(3): 188-193. [http://doi.org/10.1016/s0002-9343\(02\)01477-8](http://doi.org/10.1016/s0002-9343(02)01477-8).
- Tomson KL, et al. *Med Hypotheses* 2018;113: 91-97. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2018.02.010>
- Ageeva EA, Alekseenko SA. *Gastrojenterologija* 2017;16: 6-8.
- Zhu R, Liu L, Zhang G, et al. *Biosci Rep* 2023;43(6): BSR20222524. <http://doi.org/10.1042/BSR20222524>.
- Grahnmemo L, Nethander M, Coward E, et al. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2022;10: 481-483. [http://doi.org/10.1016/S2213-8587\(22\)00113-9](http://doi.org/10.1016/S2213-8587(22)00113-9).
- Baroni I, Fabrizi D, Luciani M, et al. *Clin Nutr* 2024; 43(4): 1041-1061. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2024.03.006>.
- Ceriello A, Prattichizzo F, Phillip M, et al. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2022;10: 75-84. [http://doi.org/10.1016/S2213-8587\(21\)00245-X](http://doi.org/10.1016/S2213-8587(21)00245-X)
- Alagiakrishnan K, Halverson T. *World J Diabetes* 2021; 12: 1463-1478. <http://doi.org/10.4239/wjd.v12.i9.1463>.
- AL-Ishaq RK, Samuel SM, Büsselberg D. *Int J Mol Sci* 2023;24: 8118. <https://doi.org/10.3390/ijms24098118>.
- Cardinali N, Bauman C, Rodriguez Ayala F, Grau R. *Clin Case Rep* 2020;8(12): 3120-3125. <http://doi.org/10.1002/ccr3.3354>.
- Gao Xiangyang, Wang Fei, Zhao Peng, et al. *Peer J* 2019;7: e71117. <http://doi.org/10.7717/peerj.7117>.
- Caprara GL, Lovison O von A, Martins AF, et al. *Eur J Pediatr* 2024;183(2): 749-757. <http://doi.org/10.1007/s00431-023-05341-1>.
- Mengfan Li, Lijiao Yang, Chenlu Mu, et al. *Comput Struct Biotechnol J* 2022;20: 2402-2414. <http://doi.org/10.1016/j.csbj.2022.03.038>.
- Lun'ova GG. *Klinichna biohimija, Kyi'v*, 2013.
- Konieczna I, Żarnowiec P, Kwinkowski M, et al. *Curr Protein Pept Sci* 2012;13(8): 789-806. <http://doi.org/10.2174/138920312804871094>.
- Tiso M, Schechter AN. *PLOS One* 2015. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0119712>.
- Zhenxing Ren, Ling Zhao, Mingliang Zhao, et al. *Cell Rep Med* 2024;5(5): 101543. <http://doi.org/10.1016/j.xcrm.2024.101543>.
- Ballester MP, Tranah TH, Balcar L, et al. *J Hepatol* 2023;79: 967-976. <http://doi.org/10.1016/j.jhep.2023.05.022>.
- Yan Yan Jin, Parul Singh, Hea-Jong Chung, Seong-Tschool Hong. *Nutrients* 2018;10: 564. <http://doi.org/10.3390/nu10050564>.
- Dominguini D, Dall'igna DM, Nogueira L, et al. *An Acad Bras Cienc* 2020;92(4): e20190925. <http://doi.org/10.1590/0001-3765202020190925>.
- Zheng Zhou, Bao Sun, Dongsheng Yu, Chunsheng Zhu. *Front Cell Infect Microbiol* 2022;12: 834485. <http://doi.org/10.3389/fcimb.2022.834485>.
- Lixiang Zhai, Jiayan Wu, Yan Y. Lam, et al. *Int J Mol Sci* 2021;22(23): 12846. <http://doi.org/10.3390/ijms222312846>.
- Michels N, Zouiouich S, Vanderbauwhede B, et al. *Obes Rev* 2022;23(4): e13409. <http://doi.org/10.1111/obr.13409>.
- Venema K, van Nuenen M, van den Heuvel E, et al. *Microb Ecol Health Dis* 2003;15: 94-105.
- Amorim C, Silvério SC, Cardoso BB, et al. *Carbohydrate Polymers* 2019;229. <http://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115460>.
- Bothe MK, Maathuis AJH, Bellmann S, et al. *Nutrients* 2017;9: 767. <http://doi.org/10.3390/nu9070767>.

ВПЛИВ КОРЕКЦІЇ МІКРОБІОМУ КИШКІВНИКА НА ГІПЕРАМОНІЄМІЮ У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ

Жердєва Н. М.¹, Фалалєєва Т. М.², Степура О. А.¹, Бака О. М.¹,
Швєць Ю. В.², Пенчук Ю. М.², Костіцька І. О.³, Мазій С. І.¹, Хорєвіна К. М.¹

¹ ДНУ «Центр інноваційних медичних технологій НАН України»,
м. Київ, Україна;

² Навчально-науковий центр «Інститут біології та медицини»
Київського національного університету імені Тараса Шевченка,
м. Київ, Україна;

³ Івано-Франківський національний медичний університет, м. Івано-Франківськ, Україна
nadejda05.1977@gmail.com

В статті наведено дані щодо стану кишкової мікробіоти у хворих із цукровим діабетом 2 типу та гіперамоніємією. Метою нашого дослідження було вивчити стан мікробіоти кишківника у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу з гіперамоніємією та оцінити вплив багатоштамного пробіотику на рівень аміаку.

Матеріали та методи. У дослідження було включено 25 пацієнтів, з них 18 осіб з гіперамоніємією (11 жінок та 7 чоловіків) та 7 без гіперамоніємії (7 жінок). Середній вік пацієнтів з гіперамоніємією становив $62,10 \pm 1,80$ роки, рівень HbA_{1c} $7,06 \pm 0,23\%$, середній рівень аміаку — $43,64 \pm 1,77$ мкмоль/л. Для корекції кишкової мікробіоти пацієнти з гіперамоніємією отримували комплексний пробіотик (14 штамів, сумарно $2,0 \times 10^9$ КУО пробіотичних мікроорганізмів) 2 рази на добу протягом 1 місяця.

Результати. Було встановлено, що у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу з гіперамоніємією визначався дисбіоз кишківника зі зменшеною кількістю представників родів *Lactobacillus* та *Bifidobacterium*, та підвищеним вмістом бактерій родів *Escherichia* та *Pseudomonas*. Після проведеного лікування пробіотиком кількісна складова мікробіоти змінювалася, а саме, збільшувалася кількість *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Escherichia coli*, *Enterococcus spp.* та *Bacteroides spp.* і зменшувалася присутність бактерій з уреазною активністю, що призвело до вірогідно значущого зменшення рівня аміаку на $7,0$ мкмоль/л та рівня глікемії натще на $1,33$ ммоль/л.

Висновок. Додаткова терапія багатоштамними пробіотиками покращує стан мікробіоти кишківника у хворих на цукровий діабет 2 типу з гіперамоніємією, вірогідно знижуючи рівень аміаку та рівень глікемії натще.

Ключові слова: цукровий діабет, гіперамоніємія, кишкова мікробіота, пробіотики.

INFLUENCE OF GUT MICROBIOTA CORRECTION ON HYPERAMMONEMIA IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES

N. M. Zherdova¹, T. M. Falalyeyeva², O. A. Stepura¹, O. M. Baka¹,
Y. V. Shvets², Y. M. Penchuk², I. O. Kostitska³, S. I. Mazii¹, K. M. Khorievina¹

¹ Center for Innovative Medical Technologies of the NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine;

² Educational and scientific center «Institute of biology and medicine», Kyiv, Ukraine;

³ Ivano-Frankivsk National Medical University, Ivano-Frankivsk, Ukraine
nadejda05.1977@gmail.com

The article presents data on the condition of gut microbiota in patients with type 2 diabetes and hyperammonemia. The aim of the study was to study the condition of the gut microbiota in patients with type 2 diabetes with hyperammonemia and to evaluate the effect of a multi-strain probiotic on ammonia levels.

Materials and methods. 25 patients were included in the study, 18 of them with hyperammonemia (11 women and 7 men) and 7 without hyperammonemia (7 women). The average age of patients with hyperammonemia was 62.10 ± 1.80 years, HbA_{1c} level — $7.06 \pm 0.23\%$, average ammonia level — 43.64 ± 1.77 μM . To correct the intestinal microbiota, patients with hyperammonemia received a complex probiotic (14 strains, a total of 2.0×10^9 CFU of probiotic microorganisms) 2 times per day for 1 month.

Results. It was established that in patients with type 2 diabetes with hyperammonemia, intestinal dysbiosis was determined with a reduced number of representatives of the genera *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*, and an increased content of *Escherichia* and *Pseudomonas* bacteria. After the probiotic treatment, the quantitative composition of the microbiota changed, namely, the number of *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*, *E. coli*, *Enterococcus spp.* increased, and the presence of bacteria with urease activity decreased, resulting in a statistically significant reduction in ammonia levels by 7.0 μM and fasting blood glucose levels by 1.33 mM.

Conclusions. Adjunctive therapy with multi-strain probiotics improves the state of the gut microbiota in type 2 diabetes patients with hyperammonemia, significantly reducing ammonia levels and fasting glycemia.

Key words: diabetes mellitus, hyperammonemia, intestinal microbiota, probiotics.