

Г.П. Михальчишин, П.М. Боднар, Д.С. Янковський*, Т.В. Берегова**, Н.М. Кобиляк

ОЦІНКА ГІПОЛІПІДЕМІЧНОГО ЕФЕКТУ МУЛЬТИПРОБІОТИКА СИМБІТЕР У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2-ГО ТИПУ З НЕАЛКОГОЛЬНОЮ ЖИРОВОЮ ХВОРОБОЮ ПЕЧІНКИ

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця МОЗ України

*ННЦ "Інститут біології" Київського національного університету ім. Тараса Шевченка, Київ

**ТОВ "О.Д. Пролісок", Київська область

ВСТУП

Однією з найчастіших причин захворюваності та смерті хворих із неалкогольною жирковою хворобою печінки (НАЖХП) є серцево-судинні захворювання (ССЗ). У популяційному дослідженні (6594 особи контрольної групи та 980 пацієнтів із НАЖХП) у пацієнтів із НАЖХП відзначено більшу загальну та серцево-судинну смертність, надто у віці 45-54 років [1]. У пацієнтів із НАЖХП підвищений серцево-судинний ризик обумовлено низьким рівнем холестерину ліпопротеїнів високої щільності (ХСЛПВЩ), високим рівнем тригліцеридів (ТГ), дрібних щільних частинок ліпопротеїнів низької щільності (ХСЛПНЩ) та апоВ100 [2]. Посилений синтез ТГ, ліпопротеїнів дуже низької щільності (ЛПДНЩ), а також зниження рівня ХСЛПВЩ і збільшення концентрації ЛПНЩ є причинами дисліпідемії цього типу [3].

Кишкову мікрофлору задіяно в обміні холестерину (ХС). Мікрофлора організму-хазяїна бере участь у стеріновому метаболізмі, впливаючи на швидкість і ступінь абсорбції холестерину та його похідних із кишечника, а також на трансформацію ХС і його похідних у жовчні кислоти, неадсорбовані нейтральні стерини та продукти кінцевого обміну стеринів [4, 5]. Безмікробні експериментальні тварини накопичують у 2 рази більше холестерину в крові, ніж тварини зі звичайною мікрофлорою. Останні екскретують з фекаліями більше холестерину, ніж безмікробні тварини, і це дає підставу вважати, що кишкова мікрофлора перешкоджає його всмоктуванню з кишечника [6].

Сьогодні найбільш дослідженими механізмами гіполіпідемічної дії пробіотиків є зв'язування ХС клітинними стінками бактерій і ферментативний розпад жовчних кислот.

У досліджах *in vitro* виявлено, що в процесі свого росту *L. acidophilus* може вилучати ХС зі штучного середовища, яке імітує шлунково-киш-

ковий вміст із додаванням міцельованого ХС. ХС входить до складу мембран мікроорганізмів. Під час розмноження *L. acidophilus* більшість ХС видалається шляхом асиміляції та використовується бактерією для побудови власної мембрани [7].

У дослідженнях *in vitro* Grill J.P. et al. шляхом порівняльного аналізу *Bifidobacterium breve* та *Lactobacillus amilovorius* показали, що клітини обох штамів, що ростуть на поживному середовищі, яке містить бичачу жовч або таурохолеву кислоту, здатні видаляти з нього ХС. Причому для лактобацил цей ефект був пов'язаний як із бактеріальною асиміляцією, так і з преципітацією. Для біфідобактерій виявилася характерною лише преципітація [8].

Здатність до асиміляції ХС залежить від штаму та кількості бактерій в організмі хазяїна [9], рН середовища [10] та стійкості штамів мікроорганізмів до жовчі [11]. Кишкова мікрофлора суттєво впливає на концентрацію ХС у сироватці, оскільки ХС не здатний до абсорбції у кров самостійно.

Основним механізмом, який забезпечує гіпохолестеринемічний ефект пробіотиків, тривалий час вважалась модель асиміляції холестерину. Проте, як показали подальші дослідження, дана модель не враховувала впливу бактерій на декон'югацію жовчних солей і на їх ентеро-гепатичну циркуляцію.

Встановлено, що один із варіантів порушення кишкової мікрофлори – SIBO-синдром (Small Intestinal Bacterial Overgrowth Syndrome), етіопатогенетичним сенсом якого є надмірний бактеріальний ріст анаеробів у тонкій кишці, призводить до ранньої декон'югації жовчних кислот у порожній кишці й утворення їх токсичних ендогенних солей, що збільшує повернення у печінку практично до 100% виділених у просвіт тонкої кишки жовчних кислот [12]. Це призво-

дить до компенсаторного зменшення за принципом зворотного зв'язку синтезу жовчних кислот у гепатоцитах, внаслідок чого підвищується вміст ХС у плазмі крові у зв'язку з відсутністю необхідності заповнювати щоденні фізіологічні втрати (фекальна екскреція) жовчних кислот і холестерину в порушеному циклі ентерогепатичної циркуляції. Виникаюча одночасно з цим нестача жовчних кислот у товстій кишці призводить до прогресування дисбіотичних порушень, бродіння, дисфункції ілеоцекального клапана та, з одного боку, до посилення мікробної контамінації тонкої кишки, а з іншого – до потрапляння у кров підвищеної кількості ендотоксину грамм-негативної мікрофлори, для зв'язування якого використовуються антиатерогенні ЛПВЩ [13].

Метою нашого дослідження була оцінка гіполіпідемічного ефекту мультипробіотика Симбітер у хворих на ЦД-2 із НАЖХП.

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ

Дослідження проводили на базі Київського міського клінічного ендокринологічного центру. Критеріями включення хворих були вік понад 18 років, згода хворого на дослідження, виявлення у хворого НАЖХП, супутній ЦД-2.

Обстежено 72 хворих на ЦД-2. Відповідно до проведеного курсу терапії всіх пацієнтів розподілили на 2 групи. Основну групу склали 45 (62,5%) пацієнтів із НАЖХП і ЦД-2, середній вік хворих – $53,6 \pm 10,1$ року, тривалість ЦД – $6,6 \pm 5,1$ року. Хворі основної групи отримували пероральні цукрознижувальні засоби та мультипробіотик "Симбітер ацидофільний концентрований". Симбітер містить концентровану біомасу 14 штамів пробіотичних бактерій родів *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Propionibacterium*. Хворі приймали пробіотик по 1 пакету (маса 10 г) 1 раз на добу під час або після їди впродовж 30 діб. До групи порівняння увійшли 27 (37,5%) хворих із НАЖХП і ЦД-2, які отримували лише цукрознижувальну терапію. Середній вік хворих даної групи склав $59,6 \pm 10,7$ року, тривалість ЦД – $6,7 \pm 7,1$ року.

Діагноз НАЖХП виставляли згідно з рекомендаціями Американської гастроентерологічної асоціації (AGA) та Американської асоціації з вивчення захворювань печінки (AASLD) [14] на підставі клінічного аналізу захворювання, лабораторних показників ліпідного та вуглеводного обміну, активності АЛТ, АСТ, співвідношення

АСТ/АЛТ і комплексного ехографічного обстеження та комп'ютерної томографії.

Перед початком терапії всім пацієнтам давали рекомендації щодо зміни способу життя: зниження калорійності раціону, обмеження в дієті жирів тваринного походження та вмісту холестерину до 300 мг/добу, цілковите виключення алкоголю та обов'язкове дозоване фізичне навантаження.

В усіх пацієнтів ферментативним методом на аналізаторі "Humareader" (Human, Німеччина) визначали рівні ЗХС, ХСЛПВЩ і ТГ. Вміст ХСЛПНЩ обчислювали за формулою W.T. Friedewald з урахуванням вимірювання показника у ммоль/л:

$$\text{ХСЛПНЩ} = \text{ЗХС} - (\text{ХСЛПВЩ} + \text{ТГ} / 2,22).$$

Концентрацію холестерину у складі ХСЛПДНЩ визначали за показником співвідношення ТГ/2,22. Вміст ХС у складі не-ЛПВЩ обчислювали як різницю між рівнями ЗХС і ХСЛПВЩ або як суму рівнів ХС у складі ЛПДНЩ і ЛПНЩ.

Ефективність застосування пробіотика вважали високою, якщо наприкінці курсу лікування спостерігалось зниження рівнів ЗХС >20%, ХСЛПНЩ >30%, ТГ >20% і підвищення рівня ХСЛПВЩ >10% порівняно з вихідними значеннями. Ефективність лікування вважали помірною, якщо відбувалось зниження вмісту в крові ЗХС на 15-20%, ХСЛПНЩ на 20-30%, ТГ на 10-20% і підвищення концентрації ХСЛПВЩ на 5-10%. Ефективність застосування пробіотика вважали низькою у випадках, коли під впливом лікування спостерігалось зниження рівнів ЗХС <15%, ХСЛПНЩ <20%, ТГ <10% і підвищення вмісту ХС у складі ЛПВЩ менше, ніж на 5%.

Статистичний аналіз виконували за допомогою стандартного пакета програм SPSS версії 20.0 і Microsoft Excel. Кількісні зміни наведено у вигляді середньої величини та стандартного відхилення середньої величини ($M \pm SD$), якісні – у відсотках. Для оцінки різниці кількісних показників використовували t-критерій Стьюдента, якісний критерій χ^2 . Відмінності між групами вважали статистично вірогідними за $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

У переважної більшості обстежених знайдено порушення ліпідного обміну. Гіперхолестеринемію понад 6,1 ммоль/л виявлено перед початком лікування у 31 (68,9%) хворого основної групи, а після курсу пробіотикотерапії – лише у 24 (53,3%) ($p=0,130$). Проте досягти цільово-

го рівня ЗХС ($<4,5$ ммоль/л), рекомендованого хворим із ЦД-2 для профілактики серцево-судинних захворювань, вдалось лише у 2 (4,4%) пацієнтів. Ми спостерігали статистично вірогідне зниження рівня ЗХС на 4,8% ($p=0,001$) у плазмі крові хворих основної групи, що, згідно з обраними нами кількісними критеріями ефективності лікування, свідчить про низький гіполіпідемічний ефект пробіотика Симбітер (рис. 1Б). У групі порівняння ми спостерігали лише тенденцію до зниження рівня ЗХС. Перед початком лікування його рівень склав $5,88 \pm 0,86$ ммоль/л і знизився через 1 міс. до $5,77 \pm 0,74$ ммоль/л ($p=0,180$). Гіперхолестеринемію виявлено у 24 (53,3%) пацієнтів групи порівняння перед початком і після лікування.

Дослідження останніх років виявили, що, поряд із гіперхолестеринемією, ціла низка інших порушень ліпідного спектра також є чинниками ризику виникнення ІХС та атеросклерозу. Серед них гіпертригліцеридемія та низький рівень ЛПВЩ у плазмі крові. Головна особливість чинників ризику полягає в тому, що вони підсилюють дію один одного, тобто за наявності двох чинників ризику ймовірність розвитку атеросклерозу збільшується не у 2, а у 3 і більше разів. Відповідно будь-яка стратегія профілактики передбачає комплексний вплив на всі чинники ризику, наявні у хворого.

Гіпертригліцеридемія часто поєднується з іншими чинниками ризику ССЗ, і таке поєднання також може потенціювати ранній початок хвороби. Перелік цих чинників включає метаболічний синдром, ЦД-2, НАЖХП, артеріальну гіпертензію, низьку фізичну активність, ожиріння, недостатнє споживання фруктів та овочів тощо. Рівні ТГ $>1,7$ ммоль/л вважають маркером збільшеного серцево-судинного ризику, проте концентрація ТГ $<1,7$ ммоль/л не розглядається як цільовий рівень терапії.

Згідно з нашими даними, гіпертригліцеридемію ($\geq 1,7$ ммоль/л) виявлено у 23 (85,2%) хворих групи порівняння та у 37 (82,2%) пацієнтів основної групи. У динаміці лікування частота виявлення підвищеного рівня ТГ не змінилася в обох групах. Проте варто відзначити, що у пацієнтів основної групи після курсу пробіотикотерапії статистично вірогідно знизилася на 10,6% ($p=0,010$) концентрація ТГ у плазмі крові, що свідчить про помірний гіполіпідемічний ефект препарату. У групі порівняння ми виявили лише тенденцію до зниження рівня ТГ. Їх концентра-

ція перед початком і через 1 міс. після терапії відповідно склала $2,48 \pm 0,72$ ммоль/л і $2,36 \pm 0,67$ ммоль/л ($p=0,361$) (рис. 1А).

Механізми, за якими гіпертригліцеридемія асоціюється з ризиком розвитку атеросклерозу, продовжують обговорюватись клініцистами. Проте основним вважається, що деякі багаті на ТГ ліпопротеїни можуть проникати у стінку артерії, подібно до ЛПВЩ, де згодом накопичуються, справляючи атерогенну дію. Це стосується маленьких частинок ХСЛПДНЩ і ХСЛПНЩ. Активний синтез ЛПДНЩ печінкою починає стимулюватися за концентрації ТГ $2,26$ ммоль/л і вище.

За нашими даними, паралельно з гіпертригліцеридемією спостерігається прямо пропорційне підвищення основної їх транспортної форми у крові – ЛПДНЩ. Проте в динаміці лікування статистично вірогідне зниження їх концентрації на 9,4% ($p=0,019$) виявлено лише у хворих, які отримували Симбітер. У групі порівняння ми відзначили лише тенденцію до їх зниження. Перед початком лікування рівень ЛПДНЩ склав $1,11 \pm 0,32$ ммоль/л, а після – $1,06 \pm 0,30$ ммоль/л ($p=0,358$) (рис. 1В).

Для хворих із НАЖХП характерні як кількісні, так і якісні зміни у фракціях ЛПВЩ. Ми виявили зниження рівня ЛПВЩ нижче від 1,0 для чоловіків і 1,3 для жінок у 14 (31,1%) хворих основної групи та у 12 (44,4%) осіб групи порівняння. У динаміці лікування в обох групах частота виявлення зниженого рівня ХСЛПВЩ не змінилася. Проте в основній групі ми спостерігали тенденцію до підвищення рівня даного класу антиатерогенних ліпопротеїнів із $1,32 \pm 0,23$ ммоль/л до $1,38 \pm 0,22$ ммоль/л ($p=0,085$), а у групі порівняння концентрація ЛПВЩ у динаміці лікування знизилася: перед початком лікування вона становила $1,33 \pm 0,28$ ммоль/л, після – $1,31 \pm 0,28$ ммоль/л ($p=0,776$) (рис. 1Г).

Згідно з нашими даними, підвищення ЗХ спостерігалось в основному за рахунок найбільш проатерогенної фракції – ЛПНЩ. В основній групі хворих концентрація цих ліпопротеїнів перед початком лікування склала $3,75 \pm 0,77$ ммоль/л, а після курсу пробіотикотерапії їх рівень статистично вірогідно знизився на 7,2% ($p=0,003$), що свідчить про низький гіполіпідемічний ефект препарату. За рекомендаціями Європейського товариства кардіологів (ESC) та Європейського товариства з атеросклерозу (EAS) із ведення хворих із дисліпідеміями (2011 р.), в усіх пацієнтів із ЦД-2 головною метою є досягнення

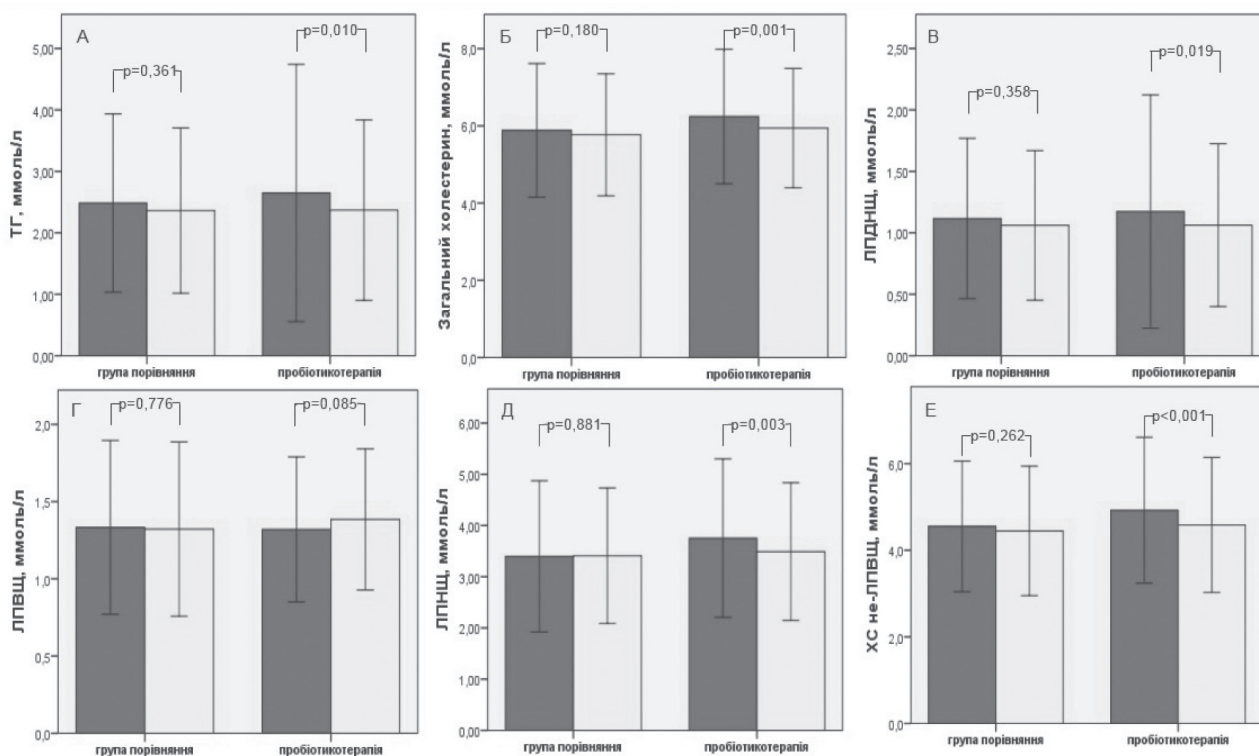


Рис. 1. Динаміка показників ліпідограми на тлі лікування у хворих на ЦД-2 із НАЖХП.

цільового рівня ХСЛПНЦ <2,5ммоль/л (клас рекомендацій I; рівень доказовості B) [15]. У нашому дослідженні цільові значення вмісту ЛПНЦ спостерігались у 2 (4,4%) хворих основної групи перед початком лікування та у 6 (13,3%) після пробіотикотерапії ($p=0,138$), а у групі порівняння – у 2 (7,4%) хворих перед початком і після лікування. Також ми виявили тенденцію до підвищення рівня ЛПНЦ у групі порівняння з $3,39 \pm 0,73$ ммоль/л до $3,40 \pm 0,66$ ммоль/л ($p=0,881$) (рис. 1Д).

Вторинною метою, згідно з рекомендаціями ESC/EAS, для хворих із ЦД-2 є досягнення рівнів ХС не-ЛПВЩ <3,3ммоль/л (клас рекомендацій I; рівень доказовості B). Цільового значення ХС не-ЛПВЩ вдалося досягти у 2 (4,4%) хворих групи порівняння та у 4 (8,9%) пацієнтів, яким проводили курс пробіотикотерапії. Ми відзначили статистично вірогідне зниження на 6,91% ($p<0,001$) рівня ХС не-ЛПВЩ у динаміці лікування у хворих основної групи та тенденцію до зниження з $4,55 \pm 0,75$ ммоль/л до $4,44 \pm 0,74$ ммоль/л ($p=0,262$) у групі порівняння (рис. 1Е).

ВИСНОВКИ

1. Мультипробіотик Симбітер, за тривалості застосування 1 міс., довів гіполіпідемічну ефек-

тивність: відзначено зниження рівня ЗХС на 4,8% ($p=0,001$), ХС не-ЛПВЩ на 6,9% ($p>0,001$) і ХСЛПНЦ на 7,2% ($p=0,003$).

2. Здатність знижувати рівень ТГ на 10,6% ($p=0,010$) свідчить про помірну гіполіпідемічну ефективність пробіотика. У рівнях ХСЛПВЩ нами не виявлено статистично вірогідної різниці в динаміці лікування ($p=0,085$).

3. Мультипробіотик Симбітер справляє помірну гіполіпідемічну дію і може використовуватись у комплексній терапії цукрового діабету 2-го типу та НАЖХП.

ЛІТЕРАТУРА

1. Dunn W., Xu R., Wingard D.L. et al. Suspected nonalcoholic fatty liver disease and mortality risk in a population-based cohort study // Am. J. Gastroenterol. – 2008. – Vol. 103. – P. 2263-2271.
2. Tacer F.K., Rozman D. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Focus on Lipoprotein and Lipid Deregulation // Journal of Lipids. – Vol. 2011. – P. 1-14.
3. Targher G., Arcaro G. Non-alcoholic fatty liver disease and increased risk of cardiovascular disease // Atherosclerosis. – 2007. – Vol. 191. – P. 235-240.
4. Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. Том II: Социально-экологические и клинические последствия дисбаланса микробной экологии чело-

- века и животных. – М.: Издательство ГРАНТЪ, 1998. – 416 с.
5. Янковський Д.С., Дымент Г.С. Микрофлора и здоровье человека. К.: ТОВ "Червона Рута-Турс". – 2008. – 502 с.
 6. Gilliland S.E. Health and nutritional benefits from lactic acid bacteria. // FEMS Microbiology Reviews. – 1990. – №7. – P. 175-188.
 7. Gilliland S.E., Nelson C.R., Maxwell C. Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. // Appl. Environ. Microbiol. – 1985. – Vol. 49, №2. – P. 377-381.
 8. Grill J.P., Cayuela C., Antoine J.M., Schneider F. Effects of *Lactobacillus amylovorus* and *Bifidobacterium breve* on cholesterol // Lett. Appl. Microbiol. – 2000. – Vol. 31, №2. – P. 154-156.
 9. Drisko J.A., Giles C.K., Bischoff B.J. Probiotics in health maintenance and disease prevention. // Altern. Med. Revs. – 2003. – Vol. 8, №2. – P. 143-155.
 10. Nielson J.W., Gilliland S.E. Variation in cholesterol assimilation by individual strains of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* from human intestines. // J. Dairy Sci. – 1985. – Vol. 68 (Suppl. 1). – P. 83.
 11. Tannock G.W. Microbiology of gastrointestinal tract in relation to lactic acid bacteria // Int. Dairy J. – 1995. – № 5. – P. 1059-1070.
 12. Fukushima K., Shindp K., Yamazaki R. et al. Jejunal bacterial flora and deconjugation of bile acids // Int. J. Food Microbiol. – 1998. – Vol. 40, № 1-2. – P. 39-44.
 13. Савельев В.С., Петухов В.А., Магомедов М.С. Липидный дистресс-синдром: руководство для врачей // М.: МАКС Пресс. – 2007. – 440 с.
 14. Chalasani N., Younossi Z., Lavine J. et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association // Hepatology. – 2012. – Vol. 55, №6. – P. 2005-2023.
 15. Reiner Z., Catapano A.L., De Backer G. et al. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: the Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS) // Eur. Heart J. – 2011. – Vol. 32, №14. – P. 1769-1818.

РЕЗЮМЕ

Оценка гиполипидемического эффекта мультипробиотика Симбитер у больных сахарным диабетом 2-го типа и неалкогольной жировой болезнью печени

Г.П. Михальчишин, П.Н. Боднар, Д.С. Янковский, Т.В. Береговая, Н.Н. Кобыляк

Обследованы 72 пациента с СД2 и НАЖБП. Больные основной группы (n=45) получали пероральные сахароснижающие средства и мультипробиотик Симбитер в течение 30 дней. Пациенты группы сравнения (n=27) получали только сахароснижающую терапию. Всем больным проводили определение показателей липидного обмена до и после лечения. Под влиянием мультипробиотика Симбитер наблюдалось снижение уровня ОХС на 4,8% (p=0,001), ХС не-ЛПВП на 6,9% (p>0,001), ХСЛПНП на 7,2% (p=0,003) и ТГ на 10,6% (p=0,010). Уровень ХСЛПВП достоверно не изменился в динамике лечения (p=0,085). В группе сравнения достоверных изменений в показателях липидограммы после курса лечения мы не обнаружили.

Ключевые слова: сахарный диабет 2-го типа, неалкогольная жировая болезнь печени, липидный обмен, пробиотики, лечение.

SUMMARY

Effect of probiotics on clinical, biochemical and instrumental parameters of nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes

G. Mykhalchyshyn, P. Bodnar, D. Yankovskyi, T. Beregova, N. Kobylak

We examined 72 patients with T2D and NAFLD. All patients were divided into 2 groups. The main group (n=45) received oral antidiabetic therapy and multiprobiotic "Symbiter" within 30 days. Patients of comparison group (n=27) received only hypoglycemic drugs. All patients underwent determination of lipid parameters before and after treatment. We observed reduction in total cholesterol level on 4.8% (p=0.001), non-HDL-C on 6.9% (p<0.001), LDL-C on 7.2% (p=0.003) and triglycerides on 10.6% (p = 0.010) after the course of multiprobiotic "Symbiter". Significant changes on HDL-C level (p=0.085) in main group and for all lipid parameters on the comparison group after treatment were not found.

Key words: diabetes mellitus type 2, nonalcoholic fatty liver disease, lipid metabolism, probiotics treatment.

Дата надходження до редакції 23.12.2012 р.