

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ
ДУ «НАЦІОНАЛЬНИЙ ІНСТИТУТ ТЕРАПІЇ ІМЕНІ Л.Т. МАЛОЇ
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ»

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

ЧЕРЕЛЮК НАТАЛІЯ ІГОРІВНА

УДК 616.36-003.826-07:616-056.52: 616.4-008.87:579.25

ДИСЕРТАЦІЯ

ОПТИМІЗАЦІЯ РАННЬОЇ ДІАГНОСТИКИ НЕАЛКОГОЛЬНОЇ ЖИРОВОЇ
ХВОРОБИ ПЕЧІНКИ НА ТЛІ ОЖИРІННЯ
ТА НАДЛИШКОВОЇ ВАГИ З УРАХУВАННЯМ ОСНОВНИХ ФІЛОТИПІВ
КИШКОВОЇ МІКРОБІОТИ ТА МАРКЕРІВ ЗАПАЛЕННЯ

222 Медицина

22 Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії (PhD)

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ Н. І. Черелюк

Науковий керівник: Фадєєнко Галина Дмитрівна

член-кореспондент НАМН України, доктор медичних наук, професор

Харків – 2021

АНОТАЦІЯ

Черелюк Н. І. «Оптимізація ранньої діагностики неалкогольної жирової хвороби печінки на тлі ожиріння та надлишкової ваги з урахуванням основних філотипів кишкової мікробіоти та маркерів запалення». - Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук (доктора філософії) за спеціальністю 14.01.02 - внутрішні хвороби. – Державна установа «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої Національної академії медичних наук України», Харків, 2021.

Захист відбудеться у спеціалізованій вченій раді Державної установи «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої Національної академії медичних наук України», Харків, 2022.

Дисертаційна робота присвячена вивченню діагностичних можливостей неінвазивних біомаркерів у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки (НАЖХП) на тлі ожиріння та надлишкової ваги та розробці на основі отриманих даних діагностичного алгоритму ранньої діагностики фіброзу.

У даній дисертаційній роботі вивчено можливість використання неінвазивних показників – відносного складу основних філотипів кишкової мікробіоти (КМ), сироваткової концентрації прозапальних маркерів високочутливого С-реактивного протеїну (вчСРП), фактору некрозу пухлини альфа (ФНП-альфа), рівнів мікроРНК-122 та мікроРНК-34а для діагностики раннього фіброзу у хворих на НАЖХП в залежності від індексу маси тіла (ІМТ).

На тлі стійкої тенденції до збільшення поширеності серед населення надлишкової маси тіла та вісцерального ожиріння відзначається зростання захворюваності на НАЖХП, яка стає однією з найпоширеніших причин захворювань печінки в усьому світі та в Україні зокрема [1]. Збільшення розповсюдженості НАЖХП сприяє значному зростанню кількості

ускладнень, таких як: гепатоцелюлярна карцинома та печінкова недостатність, що призводить до збільшення показників смертності та госпіталізації пацієнтів із ускладненнями цирозу [2, 3].

Ключовим питанням у веденні хворих на НАЖХП є своєчасна діагностика фіброзу на ранній стадії, тому що саме стадія фіброзу є найважливішим фактором, який корелює з перебігом захворювання як у зворотний бік, так і в бік прогресування зі збільшенням смертності в даній групі хворих.

Невирішеним залишається питання визначення тих пацієнтів, які потребують ретельнішого спостереження, цілеспрямованих заходів щодо корекції способу життя, лікування компонентів метаболічного синдрому та у разі потреби медикаментозного лікування [3].

Відповідно до сучасних уявлень про патогенетичні ланки розвитку НАЖХП, які узагальнює теорія «множинних ударів», одним із важливих механізмів, що сприяють розвитку жирової дистрофії печінки, прогресуванню прозапальних змін та фіброгенезу, є порушення КМ [4]. Зокрема, дослідження, проведене Raman et al. [5], продемонструвало, що у хворих на НАЖХП та супутнє ожиріння порівняно з хворими без ожиріння спостерігається зростання бактерій філотипу *Firmicutes*. З іншого боку результати, отримані Jiang et al. [6], показали відсутність статистично значущих змін складу КМ у хворих на НАЖХП порівняно з групою контролю. У свою чергу у роботі Jasirwan S.O.M. et al. [7] було виявлено превалювання бактеріального пулу *Firmicutes* порівняно із *Bacteroidetes* на рівні філотипу, проте на рівні роду кількість бактерій *Bacteroides* (14.43 %) перевищувала *Prevotella* (9.14 %), підкреслюючи, що *Bacteroides* домінували над іншими родами філотипу *Firmicutes* [7].

Слід зазначити, що більшість досліджень надходили з азіатського регіону. Зокрема, Rahayu et al. [8] визначав особливості мікробного профілю молодих мешканців Індонезії й показав збільшення мікробних представників родів *Clostridium*, *Prevotella*, *Atopobium*, *Bifidobacterium* та *Bacteroides*. Дані

результати відповідають також іншим роботам, проведеним у даному регіоні, але суперечать дослідженню, уже проведеному в міському регіоні Джакарти, харчування в якому характеризується високим вмістом білка та жирів тваринного походження [9]. Подібні результати підкреслюють роль географічного регіону та особливості локального харчування у формуванні профілю КМ та асоційованих захворювань, зокрема НАЖХП та ожиріння.

Зі свого боку дослідження в українській популяції обмежені. Низка досліджень виявила більшу розповсюдженість синдрому надмірного бактеріального росту у хворих на НАЖХП [10, 11], але вони обмежувались педіатричною популяцією або не визначали основні філотипи КМ. У 2017 році Коляда О. у своєму дослідженні, присвяченому визначенню основних філотипів КМ у хворих на ожиріння [12], показав прогресивне збільшення відносного вмісту *Firmicutes* на тлі зниження кількості філотипу *Bacteroidetes* у міру збільшення ІМТ. Також при зростанні ІМТ спостерігалось збільшення співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes* (ВШ = 1.23, 95 % ДІ 1,09–1,38), яке було вірогідним навіть після поправки на вік, стать, куріння та фізичну активність (ВШ = 1.33, 95% ДІ 1,11–1,60). Відносний вміст *Actinobacteria* залишався низьким у всіх групах ІМТ.

Отже, попри наявні дослідження, присвячені визначенню ролі КМ, а саме її основних філотипів: *Firmicutes* та *Bacteroidetes*, у розвитку НАЖХП та ожиріння, їх результати є суперечливими та потребують уточнення, особливо в українській популяції. Залишається невизначеним патофізіологічний каскад прозапальних та профібротичних змін, який поєднує зміни КМ та традиційні чинники НАЖХП і який може залучати порушення регуляторних молекул – мікроРНК-122 та -34a.

У наш час актуальною є розробка алгоритму ранньої діагностики фіброзу у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги, з урахуванням економічно ефективних і відтворюваних неінвазивних методів.

Таким чином, мета роботи – оптимізація ранньої діагностики фіброзу у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги шляхом вивчення

особливостей співвідношення філотипів *Firmicutes/Bacteroidetes* КМ, молекулярно-генетичних чинників: мікроРНК-122, мікроРНК-34а, а також прозапальних маркерів: вчСРП та ФНП-альфа.

Для досягнення запланованої мети було обстежено 140 пацієнтів, серед яких основну групу склали 120 хворих на НАЖХП (в усіх хворих було виключено інші фактори розвитку вторинного стеатозу печінки) на тлі ожиріння I–III ступенів ($\text{ІМТ} \geq 30,0\text{--}39,9 \text{ кг/м}^2$) або надлишкової ваги ($\text{ІМТ} \geq 25,0\text{--}29,9 \text{ кг/м}^2$): 59 чоловіків (49,2 %) та 61 (50,8 %) жінку. Медіана та інтерквартильний розмах віку хворих на НАЖХП в основній групі склали 48,5 [40,00; 59,00] років. Групи мали реципрокний розподіл за віком та статтю ($p > 0,05$).

У контрольну групу увійшли 20 практично здорових добровольців із нормальною масою тіла ($\text{ІМТ} 18,5\text{--}24,9 \text{ кг/м}^2$) без клінічно значущих порушень з боку системи органів травлення та ознак стеатозу печінки: 8 чоловіків (40 %) та 12 жінок (60 %). Медіана та інтерквартильний розмах віку обстежених склали 46,30 [35,00; 56,00] років.

Пацієнти основної групи ($n = 120$) були розділені на дві підгрупи в залежності від ІМТ. У I підгрупу увійшли хворі на НАЖХП із супутнім ожирінням (I–III ступенів), що за кількістю склало 85 хворих (70,83 % від усіх обстежених), а до II підгрупи було включено 35 хворих на НАЖХП та надлишкову вагу (29,17 % від усіх обстежених).

Відповідно до схеми дослідження проведений аналіз суб'єктивних скарг хворих на НАЖХП показав, що більш виражена клінічна симптоматика спостерігалась у хворих на НАЖХП на тлі супутнього ожиріння, ніж у хворих із надлишковою вагою. У хворих I підгрупи найбільш частими суб'єктивними скаргами були зниження толерантності до фізичних навантажень (80 %), важкість у правому підребер'ї (72 %) та астеничний синдром (64 %). У свою чергу при наявності надлишкової ваги вищезгадані прояви зустрічались із меншою частотою (23 %, 34 % та 23 %, відповідно, $p < 0,05$).

Потрібно зауважити, що для досліджуваних хворих на НАЖХП не була характерна нудота. Так, у I підгрупі скарги на нудоту були виявлені лише в 11 %, а в II були відсутні зовсім та мали статистично значущий характер (КХП, $\chi^2 = 4,006359$, $df = 1$, $p < 0,45$). Періодичний біль у правому підребер'ї спостерігався в 25 % хворих I підгрупи, у той час для хворих II підгрупи це було зовсім не характерно (КХП, $\chi^2 = 7,90446$, $df = 1$, $p < 0,01$). Прояви диспепсичного синдрому склали 39 % в I підгрупі та 43 % в II, гіркота в роті спостерігалась у 18 % у I підгрупі та 6 % у II підгрупі.

Під час аналізування антропометричних показників у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння спостерігались вірогідні ($p < 0,01$) зміни: збільшення ІМТ у 1,55 рази, об'єм талії (ОТ) – у 1,56 разів, об'єм стегон (ОС) – у 1,21 разів, ОТ/ОС – у 1,28 разів та складу тіла – зростання % жирової тканини (ЖТ) у 1,43 рази, % вісцерального жиру (ВЖ) – у 4,75 разів на тлі зниження % скелетної мускулатури (СкМ) у 1,19 разів, що свідчить про переважання абдомінального типу розподілу ЖТ.

Дана тенденція спостерігалась і у хворих на НАЖХП та надлишкову вагу ($p < 0,01$): збільшення ІМТ у 1,19 рази, ОТ у 1,32 рази, ОС у 1,09 рази ($p < 0,01$) та ОТ/ОС у 1,21 рази ($p < 0,01$) та складу тіла – зростання % ЖТ у 1,04 рази, % ВЖ – у 3 разів на тлі зниження % СкМ у 1,06 разів.

Під час аналізування біохімічних показників виявлено формування резистентності до інсуліну: зростання концентрації інсуліну – у 1,83 рази у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та у 1,52 рази у хворих на НАЖХП та надлишкову вагу, індексу НОМА – у 2,17 рази у I підгрупі та у 1,62 рази у II підгрупі. Крім того, зміни метаболічного профілю хворих на НАЖХП супроводжувались порушеннями ліпідного обміну: збільшенням сироваткової концентрації холестерину ліпопротеїдів низької щільності (ХС ЛПНЩ) у 1,80 рази у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та у 1,65 рази у хворих на НАЖХП та надлишкову вагу, а також більш вираженими змінами функціонального стану печінки: у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння концентрація аспартатамінотрансферази (АСТ) підвищувалась у 1,15 рази,

аланінамінотрансферази (АЛТ) – у 1,66 рази, а гамаглутамілтранспептидази (ГГТП) – у 1,3 рази, тоді як у хворих на НАЖХП та надлишкову вагу підвищувалася лише концентрація АЛТ у 1,2 рази.

Зміни складу КМ у хворих на НАЖХП характеризувались підвищенням відносного вмісту *Firmicutes*: даний показник у хворих із супутнім ожирінням збільшувався у 1,78 рази та надлишковою вагою – у 1,72 рази. Кореляційний аналіз показав, що відносний вміст *Firmicutes* зростає відповідно до % ВЖ ($r = +0,74$, $p = 0,01$ та $r = +0,70$, $p = 0,01$, відповідно) та % СКМ (у хворих із надлишковою вагою $r = -0,47$, $p = 0,03$). Крім того, у хворих на НАЖХП було визначено зниження відносного вмісту *Bacteroidetes*: у хворих із супутнім ожирінням на 53,91 % і надлишковою вагою – на 45,66 %, що корелювало з % ВЖ ($r = -0,48$, $p = 0,01$ та $r = -0,49$, $p = 0,003$, відповідно). Розрахунковий показник співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes* також збільшувався у хворих на НАЖХП у 5,7 разів при наявності супутнього ожиріння, а у хворих із надлишковою вагою – у 4,3 рази. Найбільш значущі зміни КМ були асоційовані з особливостями клінічного перебігу НАЖХП: збільшення *Firmicutes* було виявлено при формуванні суб'єктивних скарг на порушення дефекації ($N = 6,66$, $p < 0,01$;) і диспепсичні явища ($N = 4,80$, $p = 0,028$); зменшення відносного вмісту *Bacteroidetes* на тлі збільшення співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes* – при порушеннях дефекації ($N = 10,58$; $p < 0,01$ та $N = 26,91$; $p < 0,01$, відповідно).

Дослідження прозапальних та профібротичних маркерів у хворих на НАЖХП виявило підвищення рівня мікроРНК-122 при наявності надлишкової ваги у 40 разів ($p < 0,01$), а при супутньому ожирінні – у 39,09 разів ($p < 0,01$), які залежали від стадії фіброзу ($N = 6,16$; $p = 0,46$); збільшення рівня мікроРНК-34а у 6,20 рази та у 6,40 рази, відповідно ($p < 0,01$); вчСРП – у 3,23 та 4,87 рази, відповідно ($p < 0,01$). Збільшення рівня мікроРНК-122 було асоційоване з особливостями клінічної симптоматики – суб'єктивним відчуттям зниженням толерантності до фізичних навантажень

(за критерієм Манна-Уїтні; $U = 364,50$; $p < 0,01$), болем та важкістю у правому підребер'ї ($U = 355,00$; $p < 0,01$; та $U = 509,50$; $p = 0,029$, відповідно), концентрацією загального білірубіну ($r = +0,27$; $p = 0,0136$) та його фракцій – прямим та непрямим білірубіном ($r = +0,23$; $p = 0,0358$ та $r = +0,24$; $p = 0,0170$, відповідно); а також із ультрасонографічними розмірами печінки, а саме товщиною лівої долі ($r = +0,27$; $p = 0,0120$). У хворих на НАЖХП на тлі ожиріння збільшення рівня мікроРНК-34а пов'язане зі зниженням толерантності до фізичних навантажень ($U = 288,00$; $p < 0,01$), болем у правому підребер'ї ($U = 416,00$; $p < 0,01$, відповідно), а також надмірним розвитком % ЖТ ($r = +0,37$; $p = 0,02$).

У хворих на НАЖХП зміни прозапальних та профібротичних маркерів були асоційовані зі змінами КМ: мікроРНК-122 зі співвідношенням *Firmicutes/Bacteroidetes* (у хворих із супутнім ожирінням $r = 0,27$; $p = 0,0117$ та надлишковою вагою $r = 0,56$; $p = 0,0003$) та *Bacteroidetes* (у хворих із надлишковою вагою $r = -0,34$; $p = 0,043$); мікроРНК-34а корелювало із *Bacteroidetes* (у хворих із надлишковою вагою $r = -0,44$; $p = 0,0086$) та співвідношенням *Firmicutes/Bacteroidetes* ($r = 0,38$; $p = 0,0231$).

Визначено додаткові діагностичні маркери – % ВЖ, сироваткові концентрації прозапальних маркерів вчСРП та ФНП-альфа, рівнів мікроРНК-122 та -34а в плазмі крові, а також співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes*. За допомогою використання методу характеристичних кривих для кожного з діагностичних критеріїв були розраховані їхні cut-off value, які для сироваткової концентрації вчСРП складала – 4,5 мг/л (AUC = 0,99, чутливість 1,00, специфічність 0,030; $p < 0,05$); для сироваткової концентрації ФНП-альфа – 5,5 пг/мл (AUC = 0,97, чутливість 0,98, специфічність 0,025; $p < 0,05$); для рівня мікроРНК-122 – 12,50 в.о. (AUC = 0,99, чутливість 0,98, специфічність 0,048; $p < 0,05$); для рівня мікроРНК-34а – 5,50 в.о. (AUC = 0,98, чутливість 0,98, специфічність 0,106; $p < 0,05$); для % ВЖ складала 8,5 % (AUC = 0,99, чутливість 1,00, специфічність 0,175; $p < 0,05$); для співвідношення основних філотипів КМ

Firmicutes/Bacteroidetes – 1,51 (AUC = 0,95, чутливість 0,83, специфічність 0,021; $p < 0,05$).

На підставі визначених маркерів створений алгоритм ранньої діагностики фіброзу у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової маси тіла, який складається з 4 поступових етапів. Для кожного з них виділена низка значущих діагностичних факторів та наведені значення їхніх cut-off value. Етап I включає інтерв'ювання хворого з ознаками гепатопатії за даними ультразвукової діагностики (УЗД) з метою визначення скарг та анамнестичних даних для виключення етіологічних факторів вторинної жирової дистрофії печінки та обов'язкове об'єктивне обстеження з перкусійним/пальпаторним визначенням розмірів печінки, а також антропометричних показників та складу тіла за даними біоімпедансометрії: % ВЖ. На II етапі хворому рекомендовано визначення маркерів цитолізу, а саме АЛТ та ГГТП. Етап III включає визначення метаболічних та прозапальних параметрів: індексу НОМА; загального холестерину (ЗХС) та ХС ЛПНЩ; вчСРП та ФНП-альфа. Завершальний IV етап включає оцінку генетичних та біологічних чинників: визначення основних філотипів КМ та рівня мікроРНК-122 та мікроРНК-34а.

Використання алгоритму дозволяє шляхом поетапного обстеження провести скринінг хворих на НАЖХП та тлі ожиріння і надлишкової ваги, а також визначити хворих із фіброзом, навіть на ранніх стадіях, своєчасно призначити ефективні схеми лікування, які включають корекцію образу життя та медикаментозну інтервенцію, запобігти прогресуванню захворювання та розвитку ускладнень, що асоційовані з покращенням соціоекономічних наслідків.

Вперше в українській популяції визначені особливості складу КМ у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги, виявлений зв'язок між відносним вмістом КМ та іншими прозапальними й профібротичними маркерами, зокрема рівнем мікроРНК-122 та -34а в плазмі крові, доведена доцільність їх використання в діагностичних цілях, що обґрунтовує їхню

практичну значущість та розроблено алгоритм ранньої діагностики фіброзу для даної групи хворих.

Ключові слова: неалкогольна жирова хвороба печінки, фіброз, кишкова мікробіота, мікроРНК-122, мікроРНК-34а.

ABSTRACT

Chereliuk N.I. "Optimization of early diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease on the background of obesity and overweight, taking into account the main phylotypes of gut microbiota and markers of inflammation".

The thesis for a scientific degree of the candidate of medical sciences (doctor of philosophy) on a specialty 14.01.02 – internal diseases. – Government Institution «L. T. Malaya Therapy National Institute of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine» 2021.

Defence of a thesis will take place in the specialized scientific council of the Government Institution «L. T. Malaya Therapy National Institute of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv, 2022.

The work is devoted to the study of diagnostic possibilities of non-invasive biomarkers in patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) on the background of obesity and overweight and development based on the obtained data of the diagnostic algorithm for early diagnosis of fibrosis.

In this paper, the possibility of using non-invasive indicators – the relative composition of the main phylotypes of gut microbiota (GM), serum concentrations of pro-inflammatory markers highly sensitive C-reactive protein (CRP), tumour necrosis factor alpha (TNF-alpha), levels of microRNA-122 (miR-122) and microRNA-34a (miR-34a) for the diagnosis of early fibrosis in patients with NAFLD depending on body mass index (BMI).

Against the background of the steady trend of increasing prevalence of overweight and visceral obesity, there is the increase in the incidence of NAFLD, which is becoming one of the most common causes of liver disease worldwide and in Ukraine in particular (Fadieienko G., Gridnyev O., Kushnir I., 2021). The increase in the prevalence of NAFLD contributes to the significant increase in complications such as hepatocellular carcinoma and hepatic failure, leading to increased mortality and hospitalization of patients with cirrhosis complications (Kumar R, Priyadarshi RN, Anand U., 2020).

The key issue in the management of patients with NAFLD is the timely diagnosis of fibrosis at the early stage, because the stage of fibrosis is the most important factor that correlates with the course of the disease both in the reverse direction and in the direction of progression with an increase in mortality in this group of patients.

The issue of identifying those patients who require closer monitoring, targeted lifestyle adjustments, treatment of components of the metabolic syndrome and, if necessary, medical treatment remains unresolved (Idalsoaga F, Kulkarni AV, Mousa OY, Arrese M, Arab JP, 2020).

According to modern ideas about the pathogenetic links in the development of NAFLD, which are generalized by the theory of "multiple strokes", one of the important mechanisms contributing to the development of fatty liver disease, progression of pro-inflammatory changes and fibrogenesis is a disorder in GM (Aron-Wisnewsky J, Vigliotti C, Witjes J, Le P, Holleboom AG, Verheij J., 2020). In particular, the research by Raman et al., showed that in patients with NAFLD and concomitant obesity in comparison with non-obese patients there is an increase in bacteria of Firmicutes phylotype (Raman M, Ahmed I, Gillevet PM, Probert CS. 2013). On the other hand, the results obtained by Jiang et al., showed the absence of statistically significant changes in the composition of GM in patients with NAFLD compared with the control group (Jiang W, Wu N, Wang X, Chi Y, Zhang Y, Qiu X, 2015). But in the paper of Jasirwan COM et al. the prevalence of the bacterial pool of Firmicutes compared to *Bacteroidetes* was found at the phylotype level, but at the genus level the number of *Bacteroides* bacteria (14.43 %) exceeded *Prevotella* (9.14 %), emphasizing that *Bacteroides* dominated other genera of *Firmicutes* phylotype (Jasirwan COM, Muradi A, Hasan I, Simadibrata M, Rinaldi I., 2021).

It should be noted that most of the researches came from the Asian region. In particular, Rahayu *et al.* determined the features of the microbial profile of young Indonesians and showed the increase in microbial representatives of the genera *Clostridium*, *Prevotella*, *Atopobium*, *Bifidobacterium* and *Bacteroides* (Rahayu ES,

Utami T, Mariyatun M, Hasan PN, Kamil RZ, Setyawan RH., 2019). These results are consistent with other studies in the region, but are in conflict with the study conducted in Jakarta's urban region, which has the food high in protein and animal fats. Such results emphasize the role of the geographical region and the peculiarities of local nutrition in the formation of the profile of GM and associated diseases, including NAFLD and obesity.

In turn, research in Ukrainian population is limited. A number of studies have found the higher prevalence of bacterial overgrowth syndrome in patients with NAFLD, but were limited to the paediatric population, or did not determine the main phylotypes of GM (Stepanov YM, Zavorodnia NY, Yagmur VB, Lukianenko OY, Zygalo EV. 2019). In 2017, Koliada O. in his study on the determination of the main phylotypes of GM in obese patients, showed the progressive increase in the relative content of *Firmicutes* against the background of the decrease in the number of *Bacteroidetes* phylotype with increasing BMI (Koliada A, Syzenko G, Moseiko V, Budovska L. 2017). Also, with increasing BMI, there was the increase in the *Firmicutes/Bacteroidetes* ratio (OR = 1.23, 95 % CI 1.09–1.38), which was likely even after adjusting for age, sex, smoking and physical activity (OR = 1.33, 95 % CI 1.11–1.60). The relative content of *Actinobacteria* remained low in all BMI groups.

Thus, despite the available research on the role of GM, namely its main phylotypes: *Firmicutes* and *Bacteroidetes*, in the development of NAFLD and obesity, their results are contradictory and need to be clarified, especially in Ukrainian population. The pathophysiological cascade of pro-inflammatory and profibrotic changes, which combines changes in GM and traditional factors of NAFLD, and which may involve violations of regulatory molecules – miR-122 and miR-34a, remains unclear.

Today it is important to develop the algorithm for early diagnosis of fibrosis in patients with NAFLD on the background of obesity and overweight, taking into account cost-effective and reproducible non-invasive methods.

Thus, the aim of the work was to optimize the early diagnosis of fibrosis in NAFLD patients with obesity and overweight by studying the ratio of *Firmicutes/Bacteroidetes* phylotypes of GM, molecular genetic factors: miR-122, miR-34a, as well as pro-inflammatory markers: CRP and TNF-alpha.

To achieve the planned goal, 140 patients were examined, among which the main group consisted of 120 patients with NAFLD (all patients were excluded from other factors of secondary hepatic steatosis) on the background of obesity of I–III degrees ($\text{BMI} \geq 30.0\text{--}39.9 \text{ kg/m}^2$) or overweight ($\text{BMI} \geq 25.0\text{--}29.9 \text{ kg/m}^2$): 59 men (49.2 %) and 61 (50.8 %) women. The median and interquartile range of age of patients with NAFLD in the main group was 48.5 [40.00; 59.00] years. The groups had the reciprocal distribution by age and sex ($p > 0.05$).

The control group included 20 healthy volunteers with normal body weight ($\text{BMI} 18.5\text{--}24.9 \text{ kg/m}^2$) without clinically significant disorders of the digestive system and signs of hepatic steatosis: 8 men (40 %) and 12 women (60 %). The median and interquartile range of the age of the subjects was 46.30 [35.00; 56.00] years.

Patients in the main group ($n = 120$) were divided into two subgroups depending on BMI. The first subgroup included patients with NAFLD with concomitant obesity (I–III degrees), which amounted to 85 patients (70.83 % of all surveyed), and the second subgroup included 35 patients with NAFLD and overweight (29.17 % of all surveyed).

According to the study scheme, the analysis of subjective complaints of patients with NAFLD showed that more pronounced clinical symptoms were observed in patients with NAFLD against the background of concomitant obesity than in overweight patients. In patients of the first subgroup, the most frequent subjective complaints were decreased tolerance to physical activity (80 %), heaviness in the right hypochondrium (72 %) and asthenic syndrome (64 %). In turn, in the presence of excess weight, the above manifestations were less common (23 %, 34 % and 23 %, respectively, $p < 0.05$).

It should be noted that the studied patients with NAFLD were not have nausea. Thus, in the first subgroup complaints of nausea were found in only 11 %, and in the second subgroup were completely absent and were statistically significant (chi-square, $\chi^2 = 4.006359$, $df = 1$, $p < 0.45$). Periodic pain in the right hypochondrium was observed in 25 % of patients of the first subgroup, while for patients of the second subgroup it was not typical (chi-square, $\chi^2 = 7.90446$, $df = 1$, $p < 0.01$). Manifestations of dyspeptic syndrome were 39 % in the first subgroup and 43 % in the second subgroup, bitterness in the mouth was observed in 18 % in the first subgroup and 6 % in the second subgroup.

During analysis of anthropometric indicators in patients with NAFLD on the background of obesity, probable ($p < 0.01$) changes were observed: the increase in BMI of 1.55 times, waist circumference (WC) – 1.56 times, hip circumference (HC) – 1.21 times, waist-to-hip ratio (WHR) – 1.28 times; and body composition – an increase of % adipose tissue (AT) in 1.43 times, % visceral fat (VF) – 4.75 times against the background of a decrease in % of skeletal muscle (SkM) in 1.19 times, which indicates the predominance of the abdominal type of distribution of AT.

This trend was also observed in patients with NAFLD and overweight ($p < 0.01$): increased BMI in 1.19 times, WC in 1.32 times, HC in 1.09 times ($p < 0.01$) and WHR in 1.21 times ($p < 0.01$); and body composition - increase in % AT in 1.04 times, % VF – in 3 times against decrease in % of SkM in 1.06 times.

During analysis of biochemical parameters revealed the formation of insulin resistance: the increase in insulin concentration – 1.83 times in patients with NAFLD on the background of obesity and 1.52 times in patients with NAFLD and overweight, HOMA index – 2.17 times in the first subgroup and 1.62 times in the second subgroup. In addition, changes in the metabolic profile of patients with NAFLD were accompanied by disorders of lipid metabolism: increased serum concentration of low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) in 1.80 times in patients with NAFLD on the background of obesity and in 1.65 times in patients

with NAFLD and overweight, as well as more pronounced changes in liver function: in patients with NAFLD on the background of obesity, the concentration of aspartate aminotransferase (AST) increased 1.15 times, alanine aminotransferase (ALT) – 1.66 times, and gamma-glutamyl transpeptidase (GGT) – 1.3 times, while in patients with NAFLD and overweight increased only the concentration of ALT 1.2 times.

Changes in the composition of GM in patients with NAFLD were characterized by the increase in the relative content of *Firmicutes*: this figure in patients with concomitant obesity increased by 1.78 times and overweight – by 1.72 times. Correlation analysis showed that the relative content of *Firmicutes* increases according to % VF ($r = +0.74$, $p = 0.01$ and $r = +0.70$, $p = 0.01$, respectively) and % of SkM (in patients with excess weight $r = -0.47$, $p = 0.03$). In addition, the decrease in the relative content of *Bacteroidetes* was found in patients with NAFLD: in patients with concomitant obesity by 53.91 % and overweight – by 45.66 %, which correlated with the % VF ($r = -0.48$, $p = 0.01$ and $r = -0.49$, $p = 0.003$, respectively). The estimated *Firmicutes/Bacteroidetes* ratio also increased by 5.7 times in patients with NAFLD with concomitant obesity, and by 4.3 times in overweight patients. The most significant changes in GM were associated with features of the clinical course of NAFLD: the increase in *Firmicutes* was found in the formation of subjective complaints of defecation disorders ($H = 6.66$, $p < 0.01$;) and dyspepsia ($H = 4.80$, $p = 0.028$); decrease in the relative content of *Bacteroidetes* against the background of the increase in the ratio of *Firmicutes/Bacteroidetes* – in disorders of defecation ($H = 10.58$; $p < 0.01$ and $H = 26.91$; $p < 0.01$, respectively).

The study of pro-inflammatory and profibrotic markers in patients with NAFLD revealed the increase in serum level of miR-122 in the presence of excess weight by 40 times ($p < 0.01$), and in concomitant obesity – by 39.09 times ($p < 0.01$), which depended on the stage of fibrosis ($H = 6.16$; $p = 0.46$); increase level miR-34a by 6.20 times and 6.40 times, respectively ($p < 0.01$); CRP - 3.23 and 4.87 times, respectively ($p < 0.01$). The increase level miR-122 levels was

associated with the features of clinical symptoms – the subjective feeling of the decrease in exercise tolerance (according to the Mann-Whitney test; $U = 364.50$; $p < 0.01$), pain and heaviness in the right hypochondrium ($U = 355, 00$, $p < 0.01$, and $U = 509.50$; $p = 0.029$, respectively), the concentration of total bilirubin ($r = +0.27$; $p = 0.0136$) and its fractions – direct and indirect bilirubin ($r = +0.23$, $p = 0.0358$ and $r = +0.24$, $p = 0.0170$, respectively); as well as with ultrasonographic dimensions of the liver, namely the thickness of the left lobe ($r = +0.27$; $p = 0.0120$); at the same time, in patients with NAFLD against the background of obesity, the increase level of miR-34a is associated with the decrease in exercise tolerance ($U = 288.00$; $p < 0.01$), pain in the right hypochondrium ($U = 416.00$; $p < 0.01$, respectively), as well as excessive development of % AT ($r = +0.37$; $p = 0.02$).

In patients with NAFLD, changes in pro-inflammatory and profibrotic markers were associated with changes in GM: miR-122 with *Firmicutes/Bacteroidetes* ratio (in patients with concomitant obesity $r = 0.27$; $p = 0.0117$ and overweight $r = 0.56$; $p = 0.0003$) and *Bacteroidetes* (in overweight patients $r = -0.34$; $p = 0.043$); miR-34a correlated with *Bacteroidetes* (in overweight patients $r = -0.44$; $p = 0.0086$) and the *Firmicutes/Bacteroidetes* ratio ($r = 0.38$; $p = 0.0231$).

Additional diagnostic markers – % VF, serum concentrations of pro-inflammatory markers CRP and TNF-alpha, levels of miR-122 and -34a in blood plasma, as well as the ratio *Firmicutes/Bacteroidetes* were determined. Using the method of characteristic curves for each of the diagnostic criteria, their cut-off value was calculated, which for the serum concentration of CRP was – 4.5 mg/l (AUC = 0.99, sensitivity 1.00, specificity 0.030; $p < 0.05$); for serum TNF-alpha concentration – 5.5 pg/ml (AUC = 0.97, sensitivity 0.98, specificity 0.025; $p < 0.05$); for level miR-122 content – 12.50 AU (AUC = 0.99, sensitivity 0.98, specificity 0.048; $p < 0.05$); for level of miR-34a – 5.50 AU (AUC = 0.98, sensitivity 0.98, specificity 0.106; $p < 0.05$); for the proportion of visceral fat % VF was 8.5 % (AUC = 0.99, sensitivity 1.00, specificity 0.175; $p < 0.05$); for the

ratio of the main phylotypes of GM *Firmicutes/Bacteroidetes* – 1.51 (AUC = 0.95, sensitivity 0.83, specificity 0.021; $p < 0.05$).

Based on the identified markers, the algorithm for early diagnosis of fibrosis in patients with NAFLD on the background of obesity and overweight, which consists of 4 gradual stages. For each of the stages, a number of significant diagnostic factors are identified and their cut-off values are given. Stage I includes interviewing the patient with signs of hepatopathy on ultrasound to determine complaints and anamnestic data to exclude etiological factors of secondary fatty liver disease and mandatory objective examination with percussion/palpation to determine the size of the liver, as well as anthropometric indicators and composition of body according to bioimpedancemetry: the proportion of visceral fat. At stage II, the patient was recommended to determine markers of cytolysis, namely ALT and GGT. Stage III includes determination of metabolic and pro-inflammatory parameters: HOMA index; general cholesterol and LDL cholesterol; CRP and TNF-alpha. The final stage IV includes the assessment of genetic and biological factors: determination of the main phylotypes of GM and level of miR-122 and miR-34a.

The use of the algorithm allows step-by-step screening of patients with NAFLD and obesity and overweight and identify patients with fibrosis, even in the early stages, timely prescribe effective treatment regimens that include lifestyle adjustments and drug therapy, prevent disease progression and development associated with improving socio-economic consequences.

For the first time in Ukrainian population the features of GM in patients with NAFLD on the background of obesity and overweight were identified, the relationship between the relative content of GM and other pro-inflammatory and profibrotic markers, including serum miR-122 and -34a, for diagnostic purposes, which justifies their practical significance.

Key words: non-alcoholic fatty liver disease, fibrosis, gut microbiota, miR-122, miR-34a.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Видання, у яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Черелюк НІ. Співвідношення основних філотипів кишкової мікробіоти у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки та ожиріння. Сучасна Гастроентерологія. 2019;(5):26-33. doi:10.30978/MG-2019-5-26. *(Здобувачем розроблено дизайн дослідження, проведено обстеження хворих, створено електронну базу даних, інтерпретація та аналіз отриманих даних, написання та підготовка статті до друку).*
2. Фадєєнко ГД, Черелюк НІ, Гальчінська ВЮ. Метаболічні захворювання та неалкогольна жирова хвороба печінки-особливості стану кишкової мікробіоти. Проблеми ендокринної патології. 2020;(4):99-105. doi:10.21856/j-PER.2020.4.13 *(Здобувачем розроблено дизайн дослідження, проведено обстеження хворих, створено електронну базу даних, інтерпретація та аналіз отриманих даних, написання та підготовка статті до друку).*
3. Fadieienko GD, Chereliuk NI, Galchinskaya VY. Ratio of main phylotypes of gut microbiota in patients with non-alcoholic fatty liver disease depending on the body mass index. Wiad Lek. 2021;74(3 cz 1):523-9. PMID: 33813462. *(Здобувачем розроблено дизайн дослідження, проведено обстеження хворих, розділення їх на підгрупи, створено електронну базу даних, інтерпретація та аналіз отриманих даних, написання та підготовка статті до друку).*

Видання, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

4. Фадєєнко ГД, Черелюк НІ, Курінна ОГ. Співвідношення основних філотипів кишкової мікробіоти у хворих на НАЖХП та супутнє ожиріння. В: Матеріали науково-практичної конференції «Ювілейні терапевтичні читання. Клінічна та профілактична медицина: досвід та нові напрямки розвитку»; 2019 квіт. 11-12; Харків, Україна. Харків;

2019. с. 256. *(Здобувачем розроблено дизайн дослідження, створено електронну базу даних, написано та оформлено тези до друку).*

5. Фадєєнко ГД, Черелюк НІ, Курінна ОГ, Олійник ОВ, Радзишевська ЄБ. Зв'язок між ступенем стеатозу та фіброзу, а також показниками складу тіла у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки із супутнім ожирінням. В: Матеріали науково-практичної конференції молодих вчених за участю міжнародних спеціалістів «Досягнення профілактичної медицини як основа збереження здоров'я і благополуччя»; 2019 трав. 23; Харків, Україна. Харків; 2019. с. 60. *(Здобувачем розроблено дизайн дослідження, створено електронну базу даних, написано та оформлено тези до друку).*
6. Fadieienco GD, Chereliuk NI, Kurinna OH, Radzishevskaya YeB. Relationship between the main phylotypes of intestinal microbiota and comorbid states in patients with nonalcoholic fatty liver disease and obesity. In: 5th Paris NASH Meeting; 2019 Jul 11-12; Paris, France. 2019:Abstract 16. *(Здобувачем розроблено дизайн дослідження, створено електронну базу даних, проведено статистичну обробку отриманих результатів, написано та оформлено тези до друку).*
7. Fadieienco GD, Chereliuk NI, Kurinna OH. Effect of lifestyle modification on proinflammation markers in non-alcoholic fatty liver disease. In: World Congress of Gastroenterology; 2019 Sep 21 – 24; Istanbul, Turkey. Turkish J Gastroenterol. 2019;30(Suppl 3): S258. *(Здобувачем розроблено дизайн дослідження, створено електронну базу даних, проведено статистичну обробку отриманих результатів, написано та оформлено тези до друку).*
8. Черелюк НІ, Степанова ОВ. Вплив медикаментозного лікування на клініко-антропометричні показники, біохімічні параметри та маркери системного запалення у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки. В: Програма «34-а річна наукова сесія присвячена підсумкам заключних та перехідних етапів науково-дослідних робіт в ДУ

«Національний інститут терапії ім. Л.Т. Малої НАМН України»; 2020 лют. 7; Харків, Україна. Харків; 2020. с. 2. *(Здобувачем розроблено дизайн дослідження, створено електронну базу даних, проведено статистичну обробку отриманих результатів, написано та оформлено тези до друку).*

9. Фадєєнко ГД, Черелюк НІ. Визначення рівнів експресії miR-34a та miR-122 у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки із супутнім ожирінням. В: Матеріалах міжнародної науково-практичної конференції «Вітчизняна та світова медицина в умовах сучасності»; 2020 січ. 10-11; Дніпро, Україна. Дніпро; 2020. с. 91-96. *(Здобувачем розроблено дизайн дослідження, створено електронну базу даних, проведено статистичну обробку отриманих результатів, написано та оформлено тези до друку).*
10. Фадєєнко ГД, Черелюк НІ, Гальчінська ВЮ. Стан кишкової мікробіоти у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки в залежності від коморбідного перебігу на тлі асоційованих з метаболічним синдромом захворювань. В: Матеріали наукового симпозиуму з міжнародною участю «Неінфекційні захворювання: ключові чинники, що впливають на якість та тривалість життя»; 2020 лист. 4; Харків, Україна. Харків; 2020. с.161. *(Здобувачем розроблено дизайн дослідження, створено електронну базу даних, написано та оформлено тези до друку).*
11. Chereliuk NI, Fadieienko GD, Gridnyev OE. Effect of body mass index on the ratio of the main microbiota phylotypes in patients with non-alcoholic fatty liver disease. In: 28th United European Gastroenterology Week; 2020 Octob 11-13; Virtual. UEG Journal. 2020;8(S8):S588, P0839. *(Здобувачем розроблено дизайн дослідження, створено електронну базу даних, проведено статистичну обробку отриманих результатів, написано та оформлено тези до друку).*
12. Фадєєнко ГД, Черелюк НІ, Курінна ОГ. Співвідношення основних філотипів кишкової мікробіоти у пацієнтів на неалкогольну жирову

хворобу печінки в залежності від стадії фіброзу. В: Матеріали науково-практичної конференції молодих вчених за участю міжнародних спеціалістів «Сучасна медицина очима молоді: проблеми і перспективи вирішення»; 2020 трав. 22; Харків, Україна. Харків; 2020. с. 164. *(Здобувачем розроблено дизайн дослідження, створено електронну базу даних, проведено статистичну обробку отриманих результатів, написано та оформлено тези до друку).*

13. Фадєєнко ГД, Черелюк НІ, Гальчінська ВЮ, Бондар ТМ. Взаємозв'язок показників стану мікробіоти з рівнем мікрорнк-34а та мікрорнк-122 у пацієнтів з неалкогольною жировою хворобою печінки на тлі ожиріння чи надлишкової ваги. В: Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Щорічні терапевтичні читання. Неінфекційні захворювання: профілактика та зміцнення здоров'я в Україні»; 2021 квіт. 22-23; Харків, Україна. Харків; 2021. с.155. *(Здобувачем розроблено дизайн дослідження, створено електронну базу даних, проведено статистичну обробку отриманих результатів, написано та оформлено тези до друку).*

Видання, які додатково відображають наукові результати дисертації:

14. Фадєєнко Г. Д., Черелюк Н. І. Співвідношення основних філотипів кишкової мікробіоти у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки на тлі ожиріння та його зв'язок зі стадією стеатозу печінки. Сучасна гастроентерологія. 2020;6(116):14-20. doi:10.30978/MG-2020-6-14. *(Здобувачем проведено оглядовий аналіз даних, інтерпретація та аналіз отриманих даних, написання та підготовка статті до друку).*
15. Фадєєнко ГД, Гриднєв АЕ, Черелюк НІ, Куринная ЕГ. Роль кишечной микробиоты в развитии неалкогольной жировой болезни печени. Сучасна Гастроентерологія. 2019;(4):92-9. doi: 10.30978/MG-2019-4-92. *(Здобувачем проведено оглядовий аналіз даних, інтерпретація та аналіз отриманих даних, написання та підготовка статті до друку).*

16. Фадєєнко ГД, Черелюк НІ, Курінна ОГ. Зв'язок неалкогольної жирової хвороби печінки з порушеннями мікробного складу кишечника. Медицина сьогодні і завтра. 2019;(1):6-22. doi: 10.35339/msz.2019.82.01.03. *(Здобувачем проведено оглядовий аналіз даних, інтерпретація та аналіз отриманих даних, написання та підготовка статті до друку).*
17. Курінна ОГ, Кушнір ІЕ, Чернова ВМ, Черелюк НІ. Вплив немедикаментозного лікування на показники вуглеводного обміну у пацієнтів з неалкогольною жировою хворобою печінки та ожирінням. Сучасна Гастроентерологія. 2018;(3):42-7. doi: 10.30978/MG-2018-3-42. *(Здобувачем розроблено дизайн дослідження, проведено обстеження хворих, створено електронну базу даних, інтерпретація та аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку).*
18. Фадєєнко ГД, Кушнір ІЕ, Чернова ВМ, Соломенцева ТА, Нікіфорова ЯВ, Курінна ОГ, Черелюк НІ, винахідники; Спосіб діагностики неалкогольного стеатогепатиту у хворих з неалкогольною жировою хворобою печінки на тлі метаболічних порушень. Патент України на корисну модель № 138380 від 25.11.2019, МПК (2006), G01N33/50 (2006.01), A61B 31/00 A61P. *(Здобувачем проведено збір матеріалу, подано заявку на корисну модель, оформлено патент).*
19. Фадєєнко ГД, Черелюк НІ, Гріднєв ОЄ, Гальчинська ВЮ, винахідники; Спосіб прогнозування розвитку неалкогольної жирової хвороби печінки на тлі ожиріння. Патент України на корисну на корисну модель №144533 від 12.10.2020, МПК (2020.01),G01N33/00Бюл.№ 19. *(Здобувачем проведено збір матеріалу, його аналіз, подано заявку на корисну модель, оформлено патент).*

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ	2
СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ	19
ЗМІСТ	24
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	27
ВСТУП	28
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ. СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО НЕАЛКОГОЛЬНУ ЖИРОВУ ХВОРОБУ ПЕЧІНКИ НА ТЛІ ОЖИРІННЯ ТА НАДЛИШКОВОЇ ВАГИ	33
1.1. Епідеміологічні аспекти неалкогольної жирової хвороби печінки	33
1.2. Механізми розвитку та прогресування неалкогольної жирової хвороби печінки на тлі ожиріння та надлишкової ваги	37
1.2.1. Роль хронічного запалення у формуванні та прогресуванні неалкогольної жирової хвороби печінки на тлі ожиріння та надлишкової ваги.....	37
1.2.2. Роль мікроРНК-122 та мікроРНК-34а у розвитку та прогресуванні неалкогольної жирової хвороби печінки на тлі ожиріння та надлишкової ваги	40
1.3. Роль кишкової мікробіоти в розвитку та прогресуванні неалкогольної жирової хвороби печінки на тлі ожиріння та надлишкової ваги	43
1.3.1. Сучасні дані про кишкову мікробіоту	43
1.3.2. Патогенетична роль кишкової мікробіоти в розвитку та прогресуванні неалкогольної жирової хвороби печінки на тлі ожиріння та надлишкової ваги	44
1.4. Рання діагностика фіброзу у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки на тлі ожиріння та надлишкової ваги	49
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	56
2.1. Клінічна характеристика осіб, що залучені у дослідження	57
2.2. Методи дослідження	63

	25
2.2.1. Клінічне дослідження	63
2.2.2. Методи анкетування	64
2.2.3. Лабораторні методи дослідження	65
2.2.4. Інструментальні методи дослідження	68
2.2.5. Розвідувальний мікробний аналіз	69
2.2.6. Методи математичної статистики	74
РОЗДІЛ 3. КЛІНІЧНІ, АНТРОПОМЕТРИЧНІ ТА МЕТАБОЛІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ХВОРИХ НА НЕАЛКОГОЛЬНУ ЖИРОВУ ХВОРОБУ ПЕЧІНКИ НА ТЛІ ОЖИРІННЯ ТА НАДЛИШКОВОЇ ВАГИ	78
3.1. Клінічний перебіг, антропометричні та метаболічні особливості у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки на тлі ожиріння та надлишкової ваги	78
РОЗДІЛ 4. СПІВВІДНОШЕННЯ ОСНОВНИХ ФІЛОТИПІВ КИШКОВОЇ МІКРОБІОТИ У ХВОРИХ НА НЕАЛКОГОЛЬНУ ЖИРОВУ ХВОРОБУ ПЕЧІНКИ НА ТЛІ ОЖИРІННЯ ТА НАДЛИШКОВОЇ ВАГИ	93
4.1. Відносний вміст бактерій філотипу <i>Firmicutes</i> у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки на тлі ожиріння та надлишкової ваги	93
4.2. Відносний вміст бактерій філотипу <i>Bacteroidetes</i> у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки на тлі ожиріння та надлишкової ваги	97
4.3. Співвідношення відносного вмісту бактерій філотипів <i>Firmicutes</i> та <i>Bacteroidetes</i> у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки на тлі ожиріння та надлишкової ваги.....	99
4.4. Відносний вміст бактерій філу <i>Actinobacteria</i> у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки на тлі ожиріння та надлишкової ваги	104
4.5. Вміст мікроорганізмів інших бактеріальних пулів у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки на тлі ожиріння та надлишкової ваги	105

РОЗДІЛ 5. ВМІСТ СИРОВАТКОВИХ МАРКЕРІВ ЗАПАЛЕННЯ, РІВНІВ мікроРНК-122, мікроРНК-34а ТА ЇХ ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК З ОСНОВНИМИ ФІЛОТИПАМИ КИШКОВОЇ МІКРОБІОТИ У ХВОРИХ НА НЕАЛКОГОЛЬНУ ЖИРОВУ ХВОРОБУ ПЕЧІНКИ НА ТЛІ ОЖИРІННЯ ТА НАДЛИШКОВОЇ ВАГИ	110
5.1. Рівень мікроРНК-122 у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки на тлі ожиріння та надлишкової ваги	110
5.2. Рівень мікроРНК-34а у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки на тлі ожиріння та надлишкової ваги	115
5.3. Вміст сироваткових маркерів запалення вчСРП та ФНП-альфа у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки на тлі ожиріння та надлишкової ваги	120
РОЗДІЛ 6. АЛГОРИТМ РАННЬОЇ ДІАГНОСТИКИ ФІБРОЗУ У ХВОРИХ НА НЕАЛКОГОЛЬНУ ЖИРОВУ ХВОРОБУ ПЕЧІНКИ НА ТЛІ ОЖИРІННЯ ТА НАДЛИШКОВОЇ ВАГИ	129
АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	136
ВИСНОВКИ	154
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	157
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	158
ДОДАТКИ	188

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АЛТ – аланінамінотрансфераза
АСТ – аспартатамінотрансфераза
ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я
ВЖК – вільні жирні кислоти
ВЖ – вісцеральна жир
вчСРП – С-реактивного протеїну
ФНП-альфа – фактору некрозу пухлини альфа
ГГТП – гамаглутамілтранспептидаза
ГЦК – гепатоцелюлярнакарцинома
ЗХС – загальний холестерин
ЖТ – жирова тканина
ІМТ – індекс маси тіла
ІР – інсулінорезистентність
КМ – кишкова мікробіота
ЛПВЩ – ліпопротеїди високої щільності
ЛПДНЩ – ліпопротеїди дуже низької щільності
ЛПНЩ – ліпопротеїди низької щільності
НАЖХП – неалкогольна жирова хвороба печінки
НАСГ – неалкогольний стеатогепатит
ОТ – довжини окружності талії
ОС – довжини окружності стегон
ОТ/ОС – індекс талія/стегно
ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція
СкМ– скелетна мускулатура
ЦД2 – цукровий диябет 2 типу

ВСТУП

Актуальність теми

НАЖХП – це гетерогенне захворювання, що проявляється спектром фенотипів, починаючи від простого стеатозу, який традиційно вважається відносно доброякісним, до більш агресивного неалкогольного стеатогепатиту (НАСГ), що спостерігається в 10-25 % випадків. Слід зазначити, що в однієї третини хворих на НАСГ даний стан може прогресувати до цирозу та гепатоцелюлярної карциноми (ГЦК).

На сьогодні НАЖХП визнана найпоширенішою причиною хронічних захворювань печінки у всьому світі. Значним провокуючим фактором даної патології є ожиріння, яке у 2015 році набуло характеру глобальної пандемії та вразило 107,7 мільйона дітей і 603,7 мільйона дорослих. За оцінками математичного моделювання приблизно 1,12 мільярда і 100,9 мільйона осіб страждають на ожиріння та НАЖХП, відповідно. Без своєчасної діагностики НАЖХП стане першою причиною трансплантації печінки (ТП) до 2025 року [13].

Встановлено, що найбільш важливим предиктором смертності у хворих на НАЖБП є стадія фіброзу печінки. Хворі з вираженим фіброзом (F3; мостовий фіброз) або цирозом (F4) мають значно підвищений ризик смертності від усіх причин. Проте навіть ранні стадії фіброзу є суттєвим фактором, що сприяє збільшенню ризику несприятливих подій, який прогресивно збільшується в міру зростання стадії фіброзу [14-17].

Тому для системи охорони здоров'я особливо важливо виявляти хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги з фіброзом, навіть на ранніх стадіях F1-F2, для своєчасного застосування профілактичних та лікувальних заходів з метою поліпшення перебігу захворювання, запобігання його прогресування та розвитку ускладнень.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота є фрагментом комплексної науково-дослідної теми «Розробити нову технологію персоніфікованого лікування хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки на тлі метаболічних порушень» (номер державної реєстрації № 017U003030) 2017-2019 р. та «Розробити шляхи індивідуалізованої корекції метаболічних порушень у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки на підставі вивчення кишкового мікробіому, регуляторних молекул та маркерів системного запалення» (номер державної реєстрації № 0120U000069).

Мета дослідження. Оптимізувати ранню діагностику фіброзу у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги шляхом вивчення особливостей співвідношення філотипів *Firmicutes/Bacteroidetes* КМ, молекулярно-генетичних чинників: мікроРНК-122, мікроРНК-34а, а також прозапальних маркерів: вчСРП та ФНП-альфа.

Завдання дослідження

1. Визначити клінічний перебіг, антропометричні та метаболічні особливості у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги.
2. Проаналізувати особливості змін відносного складу КМ у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги в залежності від клінічних, антропометричних, метаболічних та прозапальних параметрів.
3. Вивчити особливості змін показників рівнів циркулюючих мікроРНК-122, мікроРНК-34а, вчСРП та ФНП-альфа у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги в залежності від клінічних, антропометричних, метаболічних та прозапальних параметрів.
4. Дослідити взаємозв'язок показників стану КМ з рівнем мікроРНК-122, мікроРНК-34а, вчСРП та ФНП-альфа у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги, а також визначити їхню діагностичну доцільність використання.

5. Розробити алгоритм ранньої діагностики фіброзу у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги.

Методи дослідження

1. **Клініко-анамнестичне обстеження.**
2. **Лабораторно-інструментальні методи.**

Біохімічні:

- ✓ ліпідний спектр – загальний холестерин та його фракції;
- ✓ вуглеводний спектр – глікемія натще, інсулін, індекс НОМА;
- ✓ функціональні проби печінки – АСТ, АЛТ, ЛФ, ГГТП;
- ✓ визначення вч-СРП (ІФА);
- ✓ визначення ФНП-альфа (ІФА).

Функціональні:

- ✓ визначення ступенів стеатозу за критерієм NAS та фіброзу за шкалою METAVIR шляхом дослідження гепатобіліарної системи (ультразвукова скануюча система Soneus P7);
- ✓ визначення складу тіла за допомогою біоімпедансометрії (OMRON BF 511).

Молекулярно-генетичні методи:

- ✓ зворотна транскрипція та полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) в режимі реального часу (qRT-PCR) із застосуванням специфічних праймерів та зондів (визначення мікроРНК-122 та 34а);
- ✓ визначення складу КМ на рівні основних філотипів шляхом ідентифікації загальної бактеріальної ДНК і ДНК Bacteroidetes, Firmicutes і Actinobacteria методом кількісної ПЛР qRT-PCR з використанням універсальних праймерів для гена 16S рРНК і таксон-специфічних праймерів.

3. **Статистичні методи обробки результатів.**

- ✓ пакет статистичних програм SPSS (version 17.0 for Windows; SPSS, Chicago, IL).

Групи дослідження:

- ✓ Досліджувана група – хворі на НАЖХП (120 осіб);
 - I підгрупа – хворі з супутнім ожирінням (85 осіб);
 - II підгрупа – хворі з надлишковою вагою (35 осіб);
 - Практично здорові (група контролю) (20 осіб).

Наукова новизна одержаних результатів

Вперше в українській популяції проведено комплексну оцінку якісного складу КМ за основними філотипами (*Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* та інших філотипів з розрахунком співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes*) у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги; проаналізовано їх кореляційні зв'язки з рівнями мікроРНК-122, мікроРНК-34а, вчСРП та ФНП-альфа. Вперше проаналізовано взаємозв'язки складу КМ зі ступенями стеатозу та фіброзу у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги; визначені взаємовідношення основних філотипів КМ з патогенетичними ланками розвитку НАЖХП, зокрема мікроРНК-122, мікроРНК-34а, вчСРП та ФНП-альфа, а також ліпідними та вуглеводними порушеннями. Вперше досліджено доцільність використання визначених параметрів в якості діагностичних маркерів фіброзу та розроблений алгоритм ранньої діагностики даного стану хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги.

Практичне значення одержаних результатів

Обґрунтовано доцільність включення до плану обстеження хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги поряд із обов'язковими методами загальноклінічного, лабораторного та інструментального обстеження з метою ранньої діагностики фіброзу визначення відносного складу КМ із визначенням співвідношення її основних філотипів, активності прозапальних маркерів: сироваткової концентрації вчСРП та ФНП-альфа, а також рівнів мікроРНК-122 та мікроРНК-34а в плазмі крові.

Розроблено алгоритм визначення груп хворих на НАЖХП з фіброзом, який включає поетапне обстеження з визначенням антропометричних показників, цитолітичних, метаболічних параметрів, молекулярно-генетичних та біологічних чинників, що дозволяє стратифікувати хворих до групи, що потребує поглибленого обстеження та інтенсивного лікування.

Впровадження результатів дослідження в практику

Отримані результати впроваджено в клінічну практику відділення гастроентерології та терапії ДУ «Національний інститут терапії ім. Л. Т. Малої НАМН України» (м. Харків), гастроентерологічне відділення КНП «Обласна клінічна лікарня Івано-Франківської обласної ради», КХП «Хмельницька обласна клінічна лікарня», КНП «Полтавська обласна клінічна лікарня імені М. В. Скліфосовського Полтавської обласної ради», КНП «Одеська обласна клінічна лікарня», КП «Рівненська обласна клінічна лікарня імені Юрія Семенюка» Рівненської обласної ради, КП «Волинська обласна клінічна лікарня Волинської обласної ради» (м. Луцьк).

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.

СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО НЕАЛКОГОЛЬНУ ЖИРОВУ ХВОРОБУ ПЕЧІНКИ НА ТЛІ ОЖИРІННЯ ТА НАДЛИШКОВОЇ ВАГИ

1.1. Епідеміологічні аспекти неалкогольної жирової хвороби печінки

НАЖХП зайняла провідну позицію серед найбільш поширених захворювань печінки; розповсюдженість даного захворювання в загальній популяції коливається від 10 % до 40 %, а серед хворих із супутнім ожирінням досягає 80 % [18, 19].

Термін НАЖХП у 2000 році запровадили американські гепатологи, які визначили даний стан як «неалкогольна жирова хвороба печінки» [20]. Згідно з провідними організаціями в області гастроентерології – Американською гастроентерологічною асоціацією, Американською асоціацією з вивчення печінки та Американським коледжем гастроентерології, термін НАЖХП визначає наявність ознак стеатозу печінки за даними візуалізуючих методів обстеження або гістологічного дослідження, у сукупності із виключенням інших причин накопичення жиру в печінці, таких як: значне вживання алкоголю (споживання алкогольної продукції у перерахунку на чистий етанол більш ніж 20 г/добу для жінок та 40 г/добу для чоловіків), тривале використання стеатогенних лікарських засобів або моногенні спадкові захворювання [21].

Значущість НАЖХП обумовлена важливими соціальними та економічними наслідками даної нозології [22]. У Сполучених Штатах Америки НАЖХП спостерігається у більше ніж 64 мільйонів людей, з щорічними прямими медичними витратами приблизно 103 мільярдів доларів США (1613 доларів США на пацієнта). У країнах Європи (Німеччина, Франція, Італія та Велика Британія) налічується до 52 мільйонів осіб з НАЖХП, на медичне обслуговування яких щорічно виділяється

приблизно 35 мільярдів євро (до 1163 євро на пацієнта) [22]. Найвищі витрати на охорону здоров'я спостерігаються в групі пацієнтів у віці 45–65 років, які суттєво зростають при додаванні витрат на соціальні потреби [22]. Крім того, дані великого Шведського ретроспективного дослідження, до якого включили пацієнтів з гістологічно підтвердженою НАЖХП, дозволили отримати уявлення про довгостроковий прогноз та наслідки даного захворювання з періодом спостереження до 40 років [17]. Результати даної роботи продемонстрували, що хворі на НАЖХП мали підвищений ризик захворюваності і смертності внаслідок патології печінки [17].

Епідеміологічні дані розповсюдженості НАЖХП в загальній популяції дуже варіюють в залежності від характеру обстежуваних популяцій, особливостей груп, які досліджуються, методів діагностики, які застосовуються, а також супутньої патології.

На думку експертів Європейської асоціації з вивчення захворювань печінки, Європейської асоціації з вивчення діабету та Європейської асоціації з вивчення ожиріння, НАЖХП є найрозповсюдженішим захворюванням печінки в країнах Заходу та сягає від 17 % до 46 % дорослого населення [23].

У 2016 році Younossi et al. оприлюднили дані глобального епідеміологічного дослідження, стосовно поширеності захворюваності на НАЖХП за період з 1989 по 2015 роки [20]. У ході дослідження були проаналізовані результати 86 епідеміологічних досліджень із 22 країн світу, розмір вибірки склав 8 515 431 хворих на НАЖХП. За результатами, отриманими в ході дослідження, розповсюдженість НАЖХП складала 25,24 %. Супутні метаболічні захворювання (МЗ), асоційовані з НАЖХП, включали ожиріння (51,3 %), цукровий діабет другого типу (ЦД2) (22,5 %), гіперліпідемію (69,2 %), гіпертонію (39,3 %) та метаболічний синдром (МС) (42,5 %). Крім того, було продемонстровано збільшення розповсюдженості НАЖХП у світі за останні роки: з 15% у 2005 році до 25 % у 2010 році – отриманні дані узгоджуються з глобальною епідемією ожиріння як найбільш розповсюдженого фактору ризику НАЖХП [24, 25].

За науковими даними ожиріння спостерігається у 51,3 % хворих на НАЖХП та 81,8 % хворих з НАСГ [26]. При цьому найбільша розповсюдженість хворих на НАЖХП була визначена в країнах Азії та складала 63,9 %, у той час, як у Північній Америці ці показники досягали 57 %, а в країнах Європи – 36,7 % [27].

Аналіз епідеміологічних даних показав, що зі зростанням показників дитячого ожиріння, за даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), у 2019 році 38,3 мільйона дітей у віці до 5 років мали надлишкову вагу або ожиріння [28], НАЖХП стала найбільш розповсюдженим захворюванням печінки серед дітей, хворих на ожиріння [29]. Розповсюдженість НАЖХП складала 3–12 % у загальній педіатричній популяції на відміну від 70–80 % серед дітей із супутнім ожирінням [30]. Jae Sung Ko визначив поширеність НАЖХП в залежності від расової та етнічної належності: серед азіатів дане захворювання діагностують у 10,2 %, серед афроамериканців – 1,5 %, латиноамериканців – 11,8 % і європеїдів – 8,6 % [31]. Подальші дослідження продемонстрували, що діти латиноамериканського та мексиканського походження мають один із найвищих показників захворюваності на НАЖХП, яка пов'язана з ожирінням [32]. Епідеміологічна динаміка розповсюдженості НАЖХП у педіатричній популяції потенційно може сприяти погіршенню епідеміологічної динаміки серед дорослого населення в подальшому.

Про розповсюдженість НАЖХП в Україні свідчать дані обсерваційного перехресного дослідження PRELID 2, проведеного у 2015-2016 роках, у якому було обстежено 5000 пацієнтів: 2450 жіночої статі (49,00 %) та 2550 чоловічої (51,00 %). Результати дослідження продемонстрували, що неалкогольний стеатоз було діагностовано в 3153 (62,72 %) пацієнтів, НАСГ – у 1517 (30,30 %) пацієнтів, цироз печінки – у 44 (0,88 %) пацієнтів [33].

Своєю чергою поширеність ожиріння в Україні за даними загальнонаціонального дослідження STEPS у 2019 році показало, що

середній ІМТ у популяції становив 26,8 кг/м² і збільшувався з віком: лише дві п'ятих (39,6 %) населення в Україні мали нормальну вагу, а у чверті населення (24,8 %) було діагностовано ожиріння. Серед жінок ожиріння було більш поширеним (чоловіки – 20,1 %; жінки – 29,8 %) [34].

Крім того, НАЖХП є одним із етіологічних чинників ГЦК, яка займає шосте місце серед онкологічних захворювань у світі. Фактором ризику розвитку ГЦК є цироз печінки, однак останні дані свідчать про те, що ГЦК може розвиватися і на тлі НАЖХП, не асоційованої з цирозом і тісно пов'язаною з наявністю МС [35,36]. Враховуючи постійне зростання показників поширеності ожиріння, ЦД2 та МС у всьому світі, на думку експертів НАЖХП займає провідне місце серед причин ГЦК. На сьогодні НАЖХП є другим за частотою показанням до ТП в США, і, що важливо, число хворих на НАЖХП, що знаходяться в списку очікування до ТП з 2004 по 2013 рік, збільшилося на 170%. Отже, у найближчому майбутньому захворювання печінки на термінальній стадії, обумовлені НАЖХП, стануть найбільш поширеними причинами для проведення ТП [37,38]. І у зв'язку із зростанням захворюваності на ожиріння, МС і НАЖХП, серед донорів слід очікувати значну кількість хворих на жирову дистрофію печінки і меншу доступність високоякісних органів, потенційно придатних для ТП.

Таким чином, аналіз епідеміологічних даних демонструє високу розповсюдженість НАЖХП як у всьому світі, так і в Україні з тенденцією до подальшого зростання. НАЖХП тісно асоційована з ожирінням і багато в чому визначає подальший розвиток і прогресування. НАЖХП впливає як на загальну захворюваність і смертність, так і обумовлену окремими факторами: серцево-судинною патологією, ЦД2, захворюваннями печінки, зокрема її термінальними стадіями, що підвищує потребу в ТП, при цьому знижуючи можливості отримання здорового матеріалу для трансплантації [33,39]. Це визначає актуальність подальшого вивчення особливостей цього захворювання в медичному і соціально-економічному аспекті.

1.2. Механізми розвитку та прогресування неалкогольної жирової хвороби печінки на тлі ожиріння та надлишкової ваги

1.2.1. Роль хронічного запалення у формуванні та прогресуванні неалкогольної жирової хвороби печінки на тлі ожиріння та надлишкової ваги

НАЖХП є складним МЗ, для якого характерна глибинна взаємодія між генетичними чинниками та факторами зовнішнього середовища [40]. Формування НАЖХП починається з надлишкового накопичення жиру в печінці понад 5 % гепатоцитів та може прогресувати від доброякісного стеатозу до стеатогепатиту, фіброзу, цирозу та ГЦК [41,42].

Існує дві головні теорії відносно тригерних механізмів патогенезу НАЖХП. Згідно з однією із них, формування стеатозу печінки є результатом дисфункції ЖТ, порушень вуглеводного обміну, зокрема інсулінорезистентності (ІР), що приводять до оксидативного стресу, ендотеліальної дисфункції, хронічного запалення та зміни секреції адипоцитокінів [43,44], а також порушень ліпідного обміну. Детальне вивчення й уточнення провідних ланок патогенезу захворювання є актуальним, оскільки відкриває додаткові можливості для проведення цілеспрямованої профілактики та ефективного лікування як НАЖХП, так і МС в цілому.

ІР розглядається як самостійний фактор, здатний визначити розвиток і прогресування НАЖХП, яка зустрічається у пацієнтів з різними порушеннями вуглеводного обміну та призводить до розвитку стеатозу печінки через порушення здатності інсуліну пригнічувати ліполіз переважно у вісцеральних адипоцитах і, отже, збільшується надходження вільних жирних кислот (ВЖК) в печінку [45].

Надлишкове надходження ВЖК сприяє розвитку і прогресуванню ІР в печінці через пригнічення передачі субстрату інсулінового рецептора-1 (IRS-1) та активацію інгібітора шляху каппа-В-кінази (NF-κB) [46,47].

Зниження чутливості периферичних тканин до інсуліну та порушення надходження глюкози в клітини призводять до розвитку гіперінсулінемії,

підвищенню швидкості ліполізу в ЖТ, надходження збільшеної кількості ВЖК в печінку, зниження швидкості В-окислення і посилення естерифікації, і, таким чином, надмірного утворення тригліцеридів (ТГ) в печінці та розвитку стеатозу [48].

У пацієнтів з НАЖХП загальна кількість пулу ТГ в печінці формується з трьох джерел: 1) ЖТ (60 %); 2) залишки хіломікронів (15 %) в основному харчових жирів; 3) печінковий ліпогенез або ліпогенез *de novo* (приблизно 25 %). Що стосується аліквотної частини адипоцитів, 75-80 % ТГ утворюються з підшкірної ЖТ, тоді як решта – з вісцеральної ЖТ та транспортується в печінку через портальну вену (портальна гіпотеза) [49]. Згідно з цією гіпотезою, жир з великого сальника, який потрапляє безпосередньо у ворітну вену, вносить значний внесок у надходження ВЖК у печінку, внаслідок високої ліполітичної активності жиру, присутнього в ньому. З патогенетичної точки зору портальна гіпотеза цікава з кількох причин. Наприклад, вісцеральна ЖТ має секреторний профіль, який відрізняється від профілю підшкірної ЖТ, що характеризується інтенсивним вивільненням запальних цитокінів, які надходять безпосередньо з ворітної вени та проходять через печінку перед тим, як потрапити в будь-який інший орган [50]. Отже, анатомічна близькість визначає печінку в якості першого бар'єру для вісцеральної ЖТ. У фізіологічних умовах печінка вже схильна до високої метаболічної активності, через яку відбувається велике виділення вільних радикалів. При наявності жирової дистрофії окислювальний метаболізм зростає ще більше, якщо присутні гіперглікемія та ІР. Аномальне вивільнення вільних радикалів може бути компенсовано до тих пір, поки антиоксидантний бар'єр не досягне насичення [51]. Коли захисні системи вичерпані, активні форми кисню починають окислювати гепатоцити та інші клітини печінки, що, у свою чергу, активує захисні механізми, викликаючи запальну відповідь [52]. Це призводить до підвищеної експресії ФНП-альфа, інтерлейкіну-1 (ІЛ-1), інтерлейкіну-6 (ІЛ-6) та інших запальних цитокінів, які

сприяють прискоренню пошкодження і більш швидкого прогресування захворювання.

Саме ФНП-альфа була ідентифікований як перша запальна молекула, що зв'язує ожиріння з ІР [53]. Експериментальні роботи свідчать, що у фізіологічних умовах експресія ФНП-альфа залишається на низькому рівні та значно збільшується в білій ЖТ [54]. Крім того, було відзначено, що в осіб з ожирінням та ІР спостерігається вищий рівень ФНП-альфа в порівнянні з пацієнтами з нормальною масою тіла [55], це дозволяє припустити, що ФНП-альфа може відігравати роль в патофізіології ІР.

Ще у 2005 році Adams et.al. запропонували пов'язати прогресування НАЖХП до НАСГ у хворих із супутнім ожирінням із виникненням системного запалення [56], яке своєю чергою характеризується високим рівнем циркулюючих медіаторів запалення, одним із яких є ФНП-альфа [57, 58]. Дослідження, проведені з долученням пацієнтів на ожиріння І ступеня, показують, що експресія ФНП-альфа є вищою у хворих на НАСГ, ніж в осіб зі стеатозом та збільшується відповідно до тяжкості НАСГ [59]. Попри те, що з'являються дані, що підтверджують зв'язок між НАЖХП та системним запаленням у пацієнтів із ожирінням І ступеня, все ще недостатньо досліджень, які б оцінювали рівні прозапальних та протизапальних медіаторів у популяції пацієнтів із ожирінням II–III ступенів.

Було показано, що запальні цитокіни відіграють важливу роль у розвитку НАЖХП, активуючи різні шляхи запалення, які заважають передачі сигналів інсуліну [60]. Прозапальні цитокіни, що секретуються ЖТ, такі як ФНП-альфа та ІЛ-6, були залучені до шляхів NF- κ B й N-кінцевої кінази/активаторного білка 1 c-Jun через активацію внутрішньоклітинних кіназ, а також стимулювали вироблення вчСРП в печінці [61-63]. Різні запальні цитокіни взаємодіяли та разом інгібували передачу сигналів інсуліну [64]. Серед ідентифікованих запальних цитокінів, пов'язаних із НАЖХП, вчСРП є класичним неспецифічним білком гострої фази, що продукується печінкою [65]. Bian et al. показали, що вчСРП може

посилювати активність NF-κB, а активований NF-κB може потім приєднатися до шляху, який заважає передачі сигналів інсуліну [66].

Як один із маркерів запалення, вчСРП рекомендують для діагностики як НАСГ, так і НАЖХП. У дослідженні «випадок-контроль» серед азійських індіанців у Північній Індії вищі рівні вчСРП корелювали з підвищеним ризиком НАЖХП [67]. В іншому дослідженні «випадок-контроль», що включало 32 хворих на НАЖХП, діагноз котрих було підтверджено біопсією, та 34 особи групи контролю, рівні вчСРП були вищі у хворих на НАСГ у порівнянні з випадками без діагностованого НАСГ. Також було відмічене підвищення рівня вчСРП у хворих з вищим рівнем фіброзу [68]. Крім того, збільшені рівні вчСРП корелювали з підвищеним ризиком розвиненого фіброзу в тому ж дослідженні, що свідчить про те, що сироватковий вчСРП може бути корисним неінвазивним маркером, який не тільки розрізняє НАСГ та простий стеатоз у хворих на НАЖХП, але також прогнозує тяжкість фіброзу у випадках з НАСГ. Yoneda et al. показали значно підвищені рівні вчСРП у хворих із запущеним фіброзом у порівнянні із хворими з легким фіброзом [69]. Суперечливі дані були отримані лише в одному дослідженні, яке включало 627 пацієнтів із діагностованим ожирінням, яке показало позитивну кореляцію вчСРП зі ступенем стеатозу, але не з тяжкістю НАЖХП [70]. Проте є обмаль доказів щодо зв'язку між вчСРП та ризиком НАЖХП серед хворих із супутнім ожирінням.

1.2.2. Роль мікроРНК-122 та мікроРНК-34а у розвитку та прогресуванні неалкогольної жирової хвороби печінки на тлі ожиріння та надлишкової ваги

Глобальна розповсюдженість як НАЖХП, так і ожиріння, і той факт, що ці захворювання можуть потенціювати одне одного, об'єднала дослідників усього світу на пошуки прогностичних маркерів діагностики розвитку та прогресування даних захворювань.

Генетичні чинники, що беруть участь у патофізіологічних механізмах стеатогенезу та запалення, містять і різноманітні мікроРНК – молекули, які

відіграють вирішальну роль у посттранскрипційному контролі. Інтерес до даних молекул суттєво збільшився завдяки їх потенціалу в якості критичних терапевтичних мішеней для персоналізованого лікування, а дослідження мікроматриць дозволили ідентифікувати значну кількість мікроРНК як біомаркери [71].

Мішені, які розпізнаються мікроРНК, можуть бути моногенними, полігенними або навіть множинними мікроРНК та можуть бути націлені на один ген, демонструючи, що вони мають значну регуляторну здатність і глибокий вплив на здоров'я та хворобу. Крім того, мікроРНК були ідентифіковані в сироватці, плазмі, слині, сечі та інших тканинах та пов'язані з білками, ліпідами й ліпопротеїдами, які роблять їх більш стабільними в кровообігу [72]. Надходження мікроРНК до міжклітинного простору може відбуватися в результаті пасивного процесу під час загибелі клітин або через активне вивільнення мікровезикул [73].

МікроРНК-122, яка налічує до 70 % загальної кількості всіх мікроРНК людини [74], є найбільш поширеною та вивченою молекулою даної групи. МікроРНК-122 бере участь у проліферації та дозріванні гепатоцитів, стимулюючи експресію 24 специфічних генів, включаючи ядерний фактор б гепатоцитів, а також взаємодіє з численними генами-регуляторами метаболізму ліпідів та холестерину [75, 76]. У хворих на НАЖХП циркулюючі рівні мікроРНК-122 корелюють з рівнями АЛТ і, у порівнянні із класичними маркерами функційного стану печінки, такими як АСТ та цитокератин-18, є кращим показником тяжкості НАЖХП [43].

Висока діагностична точність мікроРНК-122 була підтверджена в перехресному дослідженні, проведеному Н. Yamada [77]. Аналіз складу сироваткових рівнів мікроРНК 403 хворих на НАЖХП дозволив виявити підвищення вмісту п'яти мікроРНК, включаючи мікроРНК-122 та мікроРНК-34а, проте саме рівень мікроРНК-122 корелював із важкістю стеатозу печінки [77]. Крім того, було продемонстровано, що рівні мікроРНК-122 були вищими у хворих на НАСГ у порівнянні із хворими на

неалкогольний стеатоз і корелювали зі ступенем запалення і фіброзу [78]. Аналогічні результати були отримані Cheung et al., які також підтвердили підвищення рівнів експресії мікроРНК-122 у пацієнтів з НАСГ [79]. Експериментальні роботи продемонстрували зміни експресії мікроРНК-122, які підвищувались навіть на ранніх стадіях формування НАЖХП, що потенційно позиціює мікроРНК-122 як первинний біомаркер у діагностиці НАЖХП [80, 81, 82].

Збільшення концентрації мікроРНК-122 було також виявлено при багатьох захворюваннях печінки, включаючи гепатити В та С (ВГВ, ВГС), а також пошкодження печінки, викликане алкоголем і наркотиками [83, 84, 85].

Рівні циркулюючих мікроРНК-122 у сироватці пацієнтів із хронічним вірусним ВГВ були набагато вищі, ніж у пацієнтів з НАЖХП, що обмежувало його значення в діагностиці НАЖХП [86]. Lacomino et al. досліджували характер змін складу мікроРНК, що циркулюють при ожирінні та виявили підвищення саме концентрації мікроРНК-122, яка зменшувалась на тлі зниження ваги [87].

У свою чергу Okamatsu-Ogura et al. виявили, що активність бурої ЖТ негативно пов'язана з рівнями мікроРНК-122 [88], що узгоджується зі зниженням її активності при формуванні ожиріння [89]. Багатовимірний регресійний аналіз показав, що саме активність бурої ЖТ, а не наявність ожиріння, є незалежним детермінантом сироваткового вмісту мікроРНК-122 [90].

Іншою мікроРНК, що є предметом сучасних досліджень як маркер при діагностиці НАЖХП, є мікроРНК-34а [91]. Kim et al. продемонстрували, що мішенню молекули мікроРНК-34а є транскрипт гена SIRT1 (silent information regulator1) — найбільш вивчений консервативний нікотинамідаденіндинуклеотид, асоційований із жировою дистрофією печінки, який відіграє сприятливу роль у регуляції метаболізму ліпідів у печінці, контролі печінкового окисного стресу та процесів запалення [92].

Wen et al. виявили зміни експресії мікроРНК-34а в тканині печінки, залучені до формування НАЖХП, а саме жирової дистрофії [93], а за даними експериментальної роботи Yan et al. збільшення експресії мікроРНК-34а корелювало з наявністю фіброзу [94].

Також при дослідженні групи мікроРНК у хворих на НАЖХП та ВГВ було продемонстровано підвищення саме мікроРНК-34а, що є більш специфічним для діагностики НАЖХП, ніж вірусного ураження печінки [95].

1.3. Роль кишкової мікробіоти в розвитку та прогресуванні неалкогольної жирової хвороби печінки на тлі ожиріння та надлишкової ваги

1.3.1. Сучасні дані про кишкову мікробіоту

Мікробіологічний склад кишкового вмісту людини включає різноманітні мікроорганізми головних біологічних доменів: бактерій, археїв, еукаріотів, а також вірусів. Дані мікроорганізми беруть участь у множинних фізіологічних та патофізіологічних процесах людського організму, безпосередньо та опосередковано впливаючи на метаболічні функції та імунні реакції, зокрема запалення [96].

Людський організм містить від 10 до 100 трильйонів мікроорганізмів, більшість із яких колонізують кишковий тракт; загальна кількість КМ досягає 10^{14} , загальна маса якої становить 1,5 кг [97]. Бактеріологічний склад КМ включає 4 основні філотипи: *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* та *Proteobacteria*. *Bacteroidetes* – є головним представником КМ, виявленим у 68 % обстежених осіб за даними M. Claesson et al., своєю чергою *Firmicutes* налічували 40 % бактерій [98]. Частота виявлення інших бактерій, включаючи *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Faecalibacteria*, *Verrucomicrobia* *Cyanobacteria* і *Lactobacillus*, була значно нижчою [99].

Одним із найбільш високотехнологічних методів дослідження складу кишкового мікробіому є секвенування гена 16S-rRNA з подальшим порівнянням із відомими базами даних бактеріальної послідовності.

Метагеномний аналіз шляхом секвенування всієї мікробної ДНК загальної кишкової спільноти має додаткові переваги для оцінки генетичного потенціалу мікробної популяції. Інші методики аналізу транскриптому, протеому та метаболому мікроорганізмів дають додаткову інформацію на рівні фізіологічних особливостей [100, 101].

У 2010 році було опубліковано дані Європейського проекту MetaHIT (Metagenomics of the Human Intestinal Tract) [102], за даними якого створено каталог із 9,8 млн мікробних генів, який зображає кількість та мінливість людської КМ. Генетичний склад КМ налічував 750 000 генів, що приблизно у 30 разів більше, ніж кількість генів у геномі людини. Близько 300 000 генів були однаковими для більш ніж 50 % людей [103]. А у 2019 році стартував проект Мільйон мікробіому людей (Million Microbiome of Humans Project), у якому науковці з Китаю, Швеції, Данії, Франції, Латвії та інших країн співпрацюватимуть у мікробних метагеномних дослідженнях та мають на меті секвенувати та проаналізувати один мільйон мікробних зразків із кишечника, ротової порожнини, шкіри, репродуктивного тракту та інших органів у найближчі три-п'ять років, скласти карту мікробіому людського тіла та створити найбільшу у світі базу даних мікробіому людини [104].

Склад КМ є індивідуальним у кожної людини й може бути його своєрідною «візитною карткою», формування якої триває протягом життя і є результатом комплексного впливу цілої низки факторів навколишнього середовища, харчування, застосування лікарських засобів і перенесені інфекційні захворювання [105].

1.3.2. Патогенетична роль кишкової мікробіоти в розвитку та прогресуванні неалкогольної жирової хвороби печінки на тлі ожиріння та надлишкової ваги

Відповідно до теорії «множинних ударів» розвитку та прогресування НАЖХП порушення мікробного складу КМ на теперішній час розглядають у якості одного з потужних патофізіологічних чинників [106, 107].

До розвитку НАЖХП призводять складні взаємодії між КМ, генетичними чинниками та факторами навколишнього середовища, які сприяють формуванню жирової дистрофії печінки та прозапальних змін, асоційованих із прогресуванням НАЖХП до стадії НАСГ [108].

Фізіологічна взаємодія між печінкою та кишечником – вісь «кишечник-печінка» – реалізується через тісний функціональний та анатомічний взаємозв'язок: приблизно 70 % кровопостачання печінки надходить із кишечника через систему порталної вени [109, 110], а слизова оболонка кишечника є імунологічним бар'єром, що перешкоджає транслокації бактеріальних антигенів із кишечника в порталну циркуляцію [111].

Патофізіологічні зміни кишечника, включаючи порушення проникності слизової оболонки, синдром надлишкового бактеріального росту (СНБР) і дисбіоз кишечника, через підвищення ендотоксинемії та вмісту ендogenous етанолу вносять значний внесок у розвиток і прогресування НАЖХП [112]. Вищезазначені чинники можуть запускати цитокіновий каскад, активуючи неконтрольовану імунну відповідь [113].

Про роль КМ в патогенезі НАЖХП свідчать дані експериментальних робіт, результати яких продемонстрували, що трансплантація фекального вмісту від тварин із експериментально індукованою гіперглікемією натще та гіперінсулінемією до здорових тварин сприяла формуванню у мишей-реципієнтів НАЖХП [114]. Результати профайлінгу 16S рДНК фекалій мишей із експериментально індукованою НАЖХП виявили надлишковий розвиток бактерій *Lachnospiraceae bacterium 609* та *Barnesiella intestini hominis* на тлі зниження кількості *Bacteroides vulgatus* [115].

Результати мета-аналізу п'яти клінічних досліджень (n = 128) продемонстрували вірогідне підвищення проникності кишкової стінки у хворих на НАЖХП у порівнянні зі здоровими добровольцями [116]. У свою чергу формування НАСГ було асоційоване із СНБР, підвищенням рівня ендотоксинемії та ФНП-альфа [117]; підвищення концентрації білка, що зв'язує сироватковий ліпополісахарид, корелювали з гістологічними змінами,

зокрема стеатозом [118], а результати дослідження взаємозв'язку між рівнем ендотоксинемії та ступенем лобулярного запалення і фіброзом обмежені та суперечливі [119, 120]. Опосередковано про залученість СНБР у розвиток НАСГ свідчить зростання рівня експресії TLR4 на CD14 + моноцитах, а також збільшення рівня інтерлейкіну-8 [121].

Склад КМ хворих на НАЖХП із нормальною вагою характеризувався зниженням співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes* та зростанням поширеності грамнегативних бактерій на тлі зменшення бактеріального різноманіття на рівні філотипів [7]. Аналіз складу КМ у хворих на НАЖХП, включаючи НАСГ, свідчить про переважання представників роду *Bacteroides* на тлі зменшення філотипу *Firmicutes* та *Actinobacteria* (табл. 1.1).

Таблиця 1.1

Зміни КМ при НАЖХП (за F. Grabherr et al., 2019) [122]

Розмір популяції зростає при НАЖХП	Розмір популяції зменшується при НАЖХП
<i>Bacteroides</i> (родина) <i>Ruminococcus</i> (родина) <i>Lactobacillaceae</i> (сімейство) <i>Lactobacillus</i> (родина) <i>Proteobacteria</i> (філотип) <i>E. coli</i> (штами)	<i>Actinobacteria</i> (філотип) <i>Bacteroidetes</i> (філотип) <i>Oscillobacter</i> (родина) <i>Prevotella</i> (родина) <i>Ruminococcus</i> (родина) <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> (штами) <i>Coprococcus</i> (родина) <i>Firmicutes</i> (філотип)

Проспективне крос-секційне дослідження, проведене Da Silva H.E. et al., продемонструвало, що формування НАЖХП асоційоване з дисбалансом кількості представників філотипу *Firmicutes* – бактерій *Lactobacillus* та сімейства *Lactobacillaceae* на тлі зменшення популяції *Ruminococcus*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Coprococcus* [123]. Харчування зі зниженим вмістом холіну хворих на НАЖХП протягом 6 тижнів призводило до змін КМ, які характеризувались позитивною кореляцією вмісту жиру

в печінці з кількістю *Gammaproteobacteria*, та негативною – з *Erysipelotrichia* [124].

Навпаки, результати дослідження Wang B. et al. визначили, що склад КМ у пацієнтів з НАСГ кількісно суттєво відрізнявся від складу КМ хворих на доброякісний стеатоз або ГЦК та характеризувався зниженням кількості бактерій, що належать до філотипу *Bacteroidetes* [125]. Крім того, ряд досліджень продемонстрували зв'язок розвитку НАСГ із підвищенням кількості таких видів, як: *Proteobacteria*, *Enterobacteria* та *Escherichia* [115] та *Bacteroides* [126].

Профайлінг КМ дітей на НАЖХП показав більшу кількість *Gammaproteobacteria* та *Prevotella* у порівнянні з КМ дітей, які страждають на ожиріння, але у яких були відсутні ознаки НАЖХП [127]. Крім того, при прогресуванні НАЖХП спостерігалось збільшення кількості *Proteobacteria* на тлі зниження *Firmicutes*, що свідчить про те, що стан КМ не може бути стабільними під час прогресування захворювання [7]. Недавні дослідження виявили високу поширеність НАЖХП в осіб, інфікованих *H. pylori*, що свідчить про наявність потенційного взаємозв'язку між наявністю цієї бактерії та розвитком жирової дистрофії печінки [128].

Склад КМ залежить також від ступеня фібротичних змін (фіброз мінімального та помірного ступеня), про що свідчить робота Loomba et al. [129]. Зміни КМ у хворих із вираженим фіброзом печінки характеризувались зростанням кількості філу *Proteobacteria* переважно за рахунок штаму *E. coli* на тлі зменшення філу *Firmicutes*. Такі особливості навели вчених на думку щодо можливості діагностики вираженого фіброзу, асоційованого з НАЖХП, за змінами складу КМ. Перебіг НАЖХП, асоційованому цирозу печінки, супроводжувався також вірогідними змінами КМ. У свою чергу Caussy C. et al. визначили взаємозв'язок цирозу печінки, асоційованому з НАЖХП, із надлишковим розвитком бактерій, що належать до сімейства *Enterobacteriaceae* та родів *Streptococcus* і *Gallibacterium*, у той час КМ здорових добровольців переважно характеризувалась представниками

Faecalibacterium prausnitzii та видів, що належать до родів *Catenibacterium*, сімейства *Rikenellaceae*, *Mogibacterium* та *Peptostreptococca* [130].

Декілька досліджень зазначили потенційну прогностичну роль складу КМ у розвитку НАЖХП у пацієнтів, що раніше не мали зазначеної патології. А вплив КМ на перебіг НАЖХП продемонстрований в останніх роботах Н. Kim et al. [131].

З іншого боку останніми роками були отримані дані щодо наявності специфічних бактерій із потенційною здатністю запобігати розвитку ожиріння та НАЖХП. Однією з них є грамнегативна бактерія, здатна до деструкції муцину, *Akkermansia muciniphila*. В експериментальних моделях на мишах і в дослідженнях у людей із надлишковою вагою та цукровим діабетом вміст *A. muciniphila* позитивно корелював із більш сприятливими метаболічними показниками [132].

Позитивна динаміка НАЖХП та НАСГ, що спостерігається під час лікування неабсорбованими антибіотиками, також може підтримувати теорію щодо потенційної ролі КМ у їхньому патогенезі. Короткочасне лікування неабсорбованим антибіотиком рифаксиміном хворих на НАЖХП та НАСГ було асоційоване з поліпшенням функції печінки [133]. Відповідно, тривале лікування антибіотиками протягом 6 місяців хворих на цироз печінки призводило до зменшення синдрому надмірного бактеріального росту в тонкому кишечнику та корелювало з поліпшенням функціонального стану печінки [134].

Узагальнюючи дані факти, ці асоціативні дослідження демонструють потенційний взаємозв'язок між бактеріальним складом кишкового вмісту та окремими таксонами НАЖХП: неалкогольним стеатозом або НАСГ. Однак ці дослідження обмежені відсутністю відтворюваності між когортами та пояснення взаємозв'язків порушень складу КМ та патофізіологічних механізмів розвитку і прогресування НАЖХП. Крім того, у більшості досліджень аналіз КМ проводився у зразках фекалій, які були відібрані з дистальних відділів ШКТ, бактеріальний склад яких відрізнявся

від проксимальних ділянок кишечника [135]. Дослідження ролі КМ у формуванні та прогресуванні НАЖХП також обмежено тим, що у більшості випадків спостерігається коморбідний перебіг НАЖХП, ожиріння та інших захворювань, що потребує прояснення в дослідженнях із більш детальним дизайном. Крім того, у хворих на НАЖХП часто спостерігаються невідповідні харчові звички та інші особливості способу життя, зокрема підвищений рівень стресу та зниження фізичної активності, що ускладнює розмежування впливу дієти та супутніх МЗ на перебіг захворювання печінки від наслідків, зумовлених змінами КМ [135].

Враховуючи все вищенаведене, можемо стверджувати, що залишається гостра потреба в проведенні подальших досліджень, спрямованих на прояснення ролі КМ у розвитку НАЖХП, а саме формуванні фібротичних змін, та визначення конкретних механізмів, через які КМ може реалізовувати свій вплив на організм людини, та обґрунтуванні можливості їхнього діагностичного використання.

1.4. Рання діагностика фіброзу у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки на тлі ожиріння та надлишкової ваги

Як було зазначено раніше, зважаючи на безсимптомний перебіг, НАЖХП залишається важко діагностованою патологією. На сьогодні важливим залишається відсутність ефективного та точного неінвазивного підходу для визначення фіброзу. У той час, як саме стадія фіброзу є найважливішим фактором, який корелює зі смертністю у даної групи хворих. Прогресуючий фіброз і цироз часто є кінцевими точками клінічних випробувань [20].

Біопсія печінки все ще вважається золотим стандартом діагностики НАЖХП, але вона є інвазивною та дорогою, з ризиком ускладнень, що перешкоджає її застосуванню при ранній діагностиці НАЖХП та для скринінгу великої популяції. Тому розробка економічно ефективних і

відтворюваних неінвазивних методів оцінки стадії фіброзу НАЖХП є важливим для скринінгу, моніторингу та лікування [137].

У численних дослідженнях вивчалися методи діагностики стадій фіброзу за допомогою візуалізації та неінвазивних тестів, але в тому чи іншому ракурсі вони мали свої недоліки.

Оцінка фіброзу при НАЖХП вважається найточнішим способом визначення ступеня тяжкості фіброзу. Кілька зовнішніх перевірок підтвердили, що NAFLD Fibrosis Score (NFS) має хорошу точність у визначенні або виключенні прогресуючого фіброзу [138, 139]. Порогове значення нижче -1,455 виключає прогресуючий фіброз (чутливість 51 % і специфічність 98 %) [140]. Проте, обмеженням цього показника є його низька чутливість.

Діагностична точність FibroMeter (комплекс із 7 тестів, призначених для визначення стадій фіброзу та характеристики запального процесу при трьох основних патологіях печінки: при ВГС, при алкогольній жировій хворобі печінки та НАЖХП), схожа з точністю оцінки фіброзу при НАЖХП [141]. Порогові значення $\leq 0,611$ і $\geq 0,715$ мають хорошу точність для включення та виключення прогресуючого фіброзу. Крім того, показник фіброзу при НАЖХП має більшу точність при діагностиці вираженого фіброзу, ніж при діагностиці прогресуючого фіброзу.

Індекс співвідношення аспартатамінотрансферази до тромбоцитів (АТПІ) був запропонований як простий тест для визначення стадії фіброзу насамперед для пацієнтів з ХГС [142] та мав хорошу точність для поширеного фіброзу (AUROC 0,80) [143], але мав помірні результати при НАЖХП (AUROC 0,77) [144] і менш надійні при ВГВ [145] та АЖХП. Отже, АТПІ є більш корисним для прогнозування, але не ідентифікації, розвиненого фіброзу і може бути простим інструментом для виключення запущеного фіброзу, тому він не зарекомендував себе в клінічній практиці [146].

Оцінка фіброзу 4 (Fibrosis Score 4 (FIB-4)) складається з чотирьох змінних: вік, АСТ, АЛТ та кількість тромбоцитів. Даний індекс був розроблений як неінвазивна панель для виявлення прогресуючого фіброзу у хворих з ВГС та ВІЛ [147], а пізніше був підтверджений у хворих на НАЖХП.

За результатами даного індексу, бали менше ніж 1,45 можуть виключити запущений фіброз [148], тоді як показник більше ніж 3,25 може вказувати на його наявність. Слід зазначити, що під час досліджень була виявлена низька специфічність даного індексу для хворих старших 65 років, що свідчить про те, що вік може впливати на точність цього методу [149].

Шкала BARD складається з ІМТ, співвідношення АСТ/АЛТ та цукрового діабету і була розроблена для виявлення значного фіброзу (по Бранту $\geq F3$) [150]. Основним його обмеженням є висока хибна позитивність, заснована на завищенні ІМТ та наявності цукрового діабету. Згодом була спроба вдосконалити шкалу BARD шляхом додавання показника ІР до вже досліджуваних показників. Це було перевірено на невеликій когорті з 107 хворих і призвело до покращення загальної оцінки чутливості та специфічності (AUC 0,88 проти 0,8) [151]. У групі хворих на НАЖХП, яка складалася з 242 осіб шкала BARD мала найнижчу специфічність, чутливість, індекс Юдена та прогностичні значення для прогнозування як значного фіброзу, так і цирозу в порівнянні з іншими моделями діагностики фіброзу печінки [152].

Нерасcore – модель, яка оцінює тяжкість фіброзу печінки та прогнозує клінічний результат. Включає чотири показники сироватки, а саме: альфа2-макроглобулін, гіалуронову кислоту, білірубін і ГГТП, а також вік і стать [153]. Дана модель при перевірці у дослідженні 242 хворих на НАЖХП мала хорошу діагностичну точність для визначення стадії фіброзу (AUC, чутливість і специфічність 0,73, 50,5 % і 88,3 % для стадії $\geq F2$, 0,81, 75,5 % і 84,1 %). % для стадії $\geq F3$ і 0,9, 87 % і 89 % для цирозу, відповідно) [154]. Згодом було проведено статистичний аналіз 21 дослідження із застосуванням

даної моделі у хворих на різні патології печінки та виявлено, що точність Ferascore була однаковою серед усіх етіологій захворювання для прогнозування цирозу, однак Ferascore мала кращу діагностичну здатність щодо поширеного та запущеного фіброзу при хронічному ВГС, хронічному ВГВ та АЖХП, ніж при НАЖХП та ВІЛ-інфікованому вірусному гепатиті [155].

Важливими в діагностиці фіброзу у хворих на НАЖХП є методи візуалізації: УЗД, КТ та МРТ, вони зазвичай використовуються в клінічній практиці для рутинної візуалізації печінки і можуть виявити багато патологічних станів, пов'язаних із печінкою, але не фіброз на початковій стадії [156, 157].

Транзиторна еластографія (Fibroscan) може ефективно ідентифікувати та оцінювати стадію фіброзу і має хорошу діагностичну точність для поширеного фіброзу й цирозу у хворих з ВГС [158], ВГВ [159], АЖХП [160] та НАЖХП [141]. Однак після проведення аналізу багатьох досліджень було показано, що еластографія має гарну чутливість і специфічність для цирозу різної етіології, однак меншу точність для початкових ступенів фіброзу [161]. Ще одним обмеженням цієї техніки є помилково підвищені значення при певних станах, таких як: гострий гепатит, позапечінковий холестаз, застій у печінці, застійна серцева недостатність, амілоїдоз печінки та нещодавнє вживання їжі [162]. Більше того похибка при вимірюванні жорсткості печінки може варіювати в межах 19 % випадків, і це в основному пов'язано зі збільшенням окружності талії та ІМТ, що часто спостерігається у пацієнтів на НАЖХП [163].

Імпульсна акустична радіаційна томографія (ARFI) діагностичний метод на основі ультразвуку, у якій низькочастотний акустичний імпульс використовується для вимірювання жорсткості тканин. ARFI є відносно недорогим методом, який має хорошу чутливість при оцінці запущеного фіброзу та цирозу, немалозначним є і те, що на його результати не впливає ні збільшення ІМТ, ні окружності талії [164]. Проте, кореляція між ARFI та

гістологією фіброзу печінки була статистично незначущою, метод не знайшов широкого застосування у клінічній практиці, і повідомлялося лише про декілька досліджень, які аналізували його.

Магнітно-резонансна еластографія (MRE) визначає стадію фіброзу за допомогою зображення поширення акустичних зсувних хвиль у печінці. У ретроспективному клінічному дослідженні, що включало 1377 пацієнтів, при проведенні MRE було ідентифіковано усі стадії фіброзу, включаючи фіброз легкого та помірного ступеня, і мав низьку частоту технічних невдач [165]. Попри те, що AASLD рекомендують проведення MRE як інформативного методу для виявлення запущеного фіброзу, висока вартість та невелика розповсюдженість обмежують його застосування [166].

Отже, на теперішній час чинні можливості інструментальних та лабораторних методів діагностики НАЖХП, зокрема фіброзу, обмежені високою похибкою при супутньому перебігу ожиріння та визначенням фіброзу лише на важких стадіях, що обумовлює пошук нових діагностичних алгоритмів виявлення хворих із ранніми стадіями фіброзу.

У попередніх розділах були розглянуті існуючі літературні джерела стосовно змін КМ у хворих як на НАЖХП, так і ожиріння; проте наведені дані є істотно суперечливими, а їх можливості в діагностиці НАЖХП маловивченими. Обмежені літературні дані також і стосовно змін КМ у хворих із супутнім перебігом НАЖХП та ожирінням, асоціації змін відносного складу КМ з патогенетичними ланками НАЖХП: формуванням прозапальних змін, порушень вуглеводного та ліпідного обмінів. Відсутні дані щодо змін КМ, що пов'язані з фіброзом при НАЖХП на тлі ожиріння, особливо на ранніх стадіях.

На сьогодні НАЖХП вийшла за рамки патології печінки. Розвиток жирової хвороби печінки проявляється не тільки в прогресуванні патологічного процесу в ній, але і в збільшенні частоти ускладнень МС, перш за все ожиріння, ЦД-2 типу та серцево-судинних захворювань. Особливості клінічного перебігу НАЖХП, відсутність специфічних проявів порушень

функції печінки ускладнюють ранню діагностику та спонукають вчених усього світу шукати альтернативні методи діагностики, особливо на ранніх стадіях.

Таким чином, враховуючи те, що НАЖХП є міждисциплінарною проблемою, тільки спільні зусилля різних спеціалістів (гастроентерологів, ендокринологів, терапевтів тощо) дозволять на ранніх стадіях виявити пацієнтів з даною патологією та запобігати виникненню та прогресуванню наслідків цього захворювання. Все вищезазначене обґрунтовує доцільність проведення повного глибинного та комплексного розуміння патогенетичних механізмів розвитку та прогресування НАЖХП, зокрема ролі КМ в їх реалізації, що може сприяти удосконаленню діагностичних методів, стратифікації пацієнтів та ідентифікації нових терапевтичних цілей. Як відомо, мікроорганізми, що колонізують кишечник, беруть активну участь у перетравленні їжі і сприяють абсорбції поживних речовин до кровообігу [167], взаємодії з імунною системою слизової оболонки, розпізнаванні антигенів, рекрутингу, проліферації та функціонування клітин-ефекторів і можуть впливати на організм господаря навіть на віддалених ділянках за допомогою модуляції мігруючих імунних клітин і через метаболіти, що надходять з кишечника до системної циркуляції, де вони можуть впливати на інші тканини. Бактеріальні компоненти й метаболіти, які перетинають епітеліальний бар'єр, потрапляють до кровообігу і можуть мати системний біоактивний ефект.

Даний огляд показує, що рівні мікроРНК-122 та 34a можна розглядати як перспективний неінвазивний тест для діагностики НАЖХП. Визначення вмісту даних мікроРНК може бути ефективним провідником для клініцистів щодо ранньої діагностики через свою високу чутливість. Також слід зазначити, що ІМТ може впливати на діагностичну ефективність, але в майбутньому необхідні додаткові дослідження цього аспекту.

Аналіз літератури виявив, що підвищені концентрації ФНП-альфа, вчСРП були значно пов'язані з підвищеним ризиком НАЖХП. Ці медіатори

запалення можуть слугувати біомаркерами для хворих на НАЖХП і розраховувати на нове розуміння етіології, а також ранню діагностику та профілактику.

Ще однією перспективною прогностичною моделлю для профілактики і лікування НАЖБП є КМ. Тому майбутні дослідження повинні бути зосереджені на визначенні прямого зв'язку між КМ та розвитком і прогресуванням даної патології, а також на вплив втручання, спрямованого на лікування дисбактеріозу і тяжкість захворювання печінки.

Проте чітких рекомендацій щодо комплексного підходу до ранньої діагностики фіброзу печінки при НАЖХП на цей час не існує, тому дана проблема потребує подальшого вивчення і створення алгоритму ранньої діагностики фіброзу у хворих на НАЖХП в залежності від ІМТ.

Узагальнені результати літературних джерел за дисертаційною темою опубліковані у статтях фахових видань України, затверджених ВАК України [168-170].

Результати досліджень поданого розділу опубліковані в наукових публікаціях:

1. Курінна ОГ, Кушнір ІЕ, Чернова ВМ, Черелюк НІ. Вплив немедикаментозного лікування на показники вуглеводного обміну у пацієнтів з неалкогольною жировою хворобою печінки та ожирінням. Сучасна Гастроентерологія. 2018;(3):42-7. doi: 10.30978/MG-2018-3-42.

2. Фадеєнко ГД, Гриднєв АЕ, Черелюк НІ, Куринная ЕГ. Роль кишечной микробиоты в развитии неалкогольной жировой болезни печени. Сучасна Гастроентерологія. 2019;(4):92-9. doi: 10.30978/MG-2019-4-92.

3. Фадеєнко Г. Д., Черелюк Н. І., Курінна О. Г. Зв'язок неалкогольної жирової хвороби печінки з порушеннями мікробного складу кишечника. Медицина сьогодні і завтра, 2019 р., № 1 (82), ст. 16-22.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дисертаційна робота є аналізом загальноклінічних, лабораторних і інструментальних методів дослідження, які проводилися на базі відділень гастроентерології та терапії, а також поліклінічного ДУ «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої НАМН України» (сертифікована ліцензія № МЗ 009214 від 29.09.2011 р., Міністерства охорони здоров'я України) у рамках науково-дослідної роботи «Розробити нову технологію персоніфікованого лікування хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки на тлі метаболічних порушень» (номер державної реєстрації № 017U003030) 2017-2019 р. та «Розробити шляхи індивідуалізованої корекції метаболічних порушень у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки на підставі вивчення кишкового мікробіому, регуляторних молекул та маркерів системного запалення» (номер державної реєстрації № 0120U000069).

Інструментальні дослідження проведені у відділенні функціональної та ультразвукової діагностики ДУ «Національний інститут терапії ім. Л. Т. Малої НАМН України» (свідоцтво про відповідність системи вимірювань вимогам ДСТУ ISO 10012:2005 № 01-0172/2018, чинне до 21.12.2021 р.).

Визначення гематологічних та біохімічних показників (показники вуглеводного та ліпідного обміну) крові проводили у клініко-діагностичній лабораторії ДУ «Національний інститут терапії ім. Л. Т. Малої НАМН України» (свідоцтво про відповідність системи вимірювань вимогам ДСТУ ISO 10012:2005 № 01-0173/2018, чинне до 21.12.2021 р.).

Імуноферментні та молекулярно-генетичні дослідження проводили в лабораторії імуно-біохімічних і молекулярно-генетичних досліджень (свідоцтво про відповідність системи вимірювань вимогам ДСТУ ISO 10012:2005 № 01-0175/2018, чинне до 21.12.2021 р.) зазначеної установи.

Передбачені заходи із забезпечення безпеки для здоров'я пацієнта, дотримання його прав, людської гідності та морально-етичних норм відповідають принципам GEB (1996 р.), Гельсінської декларації прав людини (World Medical Association Declaration of Helsinki, Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects) (1964–2000 pp.), Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (від 04 квітня 1997 р.), Міжнародної ради медичних наукових товариств, Міжнародного кодексу медичної етики (1983 р.) та відповідних правових актів, які регламентують проведення клінічних досліджень в Україні (Наказу МОЗ України № 639 від 01.10.2015 р. щодо змін у Наказі МОЗ України «Про затвердження Порядку проведення клінічних випробувань лікарських засобів та експертизи матеріалів клінічних випробувань і Типового положення про комісії з питань етики» від 23 вересня 2009 р. № 690, Цивільного кодексу України), на підставі чого проведення дисертаційного дослідження було ухвалено комісією з питань біоетики ДУ «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої НАМН України» згідно з протоколом № 3 від 30.03.2018 року.

Усім хворим напередодні участі в дослідженні надавалася письмова інформація відносно мети та суті дослідження, пацієнти були поінформовані щодо можливості залишити дослідження в будь-який час без додаткового пояснення свого рішення. До початку дослідження всі пацієнти, які пройшли скринінг і погодилися брати участь у дослідженні, підписали інформовану згоду.

2.1 Клінічна характеристика осіб, що залучені у дослідження

У дослідження включено 140 пацієнтів, серед яких основну групу склали 120 хворих з діагнозом НАЖХП (усім хворим було виключено інші фактори розвитку вторинного стеатозу печінки) на тлі ожиріння 1-3 ступенів або з надлишковою вагою ($IMT \geq 25$ -39,9 кг/м²) та 20 практично здорових добровольців (IMT 18,5-24,9 кг/м²).

Встановлення діагнозу НАЖХП відповідало міжнародній класифікації хвороб МКХ-10 згідно з Наказом № 826 Міністерства охорони здоров'я (МОЗ) України від 06.11.2014 року на основі критеріїв Американської асоціації з вивчення захворювань печінки (American Association for the Study of Liver Diseases, 2012) та Європейських Рекомендацій з діагностики та лікування НАЖХП, що вийшли у 2016 р. (European Association for the Study of the Liver et al. EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease) [171, 172, 173].

Для діагностики ожиріння та класифікації його ступеня використовували критерії ВООЗ [174], за розрахунковим показником ІМТ (Додаток А). Тип анатомічного розподілу ЖТ оцінювали за антропометричними показниками – окружність талії (ОТ), окружність стегон (ОС) і їх співвідношення (ОТ/ОС).

Основну групу склали 120 осіб: серед них було 59 чоловіків (49,2 %) та 61 (50,8 %) жінка. Групи мали реципрокний розподіл щодо віку та статі ($p > 0,05$). Медіана та інтерквартильний розмах віку хворих на НАЖХП в основній групі складала 48,5 [40,00; 59,00] років. Найбільша кількість хворих (39,17 %) мали вік 25–44 років, дещо меншу групи склали пацієнти 45–60 років (37,5 %), вік 60 і більше мали (23,3 %) (табл. 2.1).

Таблиця. 2.1

Розподіл основної групи хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки за віком і статтю (абс., %)

Гендерна приналежність	Кількість пацієнтів			Загальна кількість
	Молодий вік (25–44 років)	Середній вік (45–60 років)	Похилого віку (60 і більше)	
Чоловіки	31 (50,00)	18(29,03)	13 (20,97)	62
Жінки	16 (27,59)	27 (46,55)	15 (25,86)	58
Загальна кількість	47 (39,17)	45 (37,5)	28 (23,3)	120

Хворі були розподілені згідно з класифікацією вікових періодів життя людини ВООЗ. Всі пацієнти належали до найбільш працездатних категорій, а саме до молодого та середнього віку, що підкреслювало високу соціально-економічну значущість проблеми, такий відсоток осіб молодого віку свідчить про «помолодшання» НАЖХП та ожиріння, які мають спільні етіопатогенетичні механізми розвитку.

Кількість хворих на НАЖХП серед чоловіків вікової групи 25–44 років статистично значуще перевищувало даний показник жінок аналогічної вікової групи (критерій «хі»-квадрат Пірсона (КХП), $\chi^2 = 6,604096$, $df = 2$, $p < 0,03$) у порівнянні з жінками аналогічної вікової групи. НАЖХП на 30 % частіше зустрічалась серед чоловіків у порівнянні із жінками відповідної вікової групи. А серед вікової групи 45–60 років спостерігається протилежна тенденція: НАЖХП серед жінок виявлялася на 15 % частіше.

У контрольну групу увійшли 20 осіб, які не мали жодних скарг чи клінічно значущих відхилень з боку системи органів травлення, ознак стеатозу печінки та з нормальною вагою тіла, серед них було 8 чоловіків (40 %) та 12 жінок (60 %). Медіана та інтерквартильний розмах віку обстежених склали 46,30 [35,00; 56,00] років.

Тобто контрольна група за гендерним та віковим складом була репрезентативною когортою хворих на НАЖХП.

Більшу частку хворих основної групи складали хворі з тривалістю НАЖХП від 0 до 5 років (57,50 %) та від 5 до 10 років (28,33), у 14,17 % хворих тривалість захворювання на НАЖХП складала понад 10 років. Отже, в основній групі представлені всі терміни захворювання, що дозволяє інтерпретувати когорту репрезентативну за даними критерієм.

За тривалістю захворювання на НАЖХП хворі розподілилися наступним чином (табл. 2.2):

Таблиця 2.2

Розподіл хворих на НАЖХП за тривалістю захворювання, (абс., %)

Гендерна приналежність	Тривалість захворювання			Загальна кількість
	Від 0 до 5 років	Від 5 до 10 років	Більше 10 років	
Чоловіки	39 (62,90%)	18(29,03%)	5(8,06%)	62
Жінки	30 (51,72%)	16 (27,59%)	12 (20,69%)	58
Загальна кількість	69 (57,50%)	34 (28,33%)	17 (14,17%)	120

Пацієнти основної групи ($n = 120$) були розділені на дві підгрупи в залежності ІМТ. У I підгрупу увійшли хворі на НАЖХП із супутнім ожирінням (I–III ступенів), що за кількістю склало 85 хворих (70,83 % від усіх обстежених), а до II підгрупи було включено 35 хворих на НАЖХП та надлишкову вагу (29,17 % від усіх обстежених).

У залежності від ІМТ всі обстежені пацієнти I підгрупи (хворі на НАЖХП із супутнім ожирінням $n = 85$) були розділені за ступенем ожиріння. У 38 хворих (44,71 %) було діагностовано 1-ший ступінь ожиріння (ІМТ від 30,0 до 34,9 кг/м²). У 23 хворих (27,06 %) на НАЖХП було діагностовано 2-ий ступінь (ІМТ від 35,0 до 39,9 кг/м²). Та у 24 (28,24 %) пацієнтів – 3-тій ступінь ожиріння (ІМТ понад 40,0 кг/м²).

Аналіз антропометричних показників виявив, що ІМТ обстежених хворих у I підгрупі склав 36,50 [32,00; 40,60] кг/м², у II підгрупі – 28,00 [27,10; 29,35] кг/м² та в групі контролю 23,50 [21,35; 24,78] кг/м² (рис. 2.1).

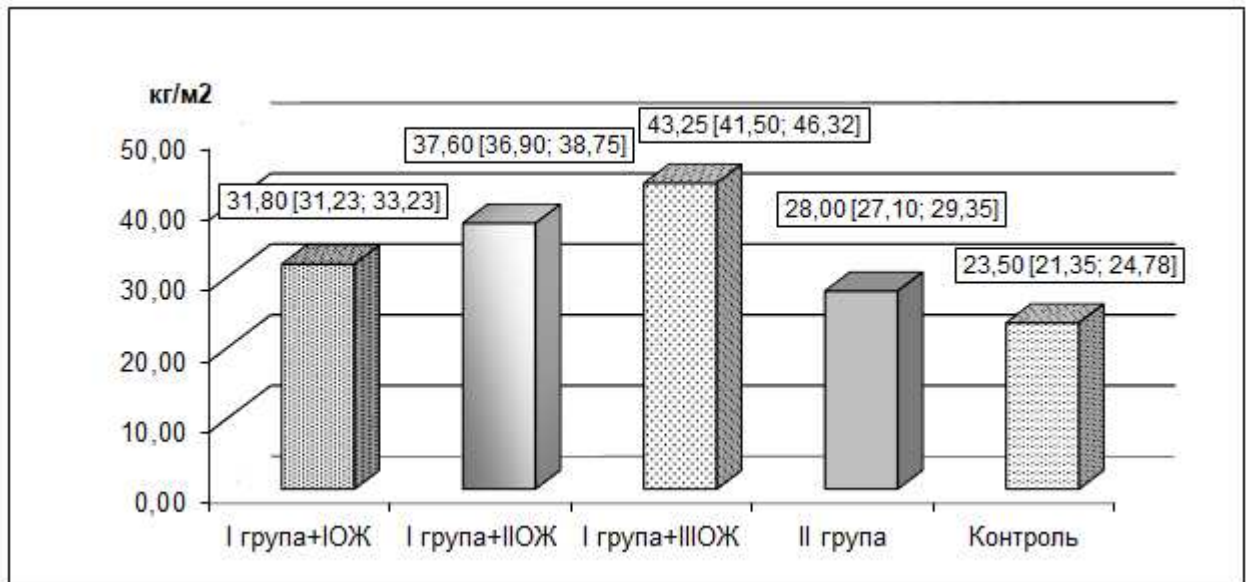


Рис. 2.1. Розподіл обстежуваних хворих на НАЖХП на тлі супутнього ожиріння в залежності від ІМТ

Пацієнтам, долученим до дослідження, було проведено УЗД черевної порожнини з визначенням ступеня стеатозу (рис 2.2) та фіброзу печінки (рис. 2.3).

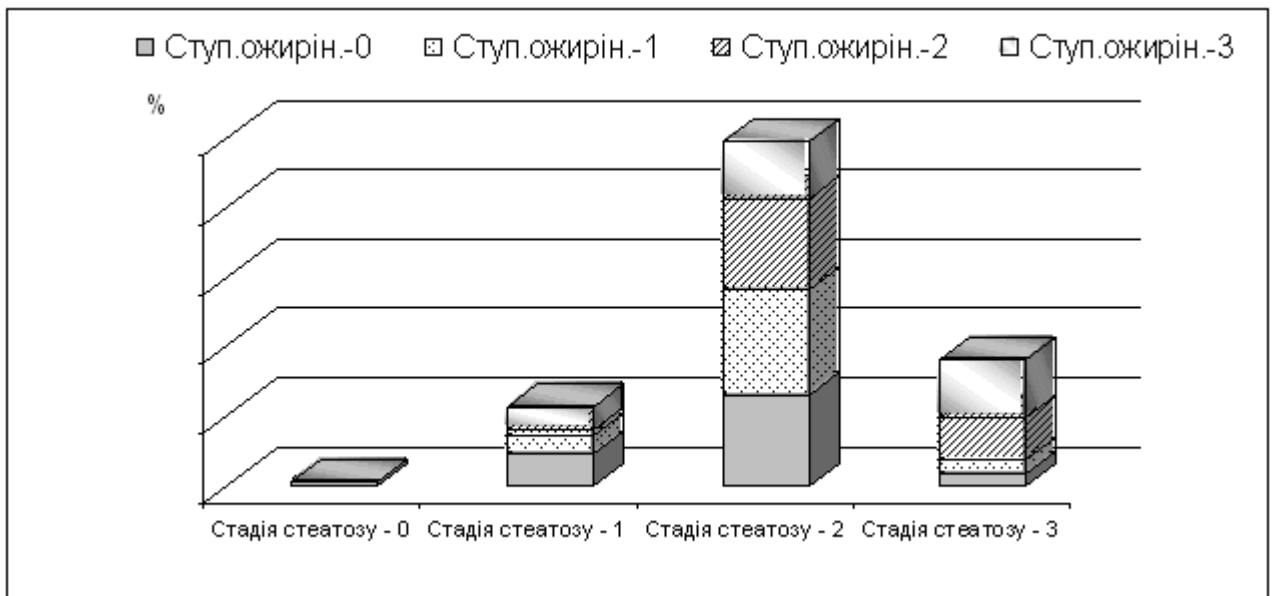


Рис. 2.2. Розподіл хворих на НАЖХП за ступенем стеатозу печінки в залежності від ступеня ожиріння

У хворих на НАЖХП та ожиріння I ст. ($n = 38$) у 5 пацієнтів (13,16 %) діагностовано 1-шу стадію стеатозу, у 29 (76,32 %) 2-гу стадію стеатозу та

3-тю стадію стеатозу діагностовано у 4 (10,53 %) пацієнтів. У хворих на НАЖХП та ожиріння II ст. ($n = 23$) результати наступні: в одного (4,35 %) пацієнта діагностовано 1-шу стадію стеатозу, у 15 пацієнтів (65,22 %) 2-гу стадію та у 7 (30,43 %) 3-тю стадію стеатозу. У хворих на НАЖХП та ожиріння III ст. ($n = 24$) результати такі: у 4 (16,67 %) пацієнтів діагностовано 1-шу стадію стеатозу та по 10 (41,67%) пацієнтів склали групи з 2-гою та 3-тньою стадією стеатозу.

У хворих на НАЖХП та надлишкову вагу у 9 (25,72 %) пацієнтів діагностовано стеатоз 1-ї стадії, у 23 (65,71 %) – 2-гої та у 3 (8,57 %) – 3-тю стадію стеатозу.

Треба приділити увагу тому, що розподіл частот має статистично значущий характер (КХП $\chi^2 = 19,40043$, $df = 9$, $p < 0,02$). Аналіз розподілу хворих за ступенем стеатозу печінки продемонстрував, що в досліджуваній групі превалювали хворі з 2 ступенем стеатозу. Також слід зазначити, що зі зростанням ступеня ожиріння зростає частка хворих із стеатозом 2-го та 3-го ступеня, що відповідає даним, оприлюдненим у науковій літературі відносно ролі ожиріння стосовно прогресування жирової дистрофії печінки.

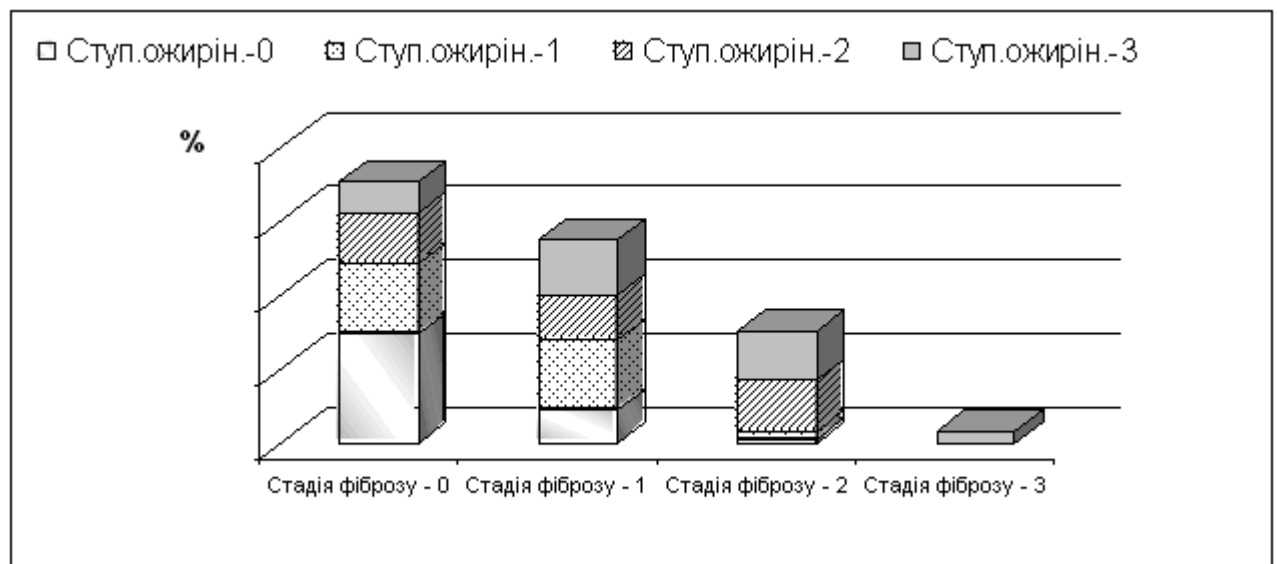


Рис. 2.3. Розподіл хворих на НАЖХП за ступенем фіброзу печінки в залежності від ступеня ожиріння

У хворих на НАЖХП та ожиріння I ст. ($n = 38$) у 18 пацієнтів (47,37 %) не було виявлено ознак фіброзу й у такої ж кількості діагностовано 1-шу стадію фіброзу, у двох (5,26 %) пацієнтів 2-гу стадію фіброзу, 3-тя стадія фіброзу не була діагностовано в жодного пацієнта. У хворих на НАЖХП та ожиріння II ст. ($n = 23$) результати наступні: у 8 (34,87 %) пацієнтів не виявлено ознак фіброзу, у 7 (30,43 %) виявлено 1-шу стадію, у 8 (34,87 %) – 2-гу стадію, 3-тя стадія фіброзу не діагностовано. У хворих на НАЖХП та ожиріння III ст. ($n = 24$) результати наступні: у 5 (20,83 %) пацієнтів не виявлено ознак фіброзу печінки, у 9 (37,50 %) діагностовано 1-шу стадію фіброзу, а у 8 (33,33 %) 2-гу стадію фіброзу, 3-тю стадію фіброзу виявлено у двох пацієнтів (8,33 %).

Треба зауважити, що при розподілі хворих за ступенем фіброзу печінки виявлено, що в досліджуваній групі превалювали хворі без ознак фіброзу (57 хворих) та у 42 хворих було діагностовано 1 ступінь фіброзу. Також слід зазначити, що при наявності ожиріння зростає частка хворих із фіброзом 1-го та 2-го ступеня. Виявлено також, що розподіл частот має статистично значущий характер (КХП $\chi^2 = 37,23985$, $df = 9$, $p < 0,002$).

2.2. Методи дослідження

2.2.1. Клінічне дослідження

Усім суб'єктам, включеним до дослідження, було проведено обстеження, що передбачало збір скарг, вивчення анамнезу шляхом опитування з метою з'ясування причинно значущих факторів для розвитку неалкогольної жирової хвороби печінки та ожиріння. Усім хворим було проведено традиційні методи дослідження, що включають аналіз антропометричних параметрів (ІМТ, ОТ, ОС, ОТ/ОС), вимір рівня систолічного та діастолічного артеріального тиску, біохімічний аналіз крові (АСТ, АЛТ, загальний білірубін, ЛФ, загальний білок і його фракції, загальний холестерин, ХС ЛПВЩ, ХС ЛПНЩ, ТГ), діагностика порушень толерантності до вуглеводів і ЦД (глюкоза в плазмі крові натще,

глікозильований гемоглобін визначався НОМА-IR), УЗ-дослідження органів черевної порожнини з метою оцінки ступеня стеатозу печінки.

Критерії залучення хворих у дослідження були наступні: наявність в анамнезі встановленого клінічного діагнозу НАЖХП на тлі ожиріння 1–4 ступеня та/або надлишкової ваги. Вік хворих становив 25–65 років.

Критерії вилучення: вік до 25 років та понад 65 років, онкологічні захворювання, зловживання алкоголем (споживання алкоголю більш ніж 40 мл етанолу на день для чоловіків та 20 мл для жінок протягом останнього року), хронічні вірусні (ВГВ, ВГС, ВГД) та аутоімунні гепатити, токсичні гепатити (в тому числі й медикаментозні: оральні контрацептиви, тамоксифен, аміодарон, метотрексат, кортикостероїди, вальпроат, антиретровірусні препарати тощо) та дані анамнезу хвороби щодо ураження печінки, що обумовленні хворобою Коновалова-Вільсона, ідіопатичним гемохроматозом, природженою недостатністю α 1-антитрипсину, ЦД, гіпер- та гіпотиреоз, вагітність та відмова пацієнта на будь-якому етапі дослідження, прийняття про/пре або симбіотичних засобів протягом 1–2 місяців перед включенням у дослідження та напередодні його, проведення антибактеріальної терапії з приводу будь-якого захворювання протягом найближчих 2 місяців, виконання трансплантації фекальної мікробіоти протягом останнього року.

2.2.2. Методи анкетування

З усіма пацієнтами було проведене інтерв'ю з метою визначення етіологічних факторів розвитку вторинної жирової дистрофії печінки та інших станів, що впливають на склад КМ. Оцінка енергетичної цінності та якісного складу добового раціону та харчових звичок було оцінено за допомогою щоденника харчування, який учасники заповнювали протягом 3 – 7 днів.

Для виключення алкогольного генезу стеатозу та стеатогепатиту використовували опитувальник AUDIT (Alcohol Use Disorders Identification

Test) – єдиний опитувальник, який має міжнародну стандартизацію та дозволяє виявити небезпечні та шкідливі наслідки зловживання алкоголем, а також можливу залежність від алкоголю. Опитувальник складається з 10 запитань, при відповіді на які у пацієнтів досліджують споживання (1–3), залежність (4–6), а також проблеми, пов'язані з алкоголем (7–10) (Додаток Б).

2.2.3. Лабораторні методи дослідження

Забір крові для біохімічних досліджень здійснювали з ліктьової вени з мінімальною перетяжкою джгутом у вакутайнери з гелем та активатором згортання для отримання сироватки та з K_3EDTA для отримання плазми крові.

Концентрацію глюкози у зразках венозної крові визначали фотометричним методом із використанням фотометра загального призначення «Humalyzer 2000» (Німеччина). Вміст глікозильованого гемоглобіну $HbA1c$ (%) визначали методом іонообмінної хроматографії згідно з інструкцією до набору реактивів виробництва «Human» (Німеччина) на фотометрі загального призначення «Humalyzer 2000» (Німеччина).

Ліпідний спектр крові –ЗХС, холестерин ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ), ТГ визначали ферментативним методом із використанням наборів реактивів виробництва «Human» (Німеччина) на біохімічному аналізаторі «Humastar 200» та фотометрі загального призначення «Humalyzer 2000» (Німеччина). Концентрацію ХС у складі ліпопротеїдів дуже низької щільності (ХС ЛПДНЩ) визначали за співвідношенням $TG/2,22$. ХС ЛПНЩ розраховували за стандартною формулою Friedewald W. T. та Коефіцієнта атерогенності (КА) за стандартною формулою.

Концентрацію інсуліну в сироватці крові визначали імуноферментним методом із використанням наборів реагентів виробництва «DRG International Inc» (США) згідно з інструкцією виробника. Чутливість аналізу до 1,5 мкОд/мл. Діапазон вимірювання від 1,76 до 100 мкОд/мл.

Індекс HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance) розраховували за формулою:

$$\text{HOMA-IR} = [\text{Концентрація глюкози в крові натще (ммоль/л)}] \cdot [\text{Концентрація інсуліну в крові натще (мкОД/л)}] / 22,5.$$

При індексі HOMA > 2,5 діагностували інсулінорезистентність.

Визначення вмісту вчСРП в сироватці крові проводили імуноферментним методом із використанням набору реактивів «hs-CRP ELISA» (DRG International Inc., США) згідно з інструкцією виробника. Чутливість аналізу до 0,1 мг/л. Діапазон вимірювання від 0,1 до 10 мг/л.

Концентрацію ФНП-альфа в сироватці крові визначали імуноферментним методом за допомогою набору реагентів «ИФА-TNF-alpha» виробництва «Цитокин» згідно з інструкцією виробника. Чутливість аналізу до 1 пг/мл. Діапазон вимірювання від 5 до 250 пг/мл.

Визначення вмісту мікроРНК-122 та 34а в плазмі крові проводили методом зворотної транскрипції та полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) в режимі реального часу із застосуванням специфічних праймерів та зондів.

МікроРНК виділяли з 300 мкл плазми крові методом сорбції на NucleoSpin[®]miRNA колонках з використанням набору реактивів «NucleoSpin[®]miRNA plasma» (Macherey-Nagel, Німеччина) відповідно до інструкції виробника.

Концентрацію мікроРНК визначали на флуорометрі «Qubit 3» (Life Technologies, США) з використанням набору реагентів «Qubit[™] microRNA» (Thermo Fisher Scientific).

Зворотну транскрипцію проводили з використанням наборів «TaqMan MicroRNA Reverse Transcription Kit» (Applied Biosystems) і специфічних петлевих праймерів Hsa-miR-34a (assay ID 002316, Applied Biosystems) та Hsa-miR-122 (assay ID 002130, Applied Biosystems).

Ампліфікацію проводили методом ПЛР в режимі реального часу за допомогою системи детекції «CFX96 Touch» (BioRad) з використанням наборів реагентів «TaqMan microRNA Assay» (Applied Biosystems) і «TaqMan

Universal PCR Master Mix» (Applied Biosystems) відповідно до інструкції виробника. У якості ендogenous контролю для зворотної транскрипції та ампліфікації використовували малу ядерну РНК U6 («U6 snRNA assay», ID 001973, Applied Biosystems). Відносний рівень мікроРНК розраховували як $2^{\Delta\Delta C_q}$ за допомогою програмного забезпечення CFX Manager Software Gene Expression Analysis (BioRad).

Визначення складу КМ на рівні основних філотипів проводили шляхом ідентифікації загальної бактеріальної ДНК і ДНК Bacteroidetes, Firmicutes і Actinobacteria методом кількісної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) в реальному часі (qRT-PCR) з використанням універсальних праймерів для гена 16S рРНК і таксон-специфічних праймерів виробництва Applied Biosystems (табл. 2.3) [175].

Для дослідження КМ свіжозібрані в стерильні контейнери зразки калу заморожували й зберігали до проведення екстракції при мінус 20 °С. ДНК екстрагували з 400 мг калу з використанням набору реактивів «Ribo-prep nucleic acid extraction kit» (AmpliSens) відповідно до інструкції виробника.

Концентрацію ДНК в екстрактах вимірювали за допомогою флуорометру Qubit 3 з використанням набору реактивів «Qubit dsDNA HS Assay Kits» (Thermo Fisher Scientific).

Таблиця 2.3

Bacterial 16S rRNA	послідовність
Universal	926F AAACCTCAAAGGAATTGACGG
	1062R CTCACRRCACGAGCTGAC
Bacteroidetes	798cfbF CRAACAGGATTAGATACCCT
	cfb967R GGTAAGGTTCTCTCGCGTAT
Firmicutes	928FFirm TGAAACTYAAAGGAATTGACG
	Firm1040R ACCATGCACCACCTGTC
Actinobacteria	Act920F3 TACGGCCGCAAGGCTA
	Act1200R TCRTCCCCACCTTCCTCCG

Зразки ампліфікували з усіма парами праймерів у трьох технічних повторях. У кожну постановку включали контроль без матриці.

Середнє значення C_q , отримане для кожної пари праймерів, було переведено у відсотки з використанням наступної формули Vacchetti De Gregoris T (1.1):

$$X = (E_{univ}^{\uparrow} Ct_{univ}) / (E_{spec}^{\uparrow} Ct_{spec}) \cdot 100 \% \quad (1.1)$$

де

X – відсоток кількості 16S-таксон-специфічних копій, присутніх в зразку;

E – ефективність реакції ампліфікації для універсального і таксон-специфічних праймерів;

$Ct (univ \text{ і } spec)$ – порогові цикли, зареєстровані в реакції з універсальними й специфічними праймерами для аналізованого зразка. Ефективність ампліфікації для кожної пари праймерів визначали з використанням програмного забезпечення CFX Manager Software.

2.2.4. Інструментальні методи дослідження

Визначення антропометричних показників включало вимірювання зросту в метрах (ростомір № 11222, Україна); визначення маси тіла (ваги для статичного зважування електронні ТВ1-300-100-(500x500)-12 ера, зав. № 30738, Україна). Вирахування індексу маси тіла (ІМТ) проводилося за формулою Кетле (1.2):

$$IMT = MT / P^2, \quad (1.2)$$

де

MT – маса тіла, кг;

P – зріст, м.

Вимірювання ОТ проводилося гнучкою стрічкою на рівні пупка та ОС на рівні трохантерних відростків. Індекс талія/стегно (ІТС) вираховували за формулою (1.3):

$$ITS = OT/OC \quad (1.3)$$

Вимірювання артеріального тиску непрямим методом Н. С. Короткова (офісне вимірювання) проводили в положенні сидячи в зручній позі після 10–

15 хвилин відпочинку, використовуючи сфігмоманометр зав. № 31304500 (Erka, Chemnitz, Німеччина).

Визначення складу тіла проводилось за допомогою біоімпедансометрії (OMRON BF 511, зав. № 20180102074). Дослідження проводилося з дотриманням усіх вимог для обстеження (не менше, ніж через дві години після сніданку). Інтерпретація результатів вимірювання вмісту ЖТ в організмі, % ВЖ та % СкМ проводилася за показниками таблиць приладу OMRON (Додаток В).

Визначення ступенів стеатозу за критерієм NAS та фіброзу за шкалою METAVIR було здійснено шляхом дослідження гепатобіліарної системи (ультразвукова скануюча система Soneus P7) за коефіцієнтом затухання хвилі (КЗ) та зсувнохвильової еластометрії (ЗХЕ), відповідно. Значення КЗ від 1 до 2,2 дБ/см свідчило про відсутність стеатозу, значення від 2,2 до 2,3 дБ/см – стеатоз I ступеня, від 2,3 до 2,9 дБ/см – стеатоз II ступеня, а від 2,9 до 3,5 дБ/см – стеатоз III ступеня. Своєю чергою значення коефіцієнта ЗХЕ від 0 до 5,8 кПа свідчило про відсутність фіброзу, від 5,8 до 7,0 кПа – про фіброз F1, від 7,0 до 9,5 кПа – F II, від 9,5 до 12,5 кПа – F III, понад 12,5 кПа – F4, цироз.

Діагностика синдрому надмірного бактеріального росту була проведена за допомогою вимірювання концентрації водню в повітрі, що видихається, у динаміці після вживання 50 г глюкози (газоаналізатор Gastro + Gastrolyzer, № 12-8989, Великобританія).

2.2.5. Розвідувальний мікробний аналіз

Спочатку на етапі залучення пацієнтів до дисертаційної роботи були включені хворі на НАЖХП не тільки з ожиріння ($n = 67$), а з іншими супутніми МЗ, такими як ЦД 2-го типу ($n = 20$) та ГХ ($n = 33$).

Розглянуто залежність якісного складу мікробного пейзажу від наявності супутньої патології і встановлено, що вона дещо впливала на розподіл основних філотипів КМ. Так при коморбідному перебігу НАЖХП + ОЖ + IP відзначалися відносно високий вміст *Firmicutes* –

54,12 [44,38; 69,39] % та зростання індексу *Firmicutes/Bacteroidetes* – 5,27 [3,89; 11,69].

Відносна кількість *Bacteroidetes* також вірогідно відрізнялась у хворих на НАЖХП + ОЖ + ІР у порівнянні з групою контролю (10,26 [6,45; 15,07] % проти 34,65 [24,58; 43,53] %, відповідно). Схожа картина мікробного пейзажу відмічалась і при НАЖХП та ІР: *Firmicutes* 53,01 [41,98; 67,18] %, індекс *Firmicutes/Bacteroidetes* – 4,23 [2,59; 9,81], *Bacteroidetes* – 12,52 [9,19; 17,97] %. Відносна кількість *Actinobacteria* майже не відрізнялась у даних групах – 5,57 [3,01; 9,86] % та 5 [2,87; 9,14] % відповідно (рис. 2.4).

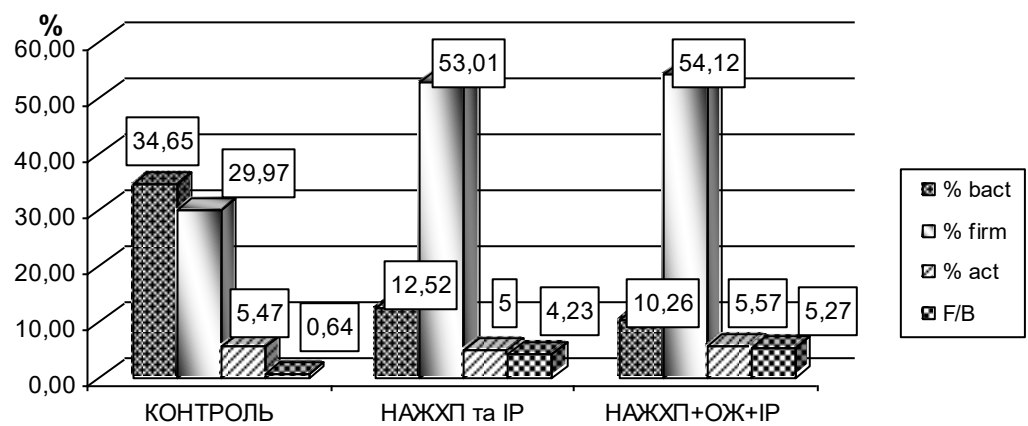


Рис. 2.4. Зміни кишкової мікробіоти у хворих з коморбідним перебігом НАЖХП + ІР та НАЖХП + ОЖ + ІР на НАЖХП у порівнянні з групою контролю

Надалі, при використанні коду супутньої патології відзначені статистично значущі асоціації зі співвідношенням *Firmicutes/Bacteroidetes* у порівнянні з групою контролю. Так у хворих при коморбідному НАЖХП + ОЖ + ЦД2 та НАЖХП + ОЖ + ГХ було виявлено вірогідне підвищення цього індексу – 3,08 [1,87; 7,49] та 2,7 [1,34; 6,27], відповідно, тоді як при коморбідному перебігу НАЖХП + ГХ + ЦД2 відзначався дещо нижчий показник співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes* – 2,3 [1,05; 7,32] ($p < 0,05$). Відносна кількість *Actinobacteria* була майже однаковою –

4,35 [2,78; 8,17] %, 4,91 [3,0; 9,1] % та 5,09 [3,67; 9,49] %, відповідно (рис. 2.5).

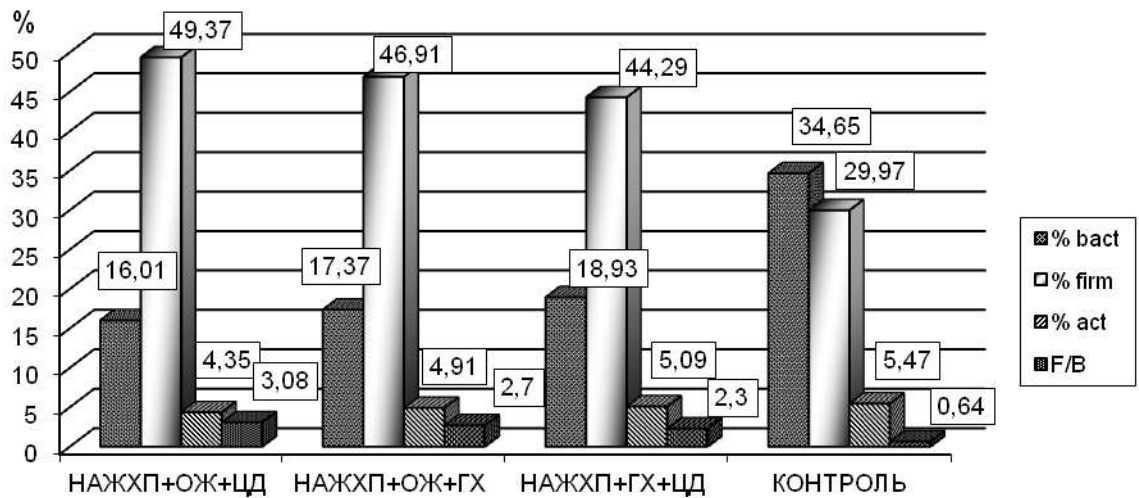


Рис. 2.5. Зміни кишкової мікробіоти у хворих з коморбідним перебігом НАЖХП + ОЖ + ЦД₂, НАЖХП + ОЖ + ГХ та НАЖХП + ГХ + ЦД₂ у порівнянні з групою контролю

Враховуючи результати, отриманих нами даних було прийнято рішення виключити хворих на НАЖХП та супутні МЗ, окрім ожиріння.

Після набору пацієнтів до дисертаційної наукової роботи був розроблений алгоритм дослідження. Спочатку пацієнти були розділені в залежності від ІМТ на I підгрупу – хворі на НАЖХП із супутнім ожирінням та на II підгрупу – хворі на НАЖХП та надлишкову вагу. Потім у залежності від стадії НАЖХП відбувся поділ на ІА підгрупу хворі на НАСЗ із супутнім ожирінням, ІБ підгрупу хворі на НАСГ із супутнім ожирінням та ІА підгрупу хворі на НАСЗ та надлишковою вагою та ІБ підгрупу хворі на НАСГ та надлишку вагу.

При дослідженні співвідношення основних філотипів КМ в обстежуваних підгрупах було виявлено, що в підгрупі ІА відносне співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes* склало 6,96 [1,57; 8,39], у підгрупі ІБ 8,68 [1,77; 10,40], у підгрупі ІА 5,25 [1,14; 7,37] та в підгрупі ІБ 3,30 [1,17; 6,17]. Хоча дані показники не мали статичної значущості між

вказаними підгрупами, але вірогідно відрізнялись від результатів контрольної групи: співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes* склало 0,64 [0,52; 1,47]. Збільшення співвідношення у досліджуваних підгрупах було пов'язане зі збагаченням КМ бактеріями типу *Firmicutes* 51,91[42,6; 64,96] %, 53,65 [41,85; 69,66] %, 48,35[37,47; 62,99] %, 44,31[37,43; 62,80] % підгруп ІА, ІБ, ІІА, ІІБ відповідно. Відносний вміст *Firmicutes* майже не відрізнявся між підгрупами, однак вірогідно відрізнявся від групи контролю 34,65 [24,58; 43,53] %. А ось відносний вміст *Bacteroidetes* був навпаки збіднений і становив у підгрупі ІА 18,77 [8,10; 26,09] %, у ІБ 18,79 [5,78; 25,76] %, у ІІА 24,69 [8,38; 34,04] % та в ІІБ 25,19 [12,93; 37,44] %, треба відзначити, що, крім того, показники не були вірогідними між підгрупами: у підгрупах ІІА та ІІБ не було виявлено вірогідності і з групою контролю 29,97 [22,52; 41,75] %. При цьому відносна кількість *Actinobacteria* майже не відрізнялась ні в одній із наведених підгруп та групою контролю 8,66 [3,81; 9,61] %, 8,95 [2,63; 9,00] %, 5,05[1,37; 6,85] % 10,80[2,75; 17,95] % та 4,92 [2,63; 9,00] % відповідно (рис. 2.6.).

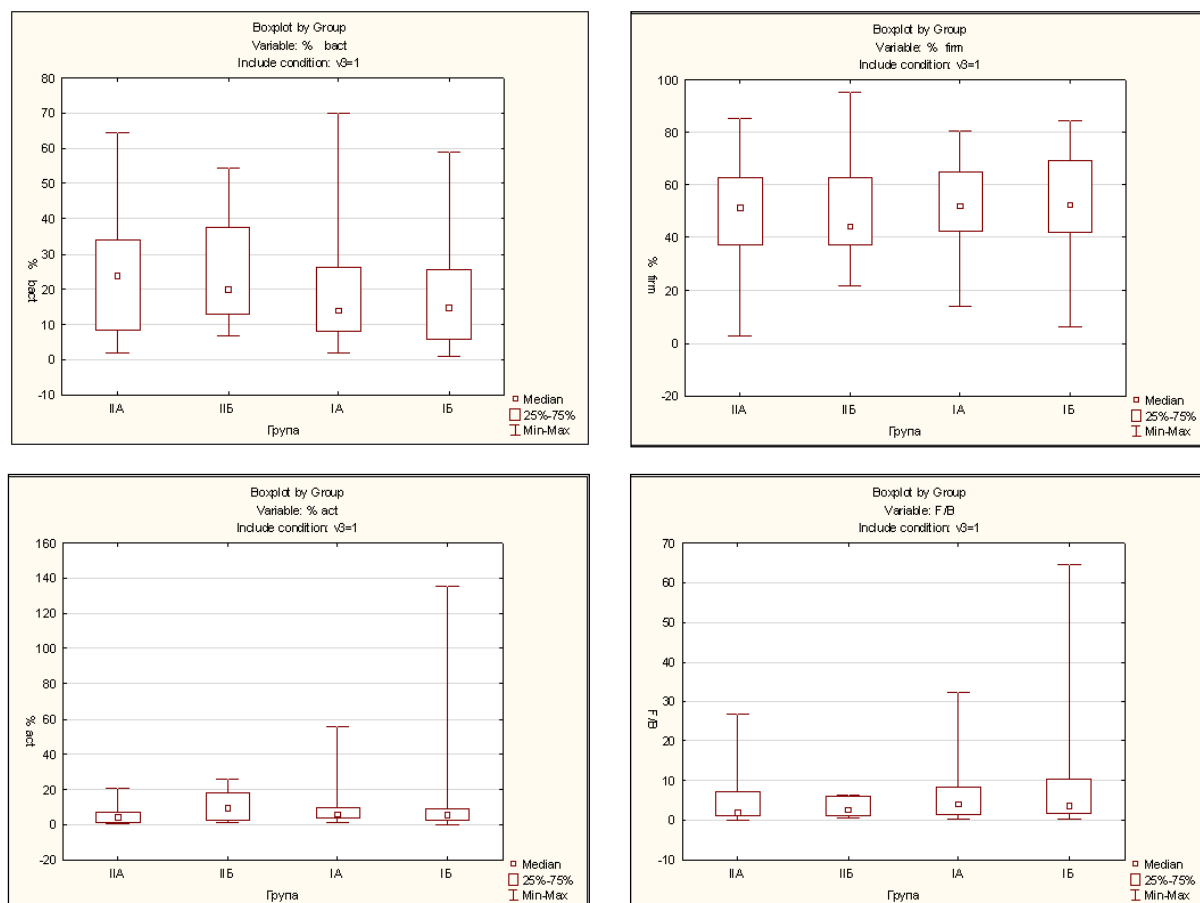


Рис. 2.6. Відносний склад кишкової мікробіоти хворих із НАСЗ та тлі ожиріння (IA), хворих із НАСГ на тлі ожиріння (ІБ), хворих із НАСЗ та надлишковою вагою (IIA) та хворих на НАСГ та надлишковою вагою (IIB): %firm – відносний склад *Firmicutes*; %bact – відносний склад *Bacteroidetes*; F/B – співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes*

Слід зазначити, що при аналізі відносного складу КМ не виявлено статистично значущих розбіжностей між підгрупами. З огляду на високу поширеність і зростання захворюваності на НАЖБП у всьому світі та її тісний взаємозв'язок із КМ, дослідження, присвячені вивченню мікробіому, відкривають великі можливості в діагностиці та лікуванні НАСЗ/НАСГ. Попри значні успіхи в кореляції змін КМ з НАЖХП, специфічний молекулярний механізм, що лежить в основі взаємодії господар-середовище-мікробіом, який бере участь у розвитку і прогресуванні НАСЗ/НАСГ, залишається значною мірою не з'ясованим. Проте, через значні відмінності

в результатах, представлених у клінічних дослідженнях, цілком імовірно, через різні експериментальні модулі, не можливо зробити висновок про те, які зміни в складі мікробіоти можна очікувати у хворих даної групи. Отже, повинні бути проведені більш масштабні дослідження з урахуванням усіх факторів, що впливають на розвиток і прогресування у хворих з НАСЗ/НАСГ.

Було прийнято рішення не розділяти групи в залежності від ступеня стеатозу (рис. 2.7).

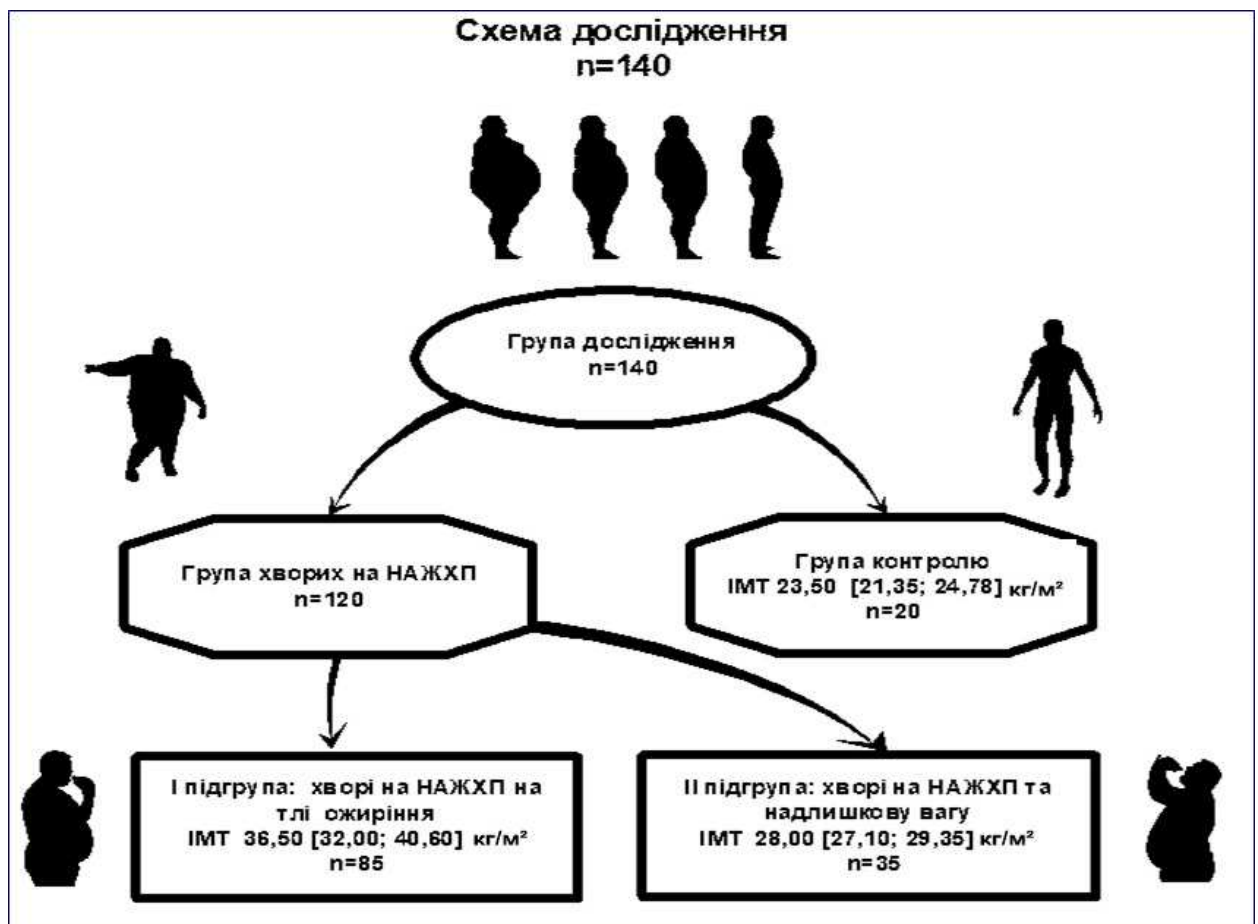


Рис. 2.7. Схематичний розподіл пацієнтів на групи і підгрупи.

2.2.6. Методи математичної статистики

Статистична обробка даних виконувалась за допомогою пакету статистичних програм SPSS (version 17.0 for Windows; SPSS, Chicago, IL). Для перевірки ознаки на нормальність використовували критерій

Колмогорова-Смірнова. Враховуючи розподіл досліджуваних ознак, для описання та порівняння показників, розподіл яких відрізнявся від нормального, використовували непараметричні методи: обчислення медіани та інтерквартильного розмаху Me [25; 75]; критерій Манна-Уїтні. Порівняння якісних ознак, а також дослідження частоти виявлення показників проводили за допомогою критерію χ^2 з аналізом таблиць спряженості. Аналіз динаміки досліджуваних показників проводили з використанням критерію Уїлкоксона для пов'язаних вибірок. Кореляційні зв'язки оцінювали за коефіцієнтом кореляції Пірсона для кількісних ознак, що розподілені за нормальним законом, за коефіцієнтом Спірмена при інших видах розподілу та коефіцієнтом Кендала для якісних та кількісних показників. Для оцінки впливу фактору на досліджувані ознаки використовували непараметричний дисперсійний аналіз Краскела-Уоллеса (H-критерій).

Для побудови моделі використовували логістичний регресійний аналіз, у якому значущість використаних в моделі предикторів оцінювали за статистикою Вальда. Для перевірки якості моделі використовували критерій Нейджелкерка (R^2) та Хосмера-Лемешова (HL), а для оцінки ефективності моделі та порівняння її з монопредикторами використовували ROC-аналіз (а саме, площу під кривою, AUC).

Розходження між порівнюваними показниками вважалися вірогідними, якщо значення вірогідності дорівнювало або перевищувало 95% ($p < 0,05$).

У резюме надано загальну клінічну характеристику обстежуваних хворих, відповідний їх розподіл на репрезентативні групи, визначені методи обстеження та їх обґрунтування.

Так, під час розвідувального мікробного аналізу було виявлено, що найбільш значущі порушення стану КМ були виявлені у хворих з коморбідним перебігом НАЖХП + ОЖ + ІР.

Вірогідне збільшення співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes* у порівнянні з групою контролю спостерігалось у хворих із коморбідним

перебігом НАЖХП + ОЖ, НАЖХП + ОЖ + ЦД2, НАЖХП + ОЖ + ГХ, НАЖХП + ГХ + ЦД2.

Отримані дані свідчать про патофізіологічний зв'язок між КМ та МЗ, характерною ознакою яких є порушення кількісного складу КМ на рівні основних філотипів, які так чи інакше відзначались у хворих на НАЖХП у поєднанні з ЦД 2 типу, ожиріння, ІР та ГХ.

Таким чином, попри значні міжіндивідуальні відмінності в КМ людини на нижчих таксономічних рівнях, домінуючими філотипами є *Bacteroidetes* і *Firmicutes*, тому, на наш погляд, співвідношення саме цих філотипів може бути загальним показником стану КМ та мати суттєву діагностичну цінність, однак, зважаючи на те, що супутні МЗ значною мірою впливають на стан КМ, у дослідження залучені хворі на НАЖХП тільки на тлі ожиріння та надлишкової ваги, які потенційно можуть мати порушення відносного вмісту КМ та рівня мікроРНК-122 та мікроРНК-34а. До дослідження включали хворих на НАЖХП, верифікованою відповідно до сучасних міжнародних, Європейських та Українських протоколів. У дослідженні не брали участь пацієнти з вторинною жировою дистрофією печінки та декомпенованими станами. Дизайн дослідження відповідав меті та завданням роботи. Обстежені пацієнти (хворі на НАЖХП на тлі ожиріння, хворі на НАЖХП та надлишкову вагу, здорові особи) є репрезентативними за статтю та ІМТ. У роботі використані сучасні високоінформативні й економічно доступні методи дослідження. Визначення вмісту мікроРНК-122 та мікроРНК-34а в плазмі крові проводили методом зворотної транскрипції та ПЛР у режимі реального часу із застосуванням специфічних праймерів та зондів. Визначення складу КМ на рівні основних філотипів проводили шляхом ідентифікації загальної бактеріальної ДНК і ДНК *Bacteroidetes*, *Firmicutes* і *Actinobacteria*. Аналіз проводили методом кількісної ПЛР qRT-PCR, використовуючи відповідні праймери для гена 16S рРНК. Визначення ступенів стеатозу за критерієм NAS та фіброзу за шкалою METAVIR здійснено шляхом дослідження гепатобіліарної системи (ультразвукова

скануючи система Soneus P7) за КЗ та ЗХЕ, відповідно. Використанні сучасні високотехнічні методи дослідження за стандартизованими методами, які дають змогу отримати вірогідні результати. Статистична обробка даних проводилась стандартними сучасними як параметричними, так і непараметричними методами.

Результати власних досліджень за дисертаційною темою оприлюднені на міжнародних конференціях [176], опубліковані в статтях, що затверджені ВАК України [177] та опубліковані в статтях, що цитуються в бібліографічній базі SCOPUS [178].

Результати досліджень поданого розділу опубліковані в наукових публікаціях:

1. Фадеєнко ГД, Черелюк НІ, Гальчінська ВЮ. Стан кишкової мікробіоти у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки в залежності від коморбідного перебігу на тлі асоційованих з метаболічним синдромом захворювань. В: Матеріали наукового симпозиуму з міжнародною участю «Неінфекційні захворювання: ключові чинники, що впливають на якість та тривалість життя»; 2020 лист. 4; Харків, Україна. Харків; 2020. с.161.

2. Фадеєнко Г. Д., Черелюк Н. І. Співвідношення основних філотипів кишкової мікробіоти у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки на тлі ожиріння та його зв'язок зі стадією стеатозу печінки. Сучасна гастроентерологія. 2020;6(116):14-20. doi:10.30978/MG-2020-6-14.

3. Фадеєнко ГД, Черелюк НІ, Гальчінська ВЮ. Метаболічні захворювання та неалкогольна жирова хвороба печінки-особливості стану кишкової мікробіоти. Проблеми ендокринної патології. 2020;(4):99-105. doi:10.21856/j-PER.2020.4.13.

РОЗДІЛ 3

КЛІНІЧНІ, АНТРОПОМЕТРИЧНІ ТА МЕТАБОЛІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ХВОРИХ НА НЕАЛКОГОЛЬНУ ЖИРОВУ ХВОРОБУ ПЕЧІНКИ НА ТЛІ ОЖИРІННЯ ТА НАДЛИШКОВОЇ ВАГИ

3.1. Клінічний перебіг, антропометричні та метаболічні особливості у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки на тлі ожиріння та надлишкової ваги

При аналізі суб'єктивних проявів захворювання у хворих на НАЖХП та супутнє ожиріння була виявлена більш виражена клінічна симптоматика, ніж у хворих на НАЖХП та надлишкову вагу. Так основними скаргами у хворих I підгрупи було суб'єктивне відчуття зниження толерантності до фізичних навантажень, яке відмічалось у 80 %, важкість у правому підребер'ї майже у 72 % та астеничний синдром у 64 %. У II підгрупі, як і було зазначено раніше, дані скарги були менш виражені й склали 23 %, 34 % та 23 % відповідно. Прояви порушення дефекації спостерігались тільки у 6 % хворих як у I, так і в II підгрупі.

Треба зауважити, що для досліджуваних хворих на НАЖХП не була характерна нудота. Так, у I підгрупі скарги на нудоту були виявлені лише у 11 %, а в II підгрупі були відсутні зовсім та мали статистично значущий характер (КХП, $\chi^2 = 4,006359$, $df = 1$, $p < 0,45$). Періодичний біль у правому підребер'ї спостерігався у 25 % пацієнтів I підгрупи, у той час для пацієнтів II підгрупи це було зовсім не характерно (КХП, $\chi^2 = 7,90446$, $df = 1$, $p < 0,01$). Прояви диспепсичного синдрому склали 39 % у I підгрупі та 43 % в II підгрупі, гіркота в роті спостерігалась у 18 % у I підгрупі та 6 % у II підгрупі. Дані щодо скарг обстежених пацієнтів наведені на рисунку 3.1.

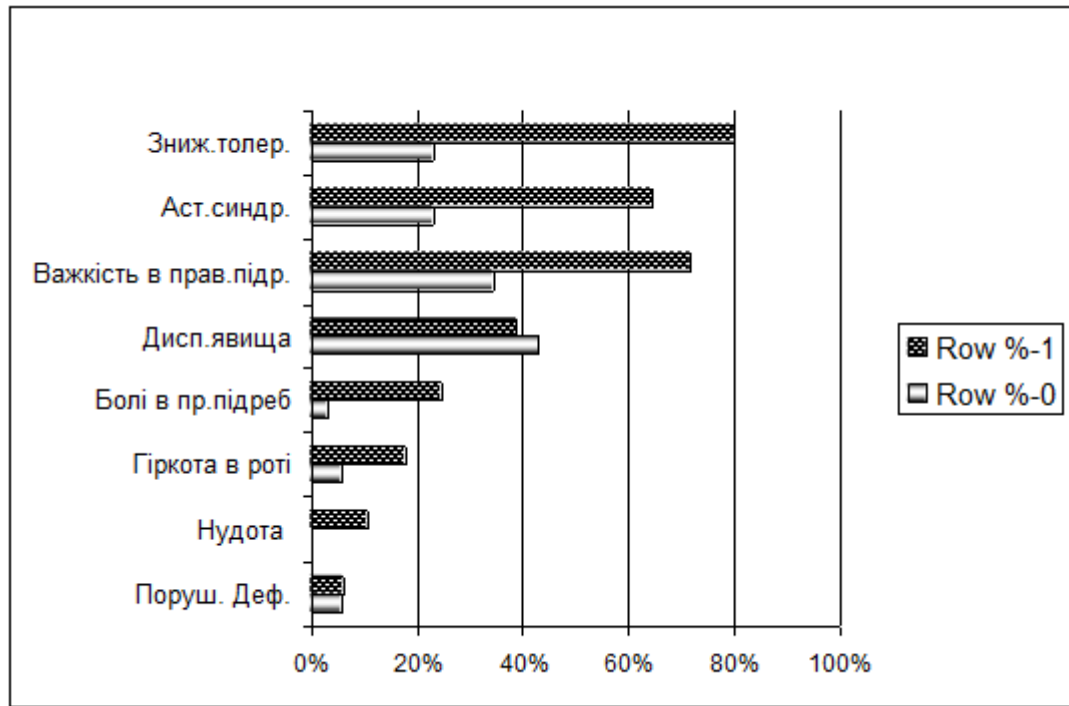


Рис. 3.1. Суб'єктивні скарги хворих на НАЖХП:(1) – наявність скарг, (0) – відсутність скарг

Згідно з отриманими даними у хворих на НАЖХП, в обох підгрупах, були виявлені статистично значущі зміни антропометричних показників у порівнянні з групою контролю: так у хворих із супутнім ожирінням було виявлено підвищення ІМТ та ОТ у 1,55 рази ($p < 0,01$), ОС у 1,21 рази ($p < 0,01$) та ОТ/ОС у 1,28 рази ($p < 0,01$). Дана тенденція спостерігалась і у підгрупі з надлишковою вагою: ІМТ був підвищений у 1,9 рази ($p < 0,01$), ОТ у 1,32 рази ($p < 0,01$), ОС у 1,21 рази ($p < 0,01$) та ОТ/ОС у 1,20 рази ($p < 0,01$). Слід зазначити, що ці показники були статистично значущі й між першою та другою підгрупами (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Антропометричні показники хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги та групи контролю

Показники	Групи обстежених		
	НАЖХП на тлі ожиріння (n = 85)	НАЖХП з надлишковою вагою (n = 35)	Контроль (n = 20)
ІМТ, кг/м ²	36,5[32,00; 40,60]	28,00[27,10; 29,34]	23,50[21,35; 24,78]
ОТ, см	119,00 [108,00; 128,00]	101,00 [92,00; 113,00]	76,50 [72,00; 80,50]
ОС, см	116,00 [108,00; 126,00]	104,00 [99,00; 108,00]	95,50 [88,50; 101,00]
Індекс ОТ/ОС	1,05 [0,96; 1,10]	0,99 [0,90; 1,10]	0,82 [0,77; 0,84]
ЖТ%	41,70 [36,30; 49,60]	30,40 [28,60; 35,50]	29,20 [23,50; 37,70]
СкМ%	24,60 [21,30; 28,30]	28,40 [25,40; 30,60]	29,40 [25,90; 29,70]
ВЖ%	19,00 [13,00; 23,00]	12,00 [8,00; 16,00]	4,00 [3,00; 6,00]

Примітка. *Залежність всіх показників від підгрупи має статистично значущий характер (критерій Краскула-Уолліса). Всі показники I та II підгрупи відрізняються від групи контролю на статистично значущому рівні (критерій Манна-Уїтні).

Аналіз таких антропометричних показників, як: ІМТ, ОТ, ОС та ОТ/ОС – мав статистично значущу залежність від ІМТ (за критерієм Краскула-Уолліса; $H = 104,39$; $p < 0,01$; $H = 67,08$; $p < 0,01$; $H = 48,65$; $p < 0,01$ та $H = 35,55$; $p < 0,01$) (рис. 3.2).

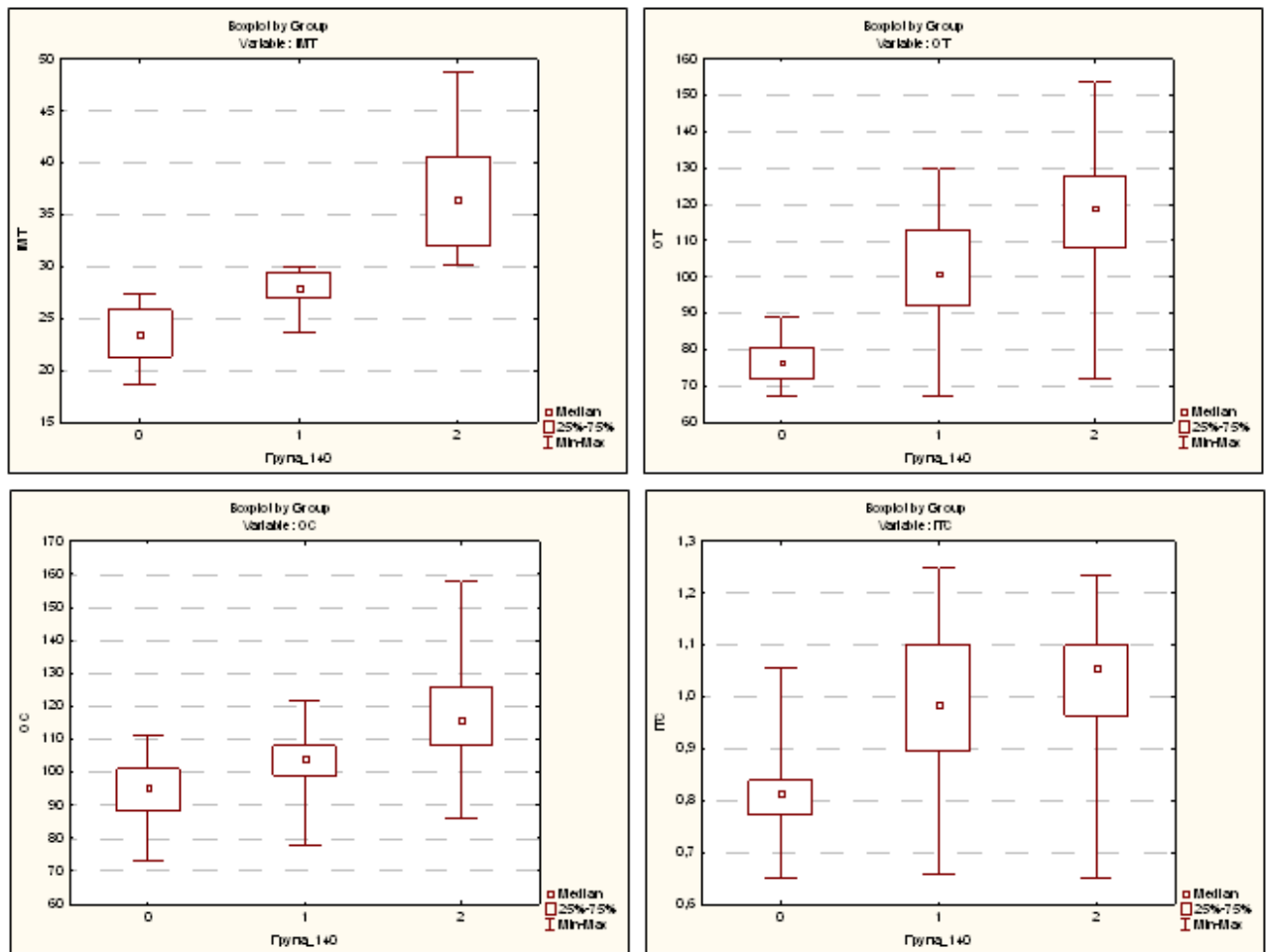


Рис. 3.2. Особливості ІМТ, ОТ, ОС та ОТ/ОС у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги: (0) – група контролю, (1) – II підгрупа, (2) – I підгрупа: ІМТ – індекс маси тіла, ОТ – об’єм талії, ОС – об’єм стегон, ІТС – індекс об’єм талії/об’єм стегон

Найбільш несприятливим є абдомінальний тип ожиріння, що поєднується, як правило, із комплексом гормональних і метаболічних факторів ризику. Для визначення характеру розподілу жиру в організмі використовується показник співвідношення ОТ/ОС. Ожиріння вважається абдомінальним, якщо у жінок величина $ОТ/ОС > 0,85$, у чоловіків – $> 1,0$ (Stern et al., 1995). При досліджуванні хворих на НАЖХП було виявлено, що максимальне значення ОТ/ОС спостерігалось у хворих із супутнім ожирінням і перевищувало показник групи контролю на 28,04 % ($p < 0,05$), так само даний показник для хворих II підгрупи перевищував результат групи контролю на 20,73 %, між підгрупами була виявлена статистично

значуща вірогідність. Отримані дані є свідченням наявності характерного для хворих на НАЖХП абдомінального типу ожиріння.

Вивчення показників складу тіла показало, що % ЖТ і % ВЖ досягав максимального значення у хворих із супутнім ожирінням і перевищував значення групи контролю у 1,43 рази ($p < 0,01$) та 4,75 ($p < 0,01$) рази відповідно, а ось значення % СкМ навпаки було найменшим у хворих із супутнім ожирінням та зменшене від показників групи контролю майже у 2 рази ($p < 0,01$). Отримані дані є свідченням наявності характерного для хворих на НАЖХП абдомінального типу ожиріння.

Показники складу тіла, такі як: % ЖТ та % ВЖ – мали статистично значущу залежність від ІМТ (за критерієм Краскела-Уолліса, $N = 64,93$; $p < 0,01$; та $N = 53,05$; $p < 0,01$) (рис. 3.3).

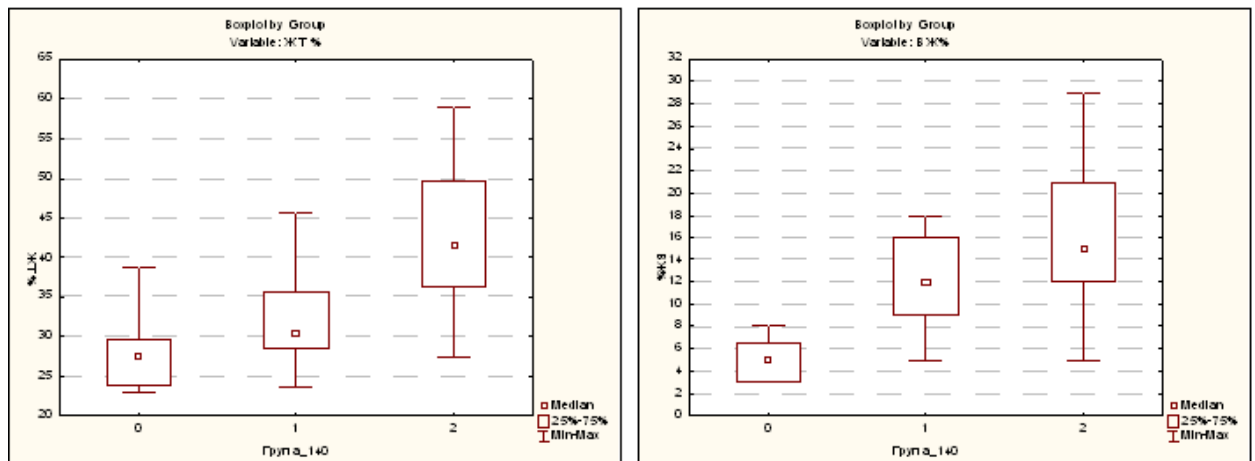


Рис. 3.3. Особливості розподілу % ЖТ та % ВЖ від індексу маси тіла у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги (0) – група контролю, (1) – II підгрупа, (2) – I підгрупа: % ЖТ – відсоток жирової тканини, % ВЖ – відсоток вісцерального жиру

Як зображує коробчастий графік на рисунку 3.3, % ЖТ та % ВЖ достовірно відрізняються не тільки між досліджуваними підгрупами та групою контролю, а і між підгрупами. Дані зміни свідчать про прямий зв'язок даних показників від ІМТ. Мінімальні значення показників % ЖТ та % ВЖ спостерігались у контрольній групі та стрімко зростали у хворих на

НАЖХП та супутнє ожиріння і в меншій мірі у хворих на НАЖХП та надлишкову вагу.

Також виявлено, що % СкМ мав статистично значущу залежність від ІМТ (за критерієм Краскела-Уолліса, $N = 19,45$; $p = 0,0001$;) (рис. 3.4).

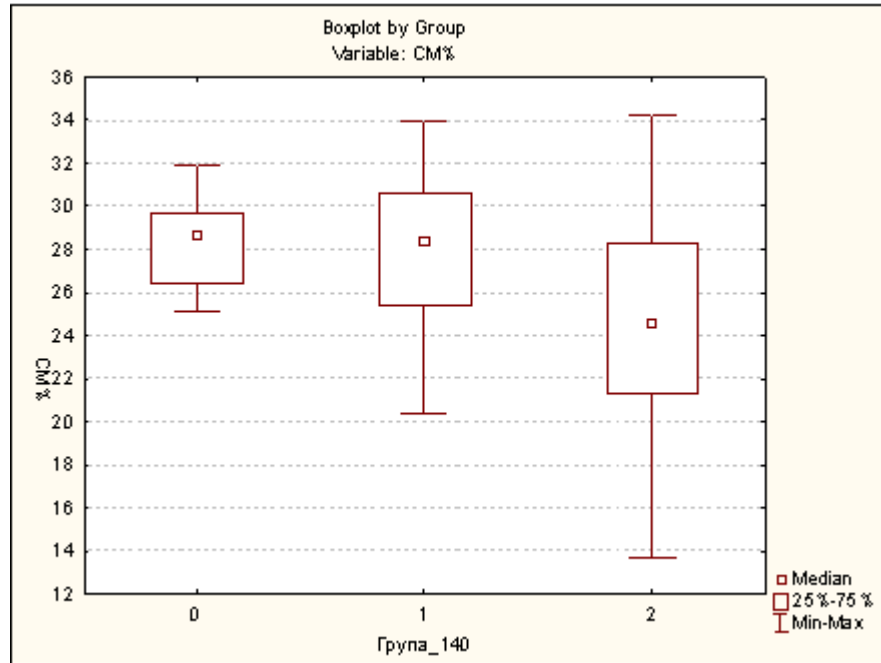


Рис. 3.4. Особливості розподілу % СкМ у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги: (0) – група контролю, (1) – II підгрупа, (2) – I підгрупа, СкМ % – відсоток скелетних м'язів

Коробчастий графік на рисунку 3.4 зображує протилежну картину подану на рисунку 3.3. Відсоток СкМ достовірно відрізнявся між групою контролю та I підгрупою, між I та II підгрупою, а ось між групою контролю та групою хворих на НАЖХП та надлишкову вагу мав характер тенденції.

При дослідженні вуглеводного обміну виявлено, що мінімальні значення глікемії натще визначали в групі контролю, у якій даний показник склав 5,00 [4,61; 5,12] ммоль/л. У підгрупі хворих із супутнім ожирінням вміст глюкози в сироватці крові натще набував максимальних значень, дана тенденція зберігалась і для хворих з надлишковою вагою, але була менш вираженою і перевищувала у 1,13 рази ($p < 0,01$) та у 1,05 рази ($p < 0,01$) показники групи контролю відповідно.

На тлі підвищення глікемії у хворих на НАЖХП незалежно від наявності ожиріння спостерігалось підвищення концентрацій інсуліну. У групі контролю рівень інсуліну склав 11,01 [9,53; 12,44]. У хворих І підгрупи були виявлені максимальні рівні інсуліну, які статистично вірогідно перевищували показники групи контролю в 1,81 рази ($p < 0,01$). Дана тенденція зберігалась і для ІІ підгрупи, але була менш вираженою. Так виявлено, що вміст інсуліну в сироватці крові хворих на НАЖХП та надлишкову вагу статистично вірогідно перевищував відповідний показник групи контролю в 1,52 рази ($p < 0,01$).

НАЖХП є печінковим проявом метаболічного синдрому, її розповсюдженість збільшується зі зростанням показників ожиріння та ІР, дане ствердження виявлено і при виконанні даної науково дисертаційної роботи.

У ході дослідження у хворих обох підгруп виявлені ознаки формування синдрому ІР (для першої підгрупи: вміст глікозильованого гемоглобіну перевищував показник групи контролю у 1,14 рази ($p < 0,01$), індекс НОМА у 2,17 рази ($p < 0,01$), для другої – у 1,08 рази ($p < 0,01$) та у 1,6 рази ($p < 0,01$) відповідно (табл. 3.2.).

Таблиця 3.2

Стан вуглеводного обміну у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги та групи контролю.

Показники	Групи обстежених		
	НАЖХП на тлі ожиріння (n = 85)	НАЖХП з надлишковою вагою (n = 35)	Контроль (n = 20)
Глікемія натще ммоль/л	5,67 [5,20; 6,00]	5,28 [5,09; 5,67]	5,00 [4,61; 5,12]
Глікозильований гемоглобін, %	6,19 [5,91; 6,44]	5,87 [5,43; 6,17]	5,42 [5,10; 5,70]
НОМА, у. о.	5,30 [4,06; 7,19]	3,97 [3,00; 4,96]	2,44 [1,94; 2,79]
Інсулін ммкОд/мл	20,13 [17,06; 27,00]	16,76 [13,83; 20,43]	11,01 [9,53; 12,44]

Примітка. *Залежність всіх показників від підгрупи має статистично значущий характер (критерій Краскула-Уолліса). Всі показники I та II підгрупи відрізняються від групи контролю на статистично значущому рівні (критерій Манна-Уїтні).

Слід зазначити, що при дослідженні показників вуглеводного обміну встановлено: показник глюкози натще мав статистично значущу залежність від ІМТ (за критерієм Краскела-Уолліса, $N = 20,73$; $p < 0,01$), аналогічну статистично значущу залежність мали глікозильований гемоглобін, інсулін, індекс НОМА (за критерієм Краскела-Уолліса, $N = 36,57$; $p < 0,01$; $N = 52,09$; $p < 0,01$; $N = 50,74$; $p < 0,01$, відповідно) (рис. 3.5).

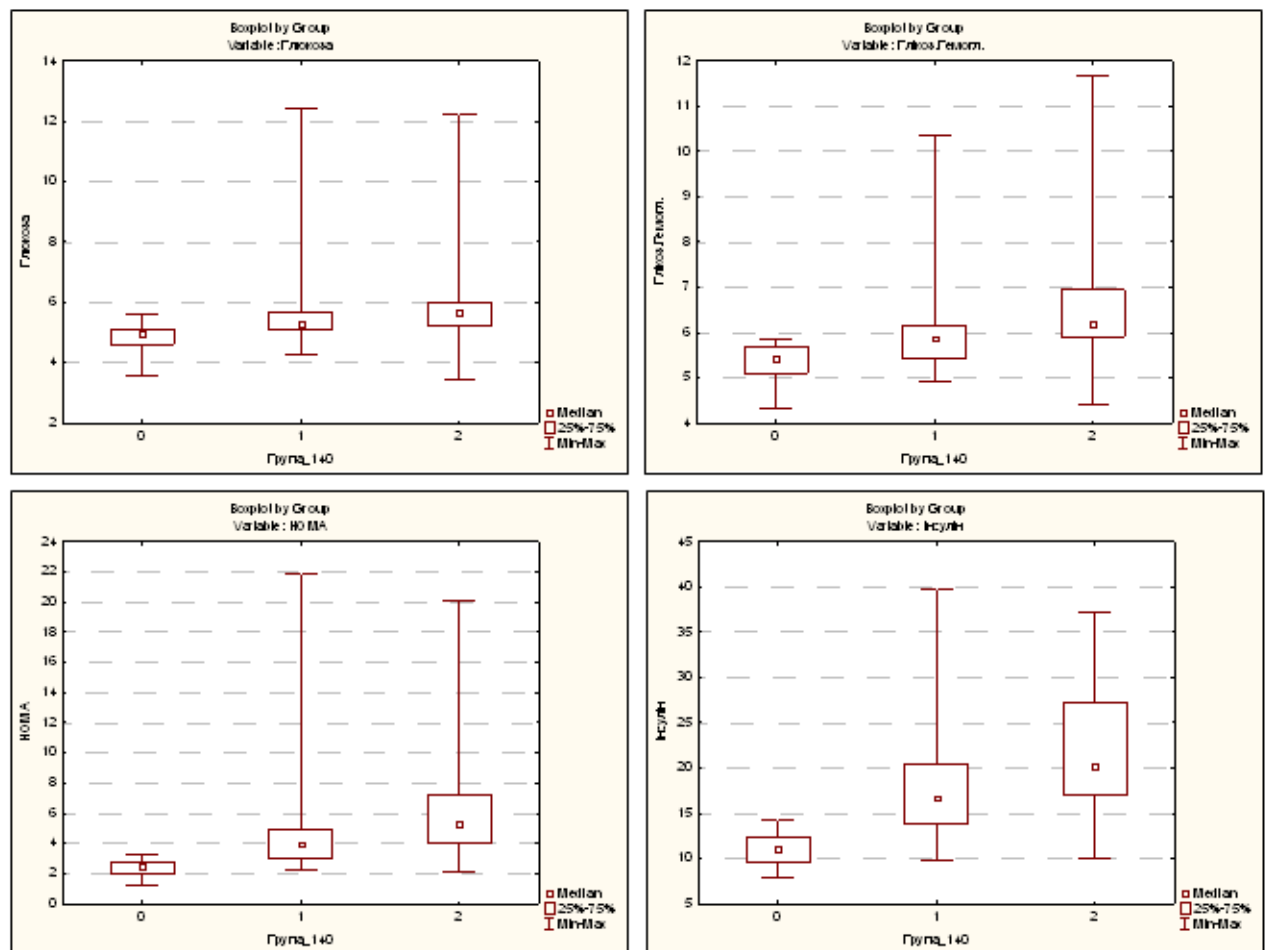


Рис. 3.5. Особливості вуглеводного обміну у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги: (0) – група контролю, (1) – II підгрупа, (2) – I підгрупа, глюкоза–глюкоза, глікоз.гемоглобін – глікозильований гемоглобін, індекс НОМА–НОМА, інсулін–інсулін

Загальновідомо, що наявність НАХЖП пов'язана із гіперліпідемією, метаболічним синдромом та ожирінням. В останні роки з'явилися дані, які підтверджують наявність порушення метаболізму ліпідів у хворих НАХЖП, що не мають ожиріння. Порівнюючи ліпідний профіль хворих I та II підгруп та групи контролю, було виявлено вірогідне підвищення показників (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

Показники обміну ліпідів у хворих на НАХЖП на тлі ожиріння та надлишкової ваги та групою контролю

Показники	Групи обстежених хворих		
	НАХЖП на тлі ожиріння (n = 85)	НАХЖП з надлишковою вагою (n = 35)	Контроль (n = 20)
Загальний холестерин, ммоль/л	5,39 [4,96; 6,20]	5,11 [4,63; 5,86]	4,59 [4,05; 5,15]
Тригліцериди, ммоль/л	1,73 [1,16; 2,49]	1,47 [0,93; 1,89]	0,87 [0,70; 1,12]
ХС ЛПВЩ, ммоль/л	1,20 [0,99; 1,43]	1,31 [1,10; 1,52]	1,26 [1,06; 1,46]
ХС ЛПДНЩ, ммоль/л	0,88 [0,57; 1,13]	0,66 [0,42; 1,09]	0,65 [0,36; 0,77]
ХС ЛПНЩ, ммоль/л	3,17 [2,38; 3,87]	2,90 [2,14; 3,51]	1,76 [1,15; 2,25]

Примітка. *Залежність всіх показників від підгрупи має статистично значущий характер (критерій Краскула-Уолліса). Всі показники I та II підгруп відрізняються від групи контролю на статистично значущому рівні (критерій Манна-Уїтні).

У хворих обох підгруп виявлено статистично значуще підвищення вмісту ЛПНЩ в 1,80 рази ($p < 0,01$) у першій підгрупі та в 1,65 рази ($p < 0,01$) у другій підгрупі порівняно з групою контролю та між собою в 1,09 рази ($p < 0,01$). Концентрації ТГ в підгрупах хворих на НАХЖП також вірогідно перевищували дані показники контрольної групи: в 1,99 рази ($p < 0,01$) для

першої підгрупи та в 1,69 рази ($p < 0,01$) для другої, але, порівнюючи між підгрупами, мали характер тенденції.

Концентрації ЗХС статистично відрізнялась у хворих з коморбідним ожирінням в 1,17 рази ($p < 0,01$) та з підгрупою з надлишковою вагою в 1,11 рази ($p < 0,01$). Зміни показників ЗХС другої групи в порівнянні з групою контролю мали характер тенденції. ЛПДНЩ статистично відрізнялась тільки для хворих першої підгрупи у порівнянні з групою контролю, показники ЛПВЩ майже не відрізнялись ні в підгрупах, ні в групі контролю. Також для I та для II підгруп було характерне статистично значуще підвищене значення КА. Так у I підгрупі він перевищував показник групи контролю у 1,62 рази ($p < 0,01$) і у II підгрупі в 1,32 рази ($p < 0,01$).

При дослідженні показників обміну ліпідів встановлено, що рівні ЗХС, ТГ, ХС ЛПДНЩ, ХС ЛПВЩ залежали від ІМТ (за критерієм Краскала-Уолліса; $H = 11,02$; $p = 0,004$, $H = 25,93$; $p < 0,01$, $H = 9,98$; $p = 0,0068$, $H = 26,34$; $p < 0,01$, відповідно) (рис. 3.6).

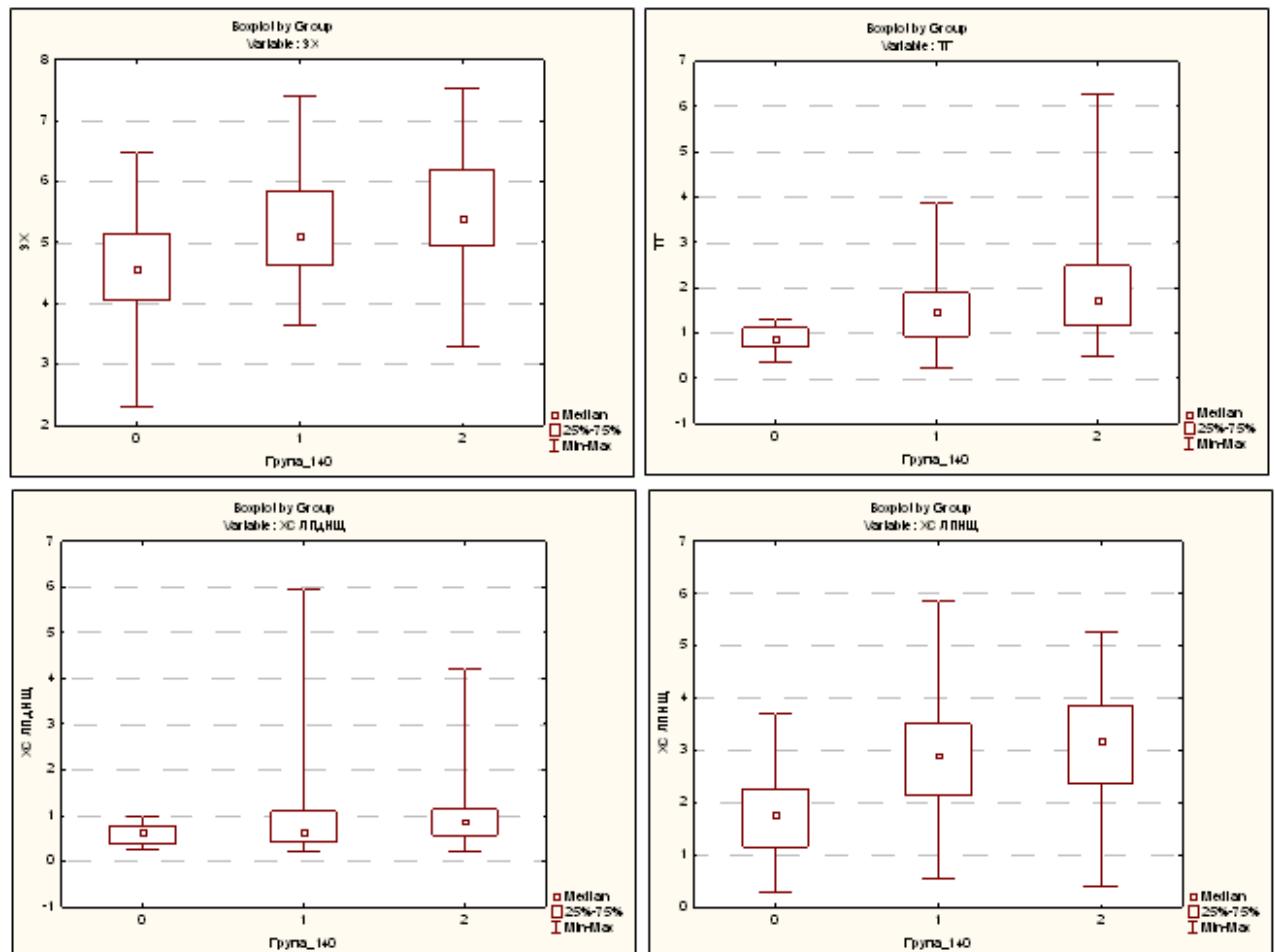


Рис. 3.6. Особливості ліпідного обміну у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги: (0) – група контролю, (1) – II підгрупа, (2) – I підгрупа, ЗХ – загальний холестерин, ТГ – тригліцериди, ХС ЛПДНЩ – ліпопротеїди дуже низької щільності, ХС ЛПНЩ – ліпопротеїди низької щільності

Були виявлені зміни в показниках, які відображають функціональний стан печінки (табл. 3.4).

Таблиця 3.4

Показники функціонального стану та маркери запалення печінки

Показники	Групи обстежених		
	НАЖХП на тлі ожиріння (n = 85)	НАЖХП з надлишковою вагою (n = 35)	Контроль (n = 20)
АсАТ, О/л	27,00 [21,00; 37,00]	23,00 [19,00; 32,00]	23,50 [21,00; 25,50]
АлАт, О/л	29,00 [23,00; 42,00]	21,00 [16,00; 29,00]	17,50 [16,00; 20,00]
ГГТП, О/л	23,10 [14,60; 41,30]	16,90 [12,80; 29,00]	17,70 [16,20; 19,85]
ЛФ	1453 [1275; 1765]	1390 [1243; 1543]	1398 [1218; 1504]
Загальний білірубін, мкмоль/л	9,20 [8,30; 13,40]	9,10 [8,60; 11,30]	8,90 [8,00; 9,95]
Прямий білірубін, мкмоль/л	2,90 [2,20; 4,70]	2,90 [2,40; 4,00]	3,2 [2,55; 3,85]
Непрямий білірубін, мкмоль/л	6,50 [6,00; 8,90]	6,50 [5,60; 7,50]	5,90 [5,15; 6,30]

Примітка. *Залежність всіх показників від підгрупи має статистично значущий характер (критерій Краскула-Уолліса). Всі показники I та II підгруп відрізняються від групи контролю на статистично значущому рівні (критерій Манна-Уїтні).

Статистично значуще підвищення рівня АЛТ відбувалося у хворих з коморбідним ожирінням у 1,66 рази ($p < 0,01$), АСТ у 1,15 рази та ГГТП у 1,3 рази ($p < 0,01$), дана закономірність спостерігалась у хворих з надмірною вагою, але була значно меншою для концентрацій АЛТ: у 1,2 рази ($p < 0,01$), а для АСТ та ГГТП зовсім мала характер тенденції. Треба звернути увагу, що зазначені вище показники статистично значуще відрізнялися між підгрупами. Загальний білірубін та прямий білірубін майже не відрізнялись, ні від групи контролю, ні між підгрупами, а ось показник непрямого білірубину був ідентичним і для I й для II підгруп та перевищував показник групи контролю у 1,2 рази ($p < 0,01$).

При дослідженні показників функціонального стану печінки та маркерів її запалення встановлено, що рівні АЛТ, АСТ, ГГТП та непрямого білірубину мали статистично значущу залежність від ІМТ (за критерієм Краскела-Уолліса; для АЛТ $H = 36,56$; $p < 0,01$, для АСТ $H = 8,57$; $p = 0,0138$, для ГГТП $H = 9,98$; $p < 0,05$, $H = 10,37$; $p = 0,0056$, для непрямого білірубину $H = 8,40$; $p = 0,150$) (рис. 3.7).

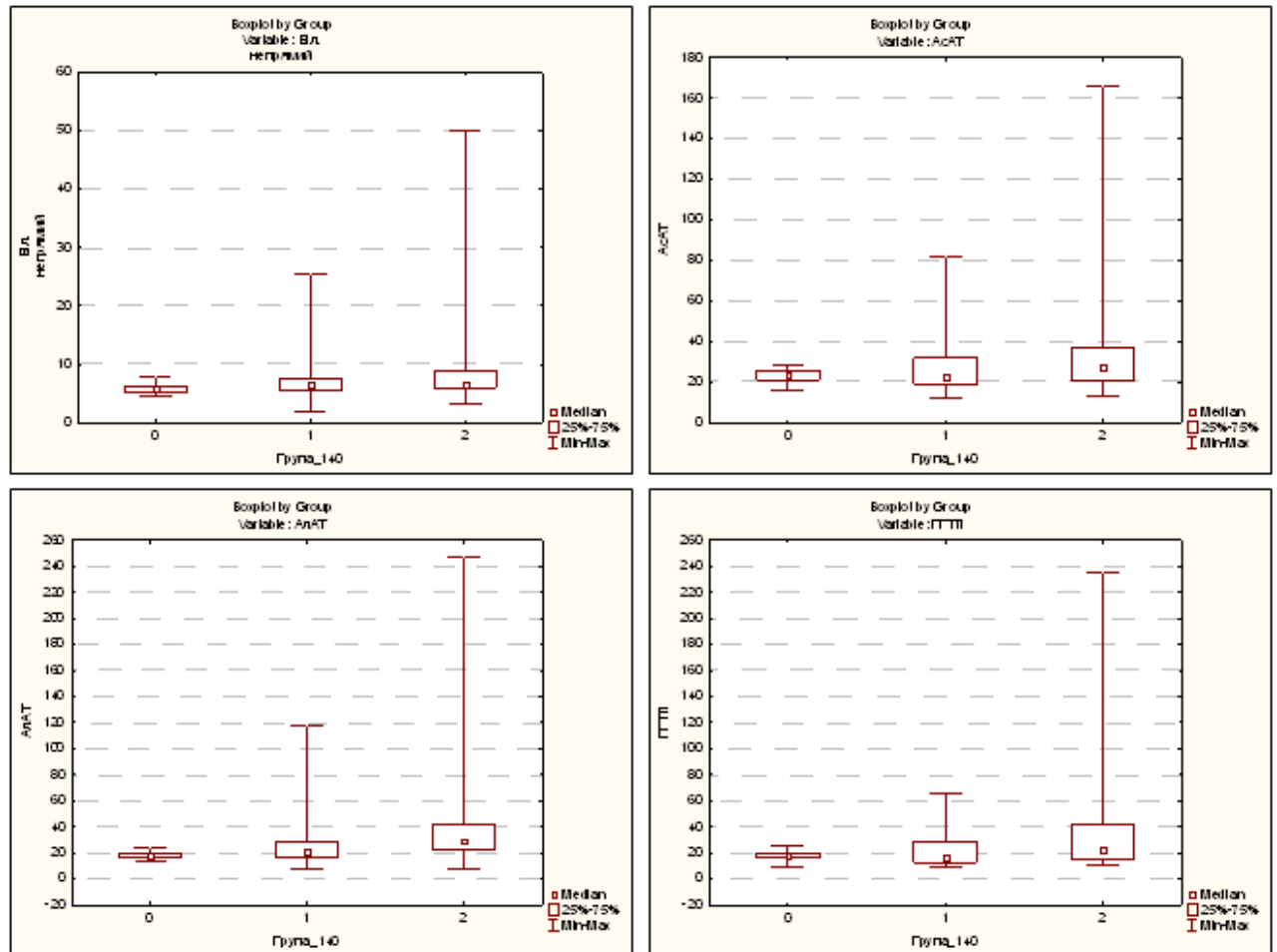


Рис. 3.7. Особливості показників функціонального стану печінки та маркерів запалення у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги: (0) – група контролю, (1) II підгрупа, (2) – I підгрупа, біл. непрям. – непряний білірубін, АсАт – аспартатамінотрансфераза, АлАт – аланінамінотрансфераза, ГГТп – гама-глутамілтрансфераза

Отже, однією з клінічних особливостей НАЖХП є малосимптомний перебіг. Наявні скарги були більш виражені у пацієнтів на НАЖХП на тлі ожиріння, ніж у пацієнтів із надлишковою вагою. Провідними скаргами у пацієнтів I підгрупи було зниження толерантності до фізичних навантажень – 80 %, важкість у правому підребер'ї – 73 % та астеничний синдром – 64 %. Дані показники у пацієнтів II підгрупи були менш виражені й складали 23 %, 34 % та 23 % відповідно, нудота не була характерна для досліджуваних хворих на НАЖХП.

Отримані дані свідчать, що перебіг НАЖХП у хворих I та II підгруп характеризується малосимптомною клінічною картиною. Проте у хворих на НАЖХП із супутнім ожирінням наявні скарги були більш виражені: так провідними скаргами у пацієнтів I підгрупи було суб'єктивне відчуття зниження толерантності до фізичних навантажень – 80 %, важкість у правому підребер'ї – 73 % та астеничний синдром – 64 %. Дані показники у пацієнтів II підгрупи були менш виражені і складали 23 %, 34 % та 23 % відповідно. Слід зазначити, що для досліджуваних хворих на НАЖХП не була характерна нудота.

Результати дослідження продемонстрували статистично значущі зміни при аналізі антропометричних показників. Так, у хворих на НАЖХП, в обох підгрупах, були виявлені статистично значущі зміни таких показників, як: ОТ, ОС та ОТ/ОС, які були збільшені і в I, і в II підгрупі та достовірно перевищували показники групи контролю.

Дана закономірність спостерігалась і при аналізі вуглеводного обміну досліджуваних хворих. Мінімальні значення за усіма показниками вуглеводного обміну, а саме: глікемія натще, глікозильований гемоглобін, НОМА, інсулін – спостерігались у групі контролю та стрімко зростали в досліджуваних підгрупах, досягаючи максимальних значень в I підгрупі.

Ліпідний профіль досліджуваних хворих на НАЖХП був порушений за рахунок збільшення ЗХС, ТГ, ХС ЛПВЩ, ХС ЛПДНЩ, ХС ЛПНЩ, максимальні значення якого спостерігались в I підгрупі, зменшувались у II підгрупі та були в межах норми в контрольній групі. З хворими, у яких були виявлені ознаки порушення ліпідного профілю, була проведена інформаційно-роз'яснювальна бесіда щодо потенційних наслідків, включаючи розвиток та прогресування серцево-судинних захворювань, та запропоновано звернутись до спеціаліста з метою призначення медикаментозної терапії.

При дослідженні функціонального стану печінки не було відмічене збільшення досліджуваних показників вище референтних значень норми, але

слід зауважити, що такі значення показників, як АЛТ, АСТ та ГГТП були більшими в I підгрупі, ніж в II та контрольній групі.

Таким чином, клінічні прояви, а також антропометричні та метаболічні зміни були більш виражені у хворих на НАЖХП та супутнє ожиріння.

Результати власних досліджень за дисертаційною темою оприлюднені на міжнародних конференціях [179, 180], а також підтверджені свідоцтвом про реєстрацію авторського права на науковий твір [181].

Результати досліджень поданого розділу опубліковані в наукових публікаціях:

1. Черелюк НІ, Степанова ОВ. Вплив медикаментозного лікування на клініко-антропометричні показники, біохімічні параметри та маркери системного запалення у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки. В: Програма «34-а річна наукова сесія присвячена підсумкам заключних та перехідних етапів науково-дослідних робіт в ДУ «Національний інститут терапії ім. Л.Т. Малої НАМН України»; 2020 лют. 7; Харків, Україна. Харків; 2020. с. 2.

2. Фадєєнко ГД, Черелюк НІ, Курінна ОГ. Співвідношення основних філотипів кишкової мікробіоти у пацієнтів на неалкогольну жирову хворобу печінки в залежності від стадії фіброзу. В: Матеріали науково-практичної конференції молодих вчених за участю міжнародних спеціалістів «Сучасна медицина очима молоді: проблеми і перспективи вирішення»; 2020 трав. 22; Харків, Україна. Харків; 2020. с. 164.

3. Фадєєнко ГД, Кушнір ІЕ, Чернова ВМ, Соломенцева ТА, Нікіфорова ЯВ, Курінна ОГ, Черелюк НІ, винахідники; Спосіб діагностики неалкогольного стеатогепатиту у хворих з неалкогольною жировою хворобою печінки на тлі метаболічних порушень. Патент України на корисну модель № 138380 від 25.11.2019, МПК (2006), G01N33/50 (2006.01), A61B 31/00A61P.

РОЗДІЛ 4

СПІВВІДНОШЕННЯ ОСНОВНИХ ФІЛОТИПІВ КИШКОВОЇ
МІКРОБІОТИ У ХВОРИХ НА НЕАЛКОГОЛЬНУ ЖИРОВУ ХВОРОБУ
ПЕЧІНКИ НА ТЛІ ОЖИРІННЯ ТА НАДЛИШКОВОЇ ВАГИ**4.1. Відносний вміст бактерій філотипу *Firmicutes* у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки на тлі ожиріння та надлишкової ваги.**

Результати обстеження групи контролю дали можливість визначити референтні значення відносного вмісту *Firmicutes*, які становили 28–45 %.

Як зображує коробчастий графік на рисунку 4.1, відносний вміст *Firmicutes* вірогідно відрізнявся як між досліджуваними підгрупами, так і у порівнянні із групою контролю (за критерієм Краскела-Уолліса; $H = 18,43$; $p < 0,01$).

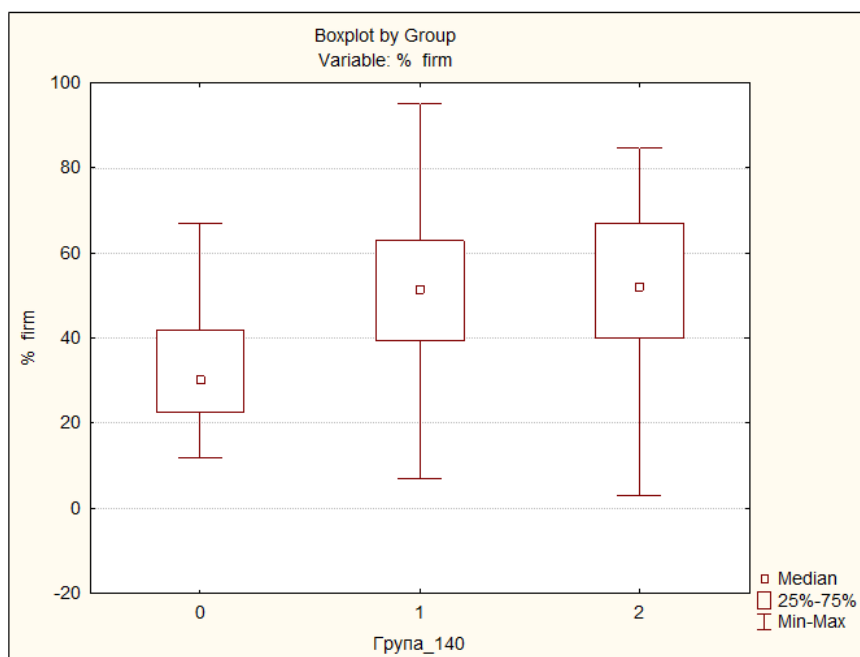


Рис. 4.1. Особливості відносного вмісту *Firmicutes* у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги: (0) – група контролю, (1) – II підгрупа, (2) – I підгрупа, *firm%* – відносний вміст *Firmicutes* (%)

У хворих на НАЖХП спостерігалось статистично значуще збільшення відносного вмісту *Firmicutes*, яке досягало свого максимального значення у хворих на тлі ожиріння, незначно зменшувалось у хворих із надлишковою вагою. Відносний вміст *Firmicutes* був майже однаковий і в I підгрупі – 52,12 [39,94; 67,03] %, і у II підгрупі – 51,49 [39,26; 62,88] %, та достовірно відрізнявся від показника групи контролю 29,97 [22,52; 41,75] % майже у 2 рази ($p < 0,01$).

Аналіз скарг, які пред'являли обстежувані хворі на НАЖХП, виявив статистично значущі зміни відносного вмісту *Firmicutes* у хворих із суб'єктивними скаргами на порушення дефекації (за критерієм Краскела-Уолліса, $H = 6,66$, $p < 0,01$;) і диспепсичні явища (за критерієм Краскела-Уолліса, $H = 4,80$, $p = 0,028$) (рис. 4.2).

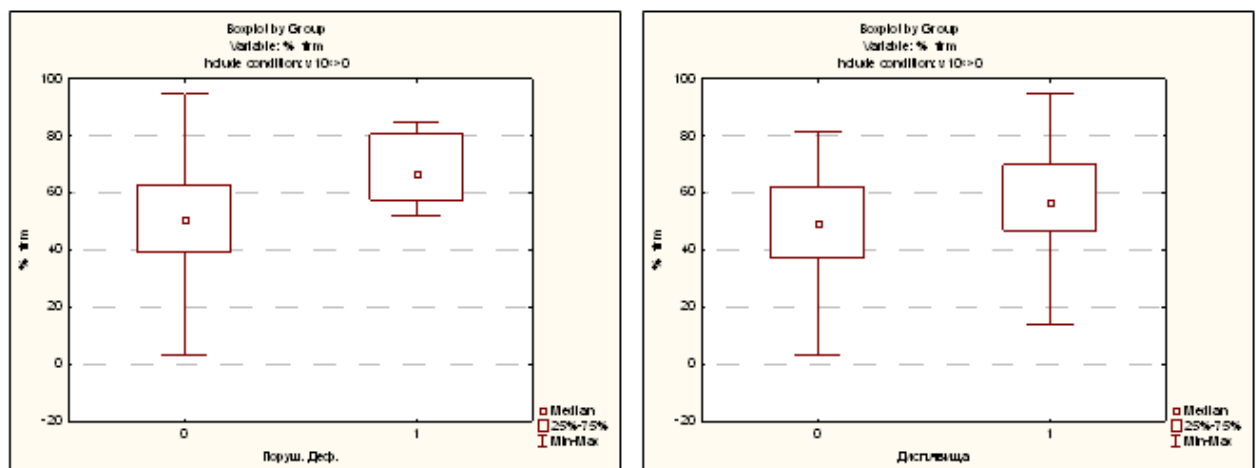


Рис. 4.2. Особливості вмісту *Firmicutes* у хворих на НАЖХП із суб'єктивними скаргами на порушення дефекації (зліва) та диспепсії (справа): (0) – відсутність скарг, (1) – наявність скарг, % *firm* – відносний вміст *Firmicutes* (%)

У хворих на НАЖХП при наявності скарг на порушення дефекації у порівнянні із хворими без зазначених явищ спостерігалось збільшення відносного вмісту *Firmicutes* на 34 % ($p < 0,01$). У свою чергу при наявності суб'єктивних диспепсичних проявів у хворих на НАЖХП спостерігалось підвищення відносного вмісту *Firmicutes* на 16 % ($p < 0,01$).

Результати дослідження продемонстрували залежність % ВЖ від відносного вмісту *Firmicutes*: збільшення відносного вмісту *Firmicutes* у хворих на НАЖХП як I, так і II підгруп, асоційоване зі збільшенням % ВЖ у всіх досліджуваних хворих (рис. 4.3).

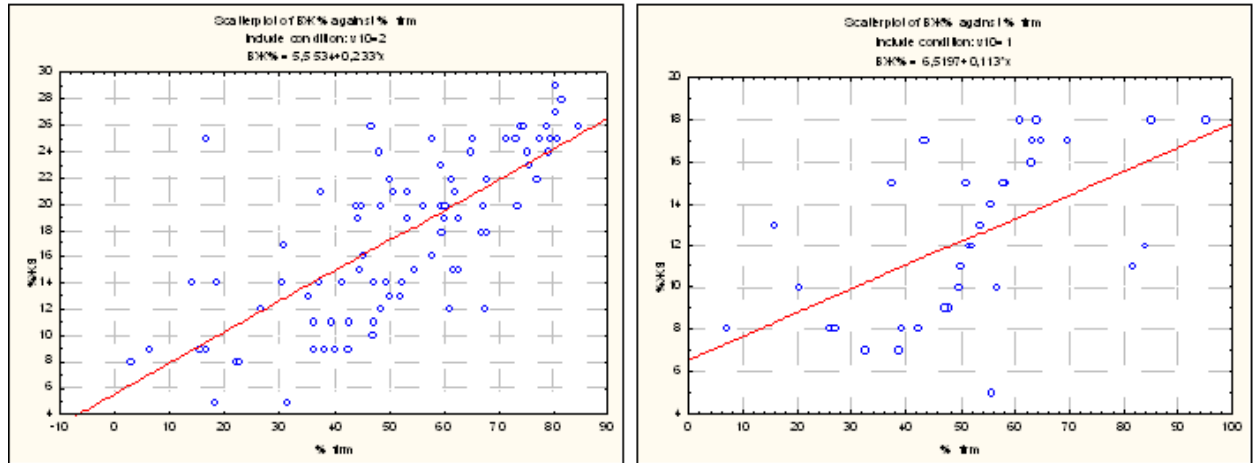


Рис. 4.3. Кореляційний зв'язок відносного вмісту *Firmicutes* з часткою вісцерального жиру % ВЖ у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння (зліва) та у хворих на НАЖХП та надлишкову вагу (справа): % ВЖ – відсоток вісцерального жиру (%), % *firm* – відносний вміст *Firmicutes* (%)

Кореляційний аналіз виявив сильний позитивний зв'язок між відносним вмістом *Firmicutes* та % ВЖ як у хворих I підгрупи (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = +0,74$; $p = 0,001$), так і у хворих II підгрупи (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = +0,70$; $p = 0,001$).

Протилежна тенденція спостерігалась між відносним вмістом *Firmicutes* та відсотком скелетної мускулатури % СМ (рис. 4.4).

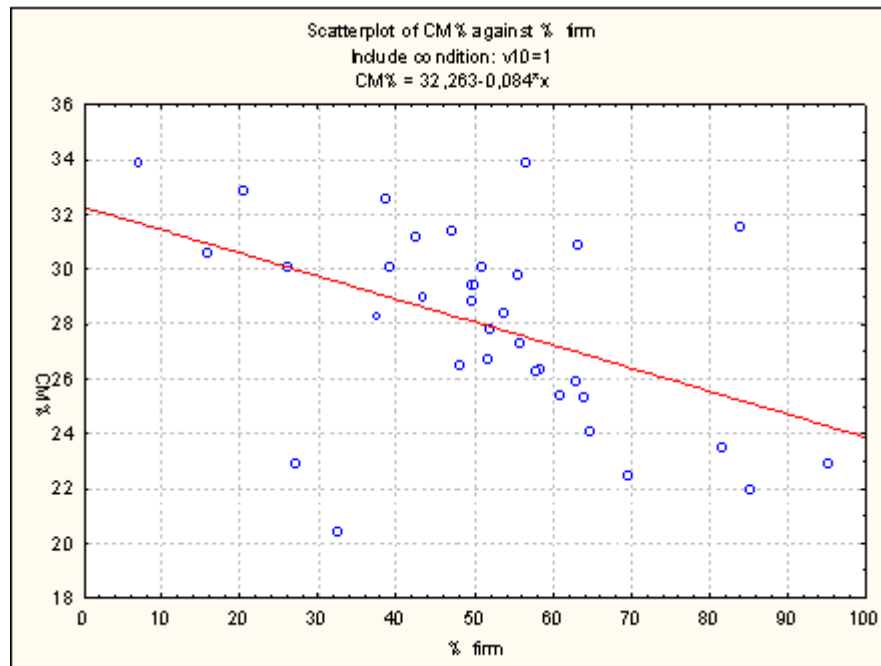


Рис. 4.4. Кореляційний зв'язок відносного вмісту *Firmicutes* з % СкМ у хворих на НАЖХП та надлишкову вагу: % СкМ – відсоток скелетної мускулатури (%), %*firm* – відносний вміст *Firmicutes* (%)

Результати, які продемонстровані на діаграмі (рис. 4.4), є реципрокними результатам, зображеними на рисунку 4.3, і демонструють збільшення відносного вмісту *Firmicutes* у хворих лише I підгрупи на тлі зменшення % СкМ за даними вимірювання складу тіла (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = -0,47$; $p = 0,003$).

Кореляційний аналіз залежності вмісту *Firmicutes* з антропометричними показниками виявив негативний кореляційний зв'язок між відносним вмістом *Firmicutes* та ОС (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = -0,26$; $p = 0,014$) у хворих I підгрупи.

У хворих I підгрупи було визначено позитивний кореляційний зв'язок відносного вмісту *Firmicutes* із сироватковою концентрацією непрямого білірубину (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = +0,24$; $p = 0,025$). У свою чергу у хворих II підгрупи було виявлено негативний кореляційний зв'язок між відносним вмістом *Firmicutes* та рівнем прямого білірубину

($r = -0,39$; $p = 0,020$). Кореляційні залежності між відносним вмістом *Firmicutes* та іншими показниками виявлено не було ($p > 0,01$).

4.2. Відносний вміст бактерій філотипу *Bacteroidetes* у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки на тлі ожиріння та надлишкової ваги.

Результати обстеження групи контролю надали можливість визначити референтні значення відносного вмісту *Bacteroidetes*, які становили 33–57 %.

У хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги виявлені статистично значущі зміни відносного вмісту *Bacteroidetes* (за критерієм Краскела-Уолліса; $H = 17,69$; $p < 0,01$) (рис. 4.5). При аналізі відносного вмісту *Bacteroidetes* спостерігається протилежна картина у порівнянні з відносним вмістом *Firmicutes*. У контрольній групі відносний вміст *Bacteroidetes* досягав максимальних значень та різко знижувався у хворих I та II підгруп.

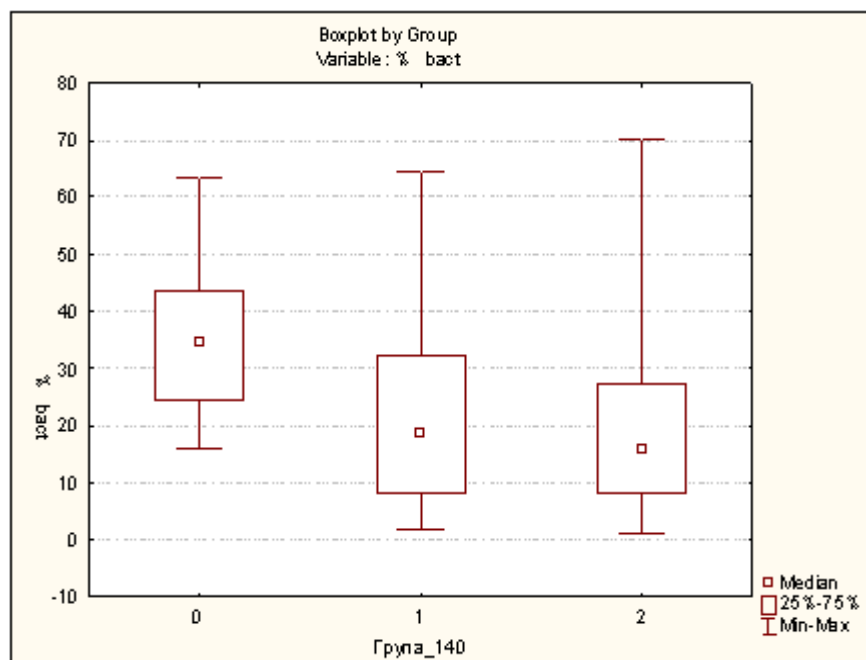


Рис. 4.5. Особливості відносного вмісту *Bacteroidetes* у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги: (0) – група контролю, (1) – II підгрупа, (2) – I підгрупа, % *bact* – відносний вміст *Bacteroidetes* (%)

У контрольній групі відносний вміст *Bacteroidetes* складав 34,65 [24,58; 43,53] % і достовірно перевищував у 2,2 рази показники I підгрупи, у якій даний показник становив 15,97 [8,10; 27,52] %, та у 1,9 разів – показники II підгрупи, у якій відносний вміст *Bacteroidetes* складав 18,83 [7,96; 32,35] % ($p < 0,01$).

При аналізі скарг, виявлено статистично значуще зменшення відносного вмісту *Bacteroidetes* при наявності у хворих скарг на порушення дефекації (за критерієм Краскела-Уолліса; $H = 10,58$; $p < 0,01$) (рис. 4.6).

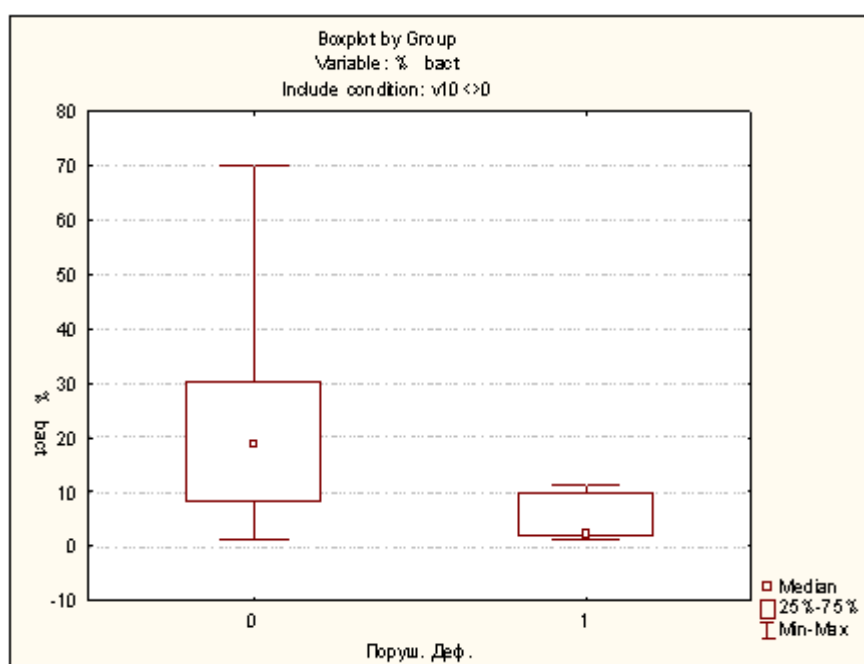


Рис. 4.6. Зміни відносного вмісту *Bacteroidetes* у хворих на НАЖХП при наявності скарг на порушення дефекації: (0) – відсутність скарг, (1) – наявність скарг; % *bact* – відносний вміст *Bacteroidetes* (%)

Як продемонстровано на рисунку 4.6, у хворих на НАЖХП, які не мали суб'єктивного відчуття порушення дефекації, було відмічено, що показник відносного вмісту *Bacteroidetes* був більшим у 6,3 рази, ніж у хворих з даною клінічною симптоматикою.

На рисунку 4.7 зображено зв'язок відносного вмісту *Bacteroidetes* з % ВЖ у хворих як І, так і ІІ підгруп, який демонструє, що чим менший % ВЖ у досліджуваних хворих, тим більший відносний вміст *Bacteroidetes*.

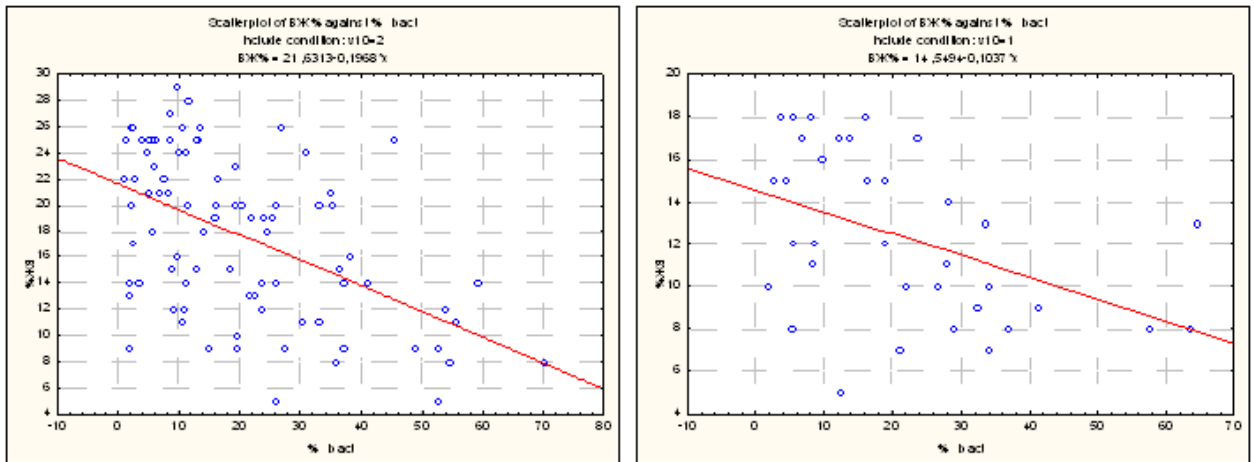


Рис. 4.7. Кореляційний зв'язок відносного вмісту *Bacteroidetes* з % ВЖ у хворих на НАЖХП та ожиріння (зліва) та у хворих на НАЖХП та надлишкову вагу (справа): % ВЖ – відсоток вісцеральний жир, % *bact* – відносний вміст *Bacteroidetes* (%)

При проведенні кореляційного аналізу визначено негативний кореляційний зв'язок між відносним вмістом *Bacteroidetes* та % ВЖ як у хворих І (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = -0,48$, $p = 0,001$), так і ІІ підгруп (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = -0,49$, $p = 0,003$).

Кореляційних залежностей відносного вмісту *Bacteroidetes* з іншими показниками знайдено не було ($p > 0,01$).

4.3. Співвідношення відносного вмісту бактерій філотипів *Firmicutes* та *Bacteroidetes* у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки на тлі ожиріння та надлишкової ваги.

Результати обстеження групи контролю надали можливість визначити референтні значення співвідношення відносного вмісту бактерій філотипу *Firmicutes* до відносного вмісту бактерій філотипу *Bacteroidetes*, які становили 0,3 – 1,3.

У хворих на НАЖХП були виявлені статистично значущі зміни співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes* як у пацієнтів І, так і другої підгруп (за критерієм Краскела-Уолліса, $H = 21,17$, $p < 0,01$) (рис. 4.8).

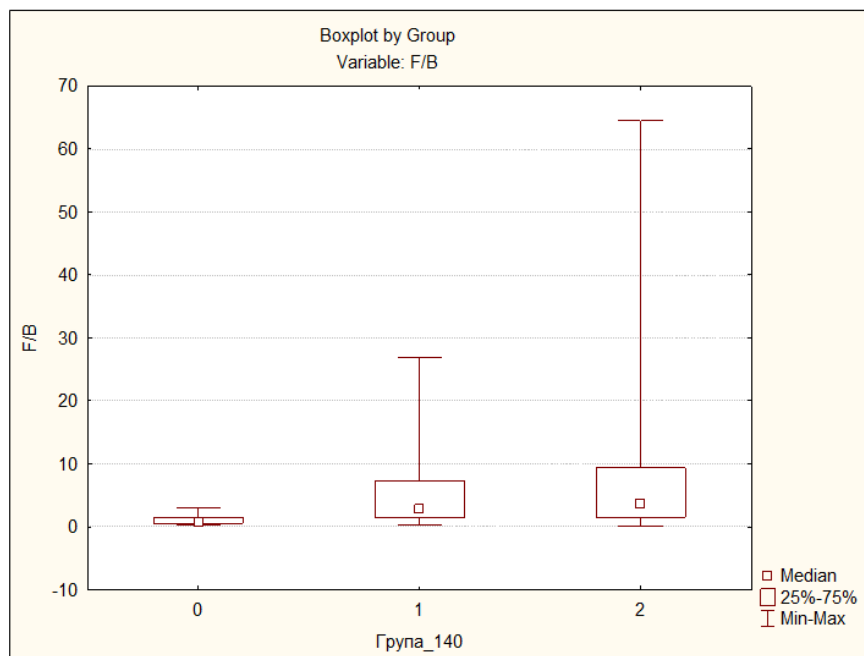


Рис. 4.8. Особливості співвідношення основних філотипів КМ *Firmicutes/Bacteroidetes* у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги: (0) – група контролю, (1) – II підгрупа, (2) – I підгрупа, F/B – співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes*

Максимальне значення співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes* було виявлено у пацієнтів I підгрупи, у якій даний показник складав 3,67 [1,51; 9,40] і вірогідно перевищував показник групи контролю у 5,7 разів. Визначена динаміка зберігалась і для хворих II підгрупи, у яких співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes* складало 2,75 [1,45; 7,37] та перевищувало показники групи контролю у 4,3 рази ($p < 0,01$).

При аналізі клінічних даних у хворих на НАЖХП було виявлено статистично значущу залежність співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes* від наявності суб'єктивного відчуття порушення дефекації (за критерієм Краскела-Уолліса; $H = 26,91$; $p < 0,01$) (рис. 4.9.).

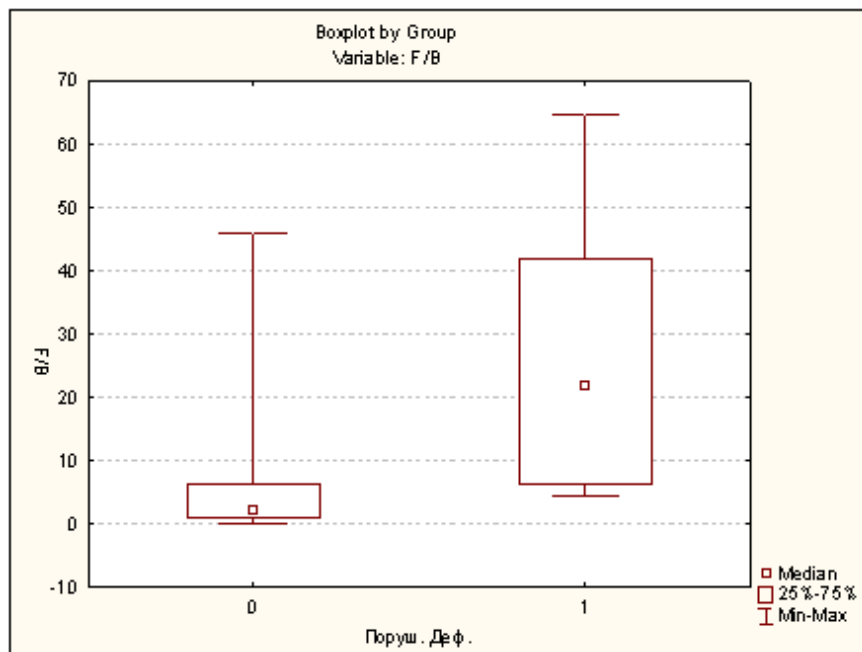


Рис. 4.9. Особливості співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes* у хворих на НАЖХП із суб'єктивними скаргами на порушення дефекації: (0) – відсутність скарг, (1) – наявність скарг, F/B – співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes*

За даними, зображеними на рисунку 4.9, у хворих на НАЖХП при наявності скарг на порушення дефекації спостерігалось достовірне збільшення співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes* більше ніж у 5 разів.

Аналіз анамнестичних даних дозволив виявити статистично значущу залежність співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes* від тривалості захворювання (за критерієм Краскела-Уолліса; $H = 12,41$; $p < 0,01$) (рис. 4.10).

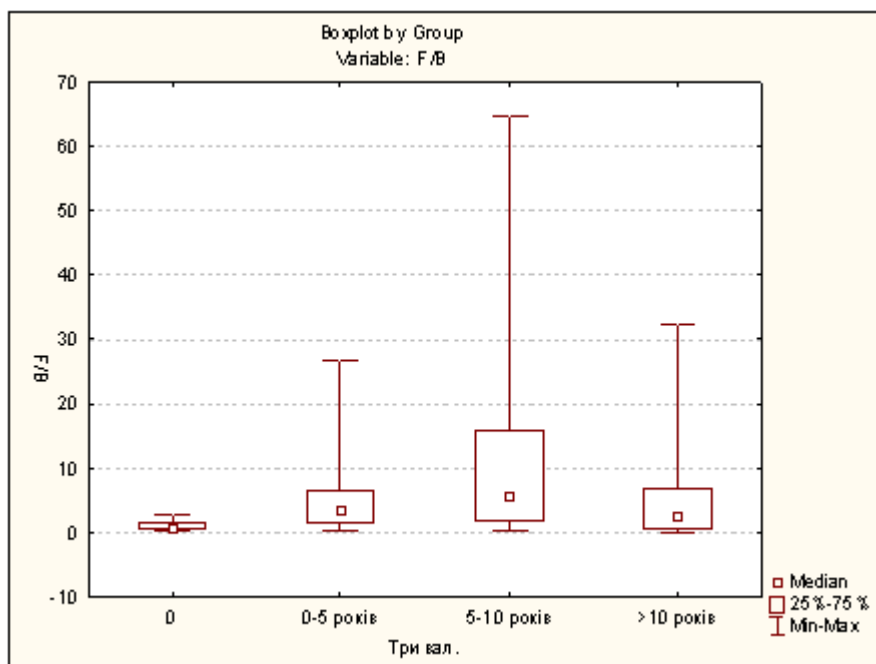


Рис. 4.10. Залежність співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes* від тривалості захворювання у хворих на НАЖХП: F/B – співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes*

У хворих на НАЖХП при збільшенні тривалості захворювання спостерігалось поступове підвищення співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes*, яке досягало максимальних значень при тривалості хвороби від 5 до 10 років. Проте, при тривалості захворювання більше ніж 10 років співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes* зменшувалось.

При проведенні кореляційного аналізу знайдено взаємозв'язок співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes* з часткою % ВЖ та % СкМ (рис. 4.11).

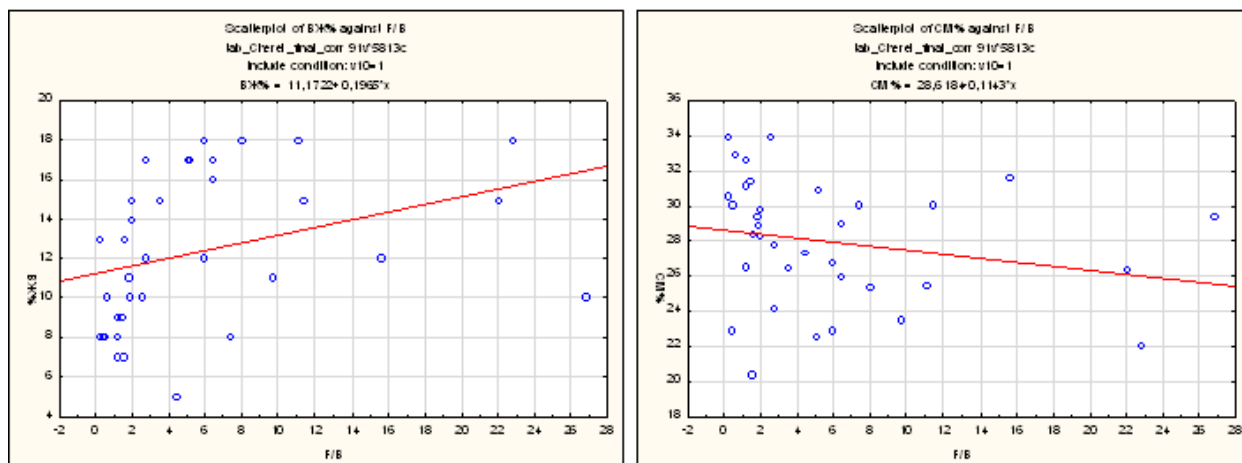


Рис. 4.11. Кореляційний зв'язок співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes* з часткою вісцерального жиру % ВЖ (зліва) та часткою скелетної мускулатури % СкМ (справа) у хворих на НАЖХП та надлишкову вагу:

F/B – співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes*, % ВЖ – відсоток вісцерального жиру, % СкМ – відсоток скелетної мускулатури

Результати кореляційного аналізу визначили позитивний кореляційний зв'язок між співвідношенням *Firmicutes/Bacteroidetes* та % ВЖ (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = 0,56$; $p = 0,0004$) та негативний кореляційний зв'язок між співвідношенням *Firmicutes/Bacteroidetes* та % СкМ (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = -0,35$; $p = 0,039$) у хворих II підгрупи. Додатково у хворих на НАЖХП виявлено негативний кореляційний зв'язок між співвідношенням *Firmicutes/Bacteroidetes* та ОС (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = -0,29$; $p = 0,006$).

Кореляційний аналіз зв'язку співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes* та метаболічними показниками виявив позитивний кореляційний зв'язок із ХС ЛПНЩ (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = +0,25$; $p = 0,021$) та інсуліном (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = +0,24$; $p = 0,030$).

Дослідження зв'язку співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes* з іншими бактеріальними пулами виявив позитивний кореляційний зв'язок *Firmicutes/Bacteroidetes* з *Actinobacteria* як у хворих I підгрупи (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = +0,25$, $p = 0,021$), так і II (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = +0,54$; $p = 0,0008$).

4.4. Відносний вміст бактерій філу *Actinobacteria* у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки на тлі ожиріння та надлишкової ваги.

Результати обстеження групи контролю надали можливість визначити референтні значення відносного вмісту *Actinobacteria*, які становили 1–9 %.

У хворих на НАЖХП статистично значущих змін відносного вмісту *Actinobacteria* у порівнянні із групою контролю виявлено не було: відносний вміст *Actinobacteria* у контрольній групі складав – 5,47 [1,64; 12,79] %, у I підгрупі – 5,10 [2,87; 9,14] % та в II – 4,40 [1,64; 7,56] %.

Проте, виявлено статистично значущу залежність відносного вмісту *Actinobacteria* при формуванні суб'єктивних скарг на порушення дефекації (за критерієм Краскела-Уолліса; $H = 5,29$; $p = 0,0214$) та диспепсичних явищ (за критерієм Краскела-Уолліса $H = 5,24$; $p = 0,0220$) (рис. 4.12).

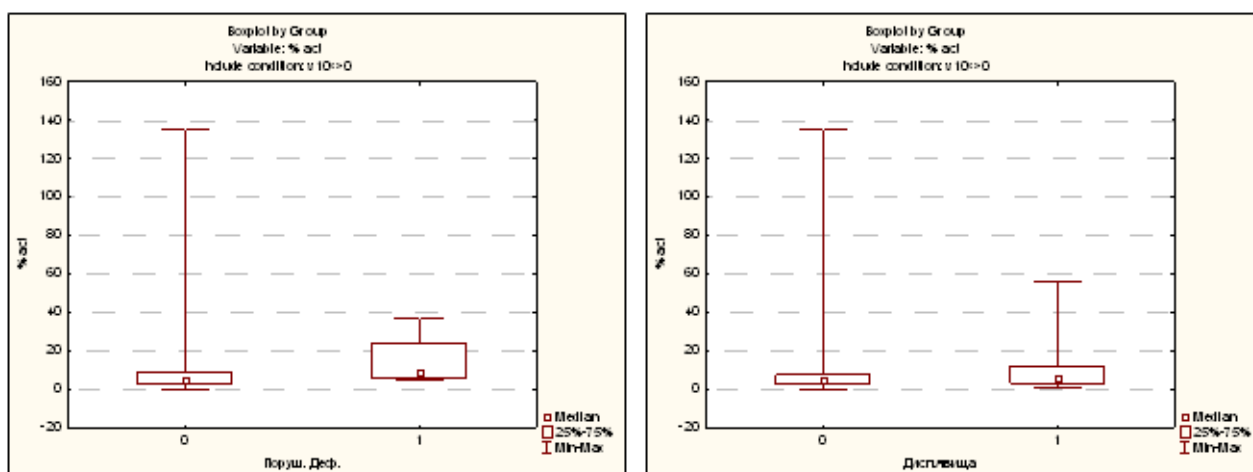


Рис. 4.12. Особливості вмісту *Actinobacteria* у хворих на НАЖХП із суб'єктивними скаргами на порушення дефекації (зліва) та диспепсії (справа): (0) – відсутність скарг, (1) – наявність скарг, % act – відносний вміст *Actinobacteria*(%)

При формуванні суб'єктивних скарг на порушення дефекації у хворих на НАЖХП спостерігалось статистично значуще збільшення відносного вмісту бактерій філотипу *Actinobacteria* практично у 2 рази ($p < 0,05$), а при розвитку диспепсичних розладів – у 1,5 рази ($p < 0,05$).

Результати дослідження продемонстрували позитивний кореляційний зв'язок між відносним вмістом *Actinobacteria* та ОС у хворих на НАЖХП із надлишковою вагою (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = +0,36$; $p = 0,022$).

При вивченні зв'язку відносного вмісту *Actinobacteria* та метаболічних показників визначено негативний кореляційний зв'язок даного пулу бактерій та глікемією натще (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = -0,22$; $p = 0,040$). З іншими клініко-лабораторними показниками кореляційних зв'язків не знайдено ($p > 0,01$).

4.5. Вміст мікроорганізмів інших бактеріальних пулів у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки на тлі ожиріння та надлишкової ваги.

Результати обстеження групи контролю надали можливість визначити референтні значення «інших філотипів», які становили ≤ 33 %.

У контрольній групі відносний вміст мікроорганізмів інших бактеріальних пулів складав 22,60 [16,00 28,75] % і достовірно відрізнявся як у хворих I підгрупи – 18,00 [10,98;27,54] %, так і II – 17,82 [6,97 27,48] %, а також між підгрупами ($p < 0,01$).

Аналіз скарг, які пред'являли обстежувані хворі на НАЖХП, виявив статистично значущі зміни відносного вмісту мікроорганізмів інших бактеріальних пулів у хворих із суб'єктивними скаргами на порушення дефекації (за критерієм Краскела-Уолліса; $H = 5,29$; $p = 0,0214$) та диспепсичні явища (за критерієм Краскела-Уолліса; $H = 42,50$; $p < 0,01$) (рис. 4.13)

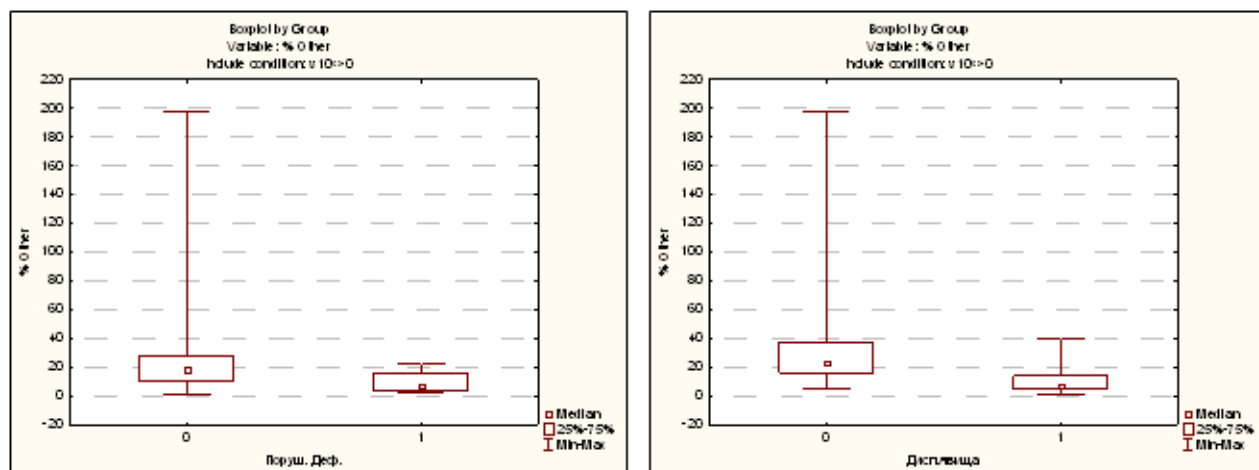


Рис. 4.13. Особливості вмісту «інших» мікроорганізмів у хворих на НАЖХП із суб'єктивними скаргами на порушення дефекації (зліва) та диспепсії (справа): (0) – відсутність скарг, (1) – наявність скарг, % other – відносний вміст інших організмів

У хворих на НАЖХП при формуванні скарг на порушення дефекації у порівнянні із хворими без даної клінічної симптоматики спостерігалось зменшення відносного вмісту мікроорганізмів інших бактеріальних пулів більше ніж у 10 разів ($p < 0,01$). У свою чергу при наявності суб'єктивних відчуттів диспепсичних явищ даний показник знижувався більше ніж у 11 разів ($p < 0,01$).

При проведенні кореляційного аналізу знайдено позитивний кореляційний взаємозв'язок між відносним вмістом мікроорганізмів інших бактеріальних пулів та сироватковою концентрацією ТГ та ХС ЛПДНЩ (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = +0,29$; $p = 0,028$ та $r = -0,21$; $p = 0,049$, відповідно), і, навпаки, негативний кореляційний зв'язок даного показника з сироватковим вмістом глюкози натще та глікозильованим гемоглобіном лише у хворих І підгрупи (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = -0,21$; $p = 0,049$ та $r = -0,29$; $p = 0,007$, відповідно). Взаємозв'язків між відносним вмістом мікроорганізмів інших бактеріальних пулів з іншими показниками виявлено не було ($p > 0,01$).

Таким чином, результати дослідження свідчать про те, що склад КМ за вмістом основних філотипів статистично значуще відрізняється у хворих як І, так і II підгрупи. У хворих обох груп було виявлено збільшення відносної кількості *Firmicutes* та співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes* на тлі зниження відносного вмісту *Bacteroidetes*. Дані зміни були статистично значуще більш вираженими у хворих на НАЖХП при наявності ожиріння та не мали гендерних особливостей.

Також у ході дослідження у хворих основної групи було виявлено достовірне збільшення відносного вмісту *Firmicutes* при наявності таких суб'єктивних скарг, як: порушення дефекації та диспепсичні явища. Варто зазначити, що при вивченні відносного вмісту *Bacteroidetes* спостерігалась протилежна картина: даний показник був зменшений у хворих, які пред'являли вищезазначені скарги.

При аналізі результатів дослідження основних філотипів КМ виявлено низку кореляційних залежностей: у хворих основної групи визначений прямий кореляційний зв'язок відносного вмісту *Firmicutes* з % ВЖ та негативний – між відносним вмістом *Bacteroidetes* та % ВЖ; у свою чергу у хворих II підгрупи додатково було визначено позитивний зв'язок між співвідношенням *Firmicutes/Bacteroidetes* та % ВЖ і негативний – між відносним вмістом *Firmicutes*, співвідношенням *Firmicutes/Bacteroidetes* та % СКМ.

Висунуто припущення про взаємозв'язок КМ із наявністю НАЖХП у хворих як із супутнім ожирінням, так і з надлишковою вагою, яке потребує перевірки зі збільшенням кількості спостережень та має важливе значення для поглиблення розуміння патофізіологічних механізмів розвитку ектопічних жирових депо, зокрема в печінці. Отримані під час дослідження дані можуть опосередковано судити про роль КМ у фіброутворенні.

Результати власних досліджень за дисертаційною темою оприлюднені на міжнародних конференціях [182-186] та опубліковані в статтях, що затверджені ВАК України [187] та цитуються в бібліографічній базі SCOPUS

[188], а також підтверджені свідоцтвом про реєстрацію авторського права на науковий твір [189].

Результати досліджень поданого розділу опубліковані в наукових публікаціях:

1. Черелюк НІ. Співвідношення основних філотипів кишкової мікробіоти у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки та ожиріння. Сучасна Гастроентерологія. 2019;(5):26-33. doi:10.30978/MG-2019-5-26.

2. Fadieienko GD, Chereliuk NI, Galchinskaya VY. Ratio of main phylotypes of gut microbiota in patients with non-alcoholic fatty liver disease depending on the body mass index. Wiad Lek. 2021;74(3 cz 1):523-9. PMID: 33813462.

3. Fadieienko GD, Chereliuk NI, Kurinna OH. Effect of lifestyle modification on proinflammation markers in non-alcoholic fatty liver disease. In: World Congress of Gastroenterology; 2019 Sep 21 – 24; Istanbul, Turkey. Turkish J Gastroenterol. 2019;30(Suppl 3): S258.

4. Fadieienko GD, Chereliuk NI, Kurinna OH, Radzishavska YeB. Relationship between the main phylotypes of intestinal microbiota and comorbid states in patients with nonalcoholic fatty liver disease and obesity. In: 5th Paris NASH Meeting; 2019 Jul 11-12; Paris, France. 2019:Abstract 16.

5. Фадєєнко ГД, Черелюк НІ, Курінна ОГ, Олійник ОВ, Радзишевська ЄБ. Зв'язок між ступенем стеатозу та фіброзу, а також показниками складу тіла у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки із супутнім ожирінням. В: Матеріали науково-практичної конференції молодих вчених за участю міжнародних спеціалістів «Досягнення профілактичної медицини як основа збереження здоров'я і благополуччя»; 2019 трав. 23; Харків, Україна. Харків; 2019. с. 60.

6. Фадєєнко ГД, Черелюк НІ, Курінна ОГ. Співвідношення основних філотипів кишкової мікробіоти у хворих на НАЖХП та супутнє ожиріння. В: Матеріали науково-практичної конференції «Ювілейні терапевтичні читання.

Клінічна та профілактична медицина: досвід та нові напрямки розвитку»; 2019 квіт. 11-12; Харків, Україна. Харків; 2019. с. 256.

7. Chereliuk NI, Fadieienco GD, Gridnyev OE. Effect of body mass index on the ratio of the main microbiota phylotypes in patients with non-alcoholic fatty liver disease. In: 28th United European Gastroenterology Week; 2020 Octob 11-13; Virtual. UEG Journal. 2020;8(S8):S588, P0839.

8. Фадєєнко ГД, Черелюк НІ, Гріднєв ОЄ, Гальчинська ВЮ, винахідники; Спосіб прогнозування розвитку неалкогольної жирової хвороби печінки на тлі ожиріння. Патент України на корисну на корисну модель №144533 від 12.10.2020, МПК (2020.01),G01N33/00Бюл.№ 19.

РОЗДІЛ 5

**ВМІСТ СИРОВАТКОВИХ МАРКЕРІВ ЗАПАЛЕННЯ, РІВНІВ
мікроРНК-122, мікроРНК-34а ТА ЇХ ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК З
ОСНОВНИМИ ФІЛОТИПАМИ КИШКОВОЇ МІКРОБІОТИ У ХВОРИХ
НА НЕАЛКОГОЛЬНУ ЖИРОВУ ХВОРОБУ ПЕЧІНКИ НА ТЛІ
ОЖИРІННЯ ТА НАДЛИШКОВОЇ ВАГИ**

5.1. Рівень мікроРНК-122 у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки на тлі ожиріння та надлишкової ваги.

Результати обстеження групи контролю надали можливість визначити референтні значення вмісту мікроРНК-122, які становили 0,2–7,0 в.о. ($\delta = \pm 30 \%$).

На рисунку 5.1 наочно зображено статистично значуще збільшення рівня мікроРНК-122 у хворих на НАЖХП як I, так і II підгрупи, у порівнянні з групою контролю (за критерієм Краскела-Уолліса; $N = 42,28$; $p < 0,01$).

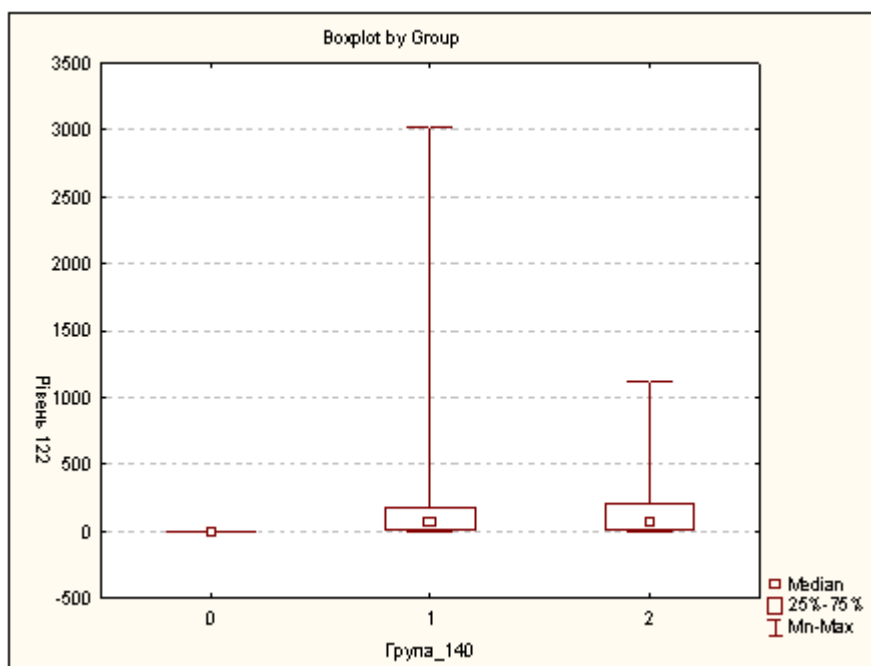


Рис. 5.1. Особливості вмісту мікроРНК-122 у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги: (0) – група контролю, (1) – II підгрупа, (2) – I підгрупа, Рівень 122 – рівень мікроРНК-122 (в.о.)

У контрольній групі рівень мікроРНК-122 складав 1,73 [0,9; 3,66] в.о. і достовірно був нижчим від показників І підгрупи у 39,09 разів та ІІ підгрупи майже у 40 разів, про що судили за медіанними значенням даної мікроРНК. При порівнянні підгруп статистично значущі відмінності виявлені не були: І підгрупі мікроРНК-122 складала 69,98 [13,87; 205,65] в.о, а в ІІ – 71,13 [8,95; 173,79] в.о. ($p > 0,01$).

Вміст мікроРНК-122 мав статистично значущу залежність від стадії фіброзу лише у хворих І підгрупи (за критерієм Краскела-Уолліса; $H = 6,16$; $p = 0,46$) (рис. 5.2).

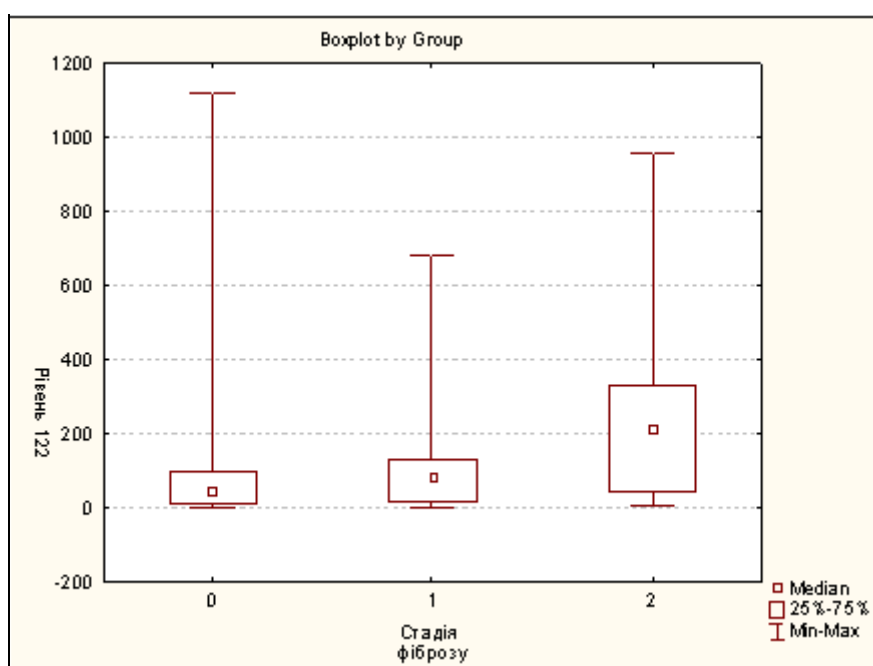


Рис. 5.2. Особливості вмісту мікроРНК-122 у хворих із різними стадіями фіброзу у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння: (0) – стадія фіброзу F0, (1) – стадія фіброзу F1, (2) – стадія фіброзу F2, Рівень 122 – рівень мікроРНК-122 (в.о.)

Виявлені статистично значущі відмінності рівню мікроРНК-122 у хворих з наявністю суб'єктивних скарг на зниження толерантності до фізичних навантажень (за критерієм Манна-Уїтні; $U = 364,50$; $p < 0,01$) (рис. 5.3).

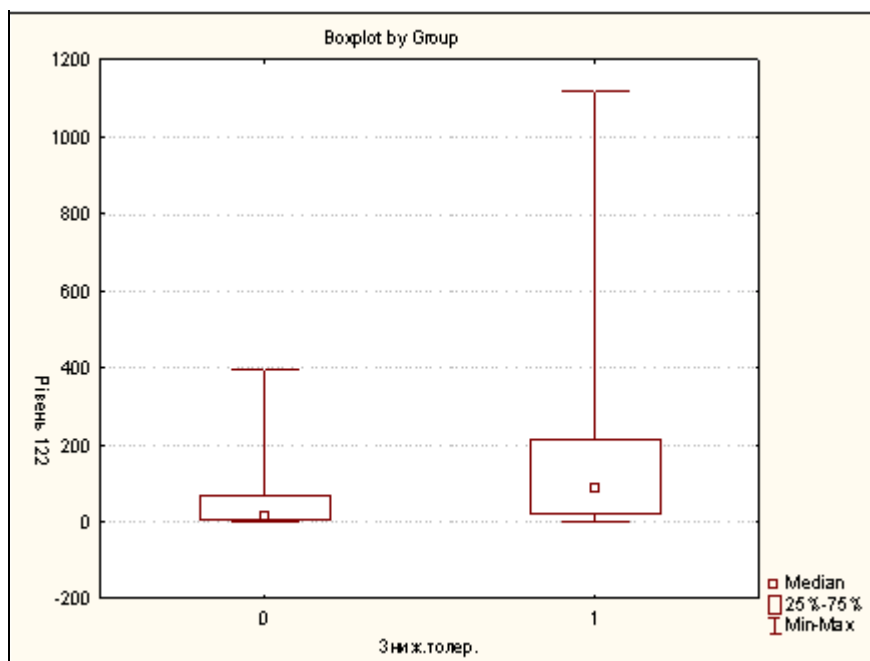


Рис. 5.3. Особливості вмісту мікроРНК-122 у хворих на НАЖХП із суб'єктивними скаргами на зниження толерантності до фізичних навантажень: (0) – відсутність скарг, (1) – наявність скарг, зниж. толер. – зниження толерантності до фізичних навантажень, Рівень 122 – рівень мікроРНК-122 (в.о.)

Як показує коробчастий графік на рисунку 5.3, у хворих основної групи при наявності скарги на зниження толерантності до фізичних навантажень було відмічене достовірне збільшення рівня мікроРНК-122 у плазмі крові більше ніж у 15 разів ($p < 0,01$).

Виявлені також статистично значущі відмінності вмісту мікроРНК-122 у хворих при наявності суб'єктивних скарг на біль та важкість у правому підребер'ї (за критерієм Манна-Уїтні; $U = 355,00$; $p < 0,01$; та $U = 509,50$; $p = 0,029$, відповідно) (рис. 5.4).

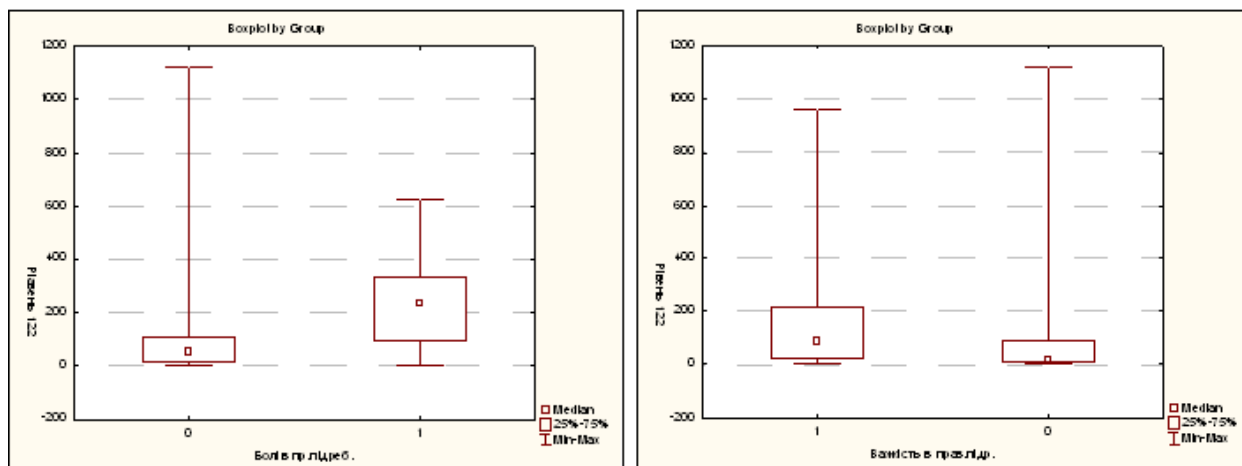


Рис. 5.4. Особливості вмісту мікроРНК-122 у хворих на НАЖХП із суб'єктивними скаргами на біль (зліва) та важкість у правому підребер'ї (справа): (0) – відсутність скарг, (1) – наявність скарг, болі в пр. підреб. – біль у правому підребер'ї, важкість у прав. підреб. – важкість у правому підребер'ї, Рівень 122 – рівень мікроРНК-122 (в.о.)

У хворих основної групи при наявності скарг на біль та важкість у правому підребер'ї було відмічене збільшення рівню мікроРНК-122 у порівнянні з хворими, які не пред'являли дані скарги, більше ніж у 10 та 12 разів, відповідно ($p < 0,01$).

При проведенні кореляційного аналізу знайдено позитивний кореляційний зв'язок між рівнем мікроРНК-122 та такими антропометричними показниками, як: ОТ (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = +0,26$; $p = 0,0164$) та ОС (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = +0,28$; $p = 0,0078$).

Крім того, для хворих I підгрупи був виявлений кореляційний зв'язок між рівнем мікроРНК-122 та показниками функціонального стану печінки: концентрацією загального білірубину (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = +0,27$; $p = 0,0136$) та його фракцій – прямим та непрямим білірубіном (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = +0,23$; $p = 0,0358$ та $r = +0,24$; $p = 0,0170$, відповідно); а також з ультрасонографічними розмірами печінки,

а саме: товщиною лівої долі (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = +0,27$; $p = 0,0120$).

Для хворих як I, так і II підгрупи виявлено зв'язок рівня мікроРНК-122 зі змінами складу КМ, зокрема співвідношенням *Firmicutes/Bacteroidetes* (рис. 5.5).

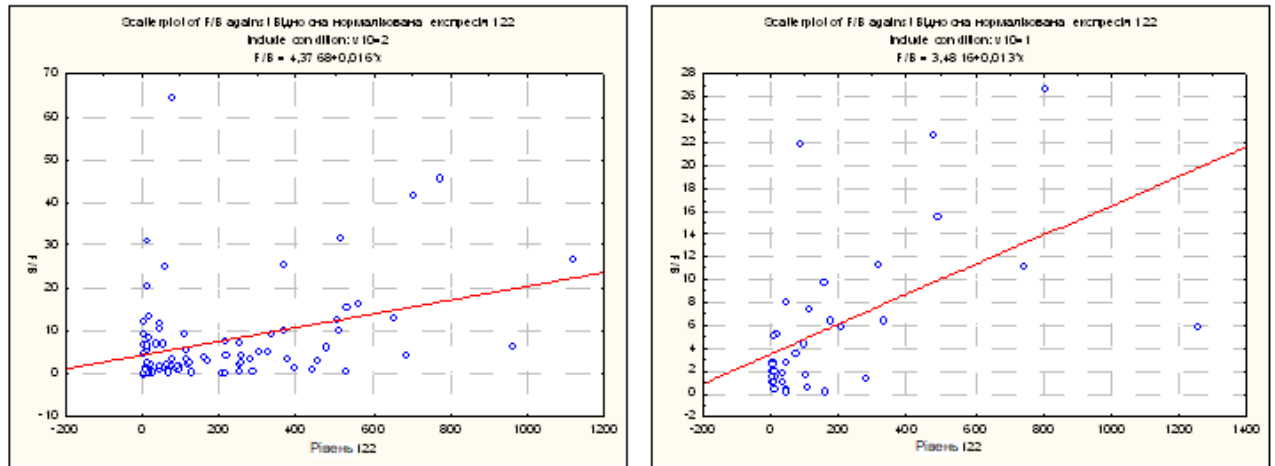


Рис. 5.5. Кореляційний зв'язок вмісту мікроРНК-122 зі співвідношенням *Firmicutes/Bacteroidetes* у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння (зліва) та надлишкову вагу: F/B – співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes*, Рівень 122 – рівень мікроРНК-122 (в.о.)

Зростання рівня мікроРНК-122 асоційоване зі збільшенням співвідношенням *Firmicutes/Bacteroidetes* у хворих як I (коефіцієнт кореляції Спірмена $r=0,27$; $p=0,0117$), так і II підгруп (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = 0,56$; $p = 0,0003$).

Кореляційний аналіз виявив сильний негативний зв'язок між рівнем мікроРНК-122 та відносним вмістом *Bacteroidetes* (рис. 5.6).

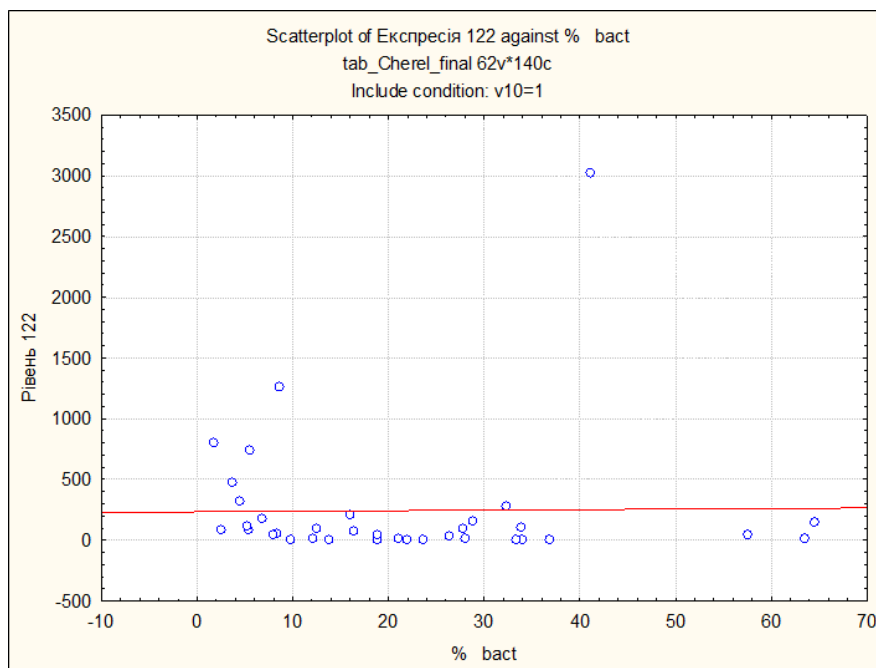


Рис. 5.6. Кореляційний зв'язок відносного вмісту *Bacteroidetes* у хворих на НАЖХП та надлишкову вагу з рівнем мікроРНК-122:

Рівень 122 – рівень мікроРНК-122 (в.о.),

% bact – відносний вміст *Bacteroidetes* (%)

Слід зазначити, що лише у хворих II підгрупи зниження рівня мікроРНК-122 супроводжувалось зростанням відносного вмісту *Bacteroidetes* (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = -0,34$; $p = 0,043$).

5.2. Рівень мікроРНК-34а у хворих на неалкогольну жирову хворобку печінки на тлі ожиріння та надлишкової ваги.

Результати обстеження групи контролю надали можливість встановити референтні значення вмісту мікроРНК-34а, які склали (0,3–1,8) в.о. ($\delta = \pm 30\%$).

На рисунку 5.7 наочно зображено статистично значуще збільшення рівня мікроРНК-34а у хворих на НАЖХП як I, так і II підгрупи, у порівнянні з групою контролю (за критерієм Краскела-Уолліса; $H = 20,97$; $p < 0,01$).

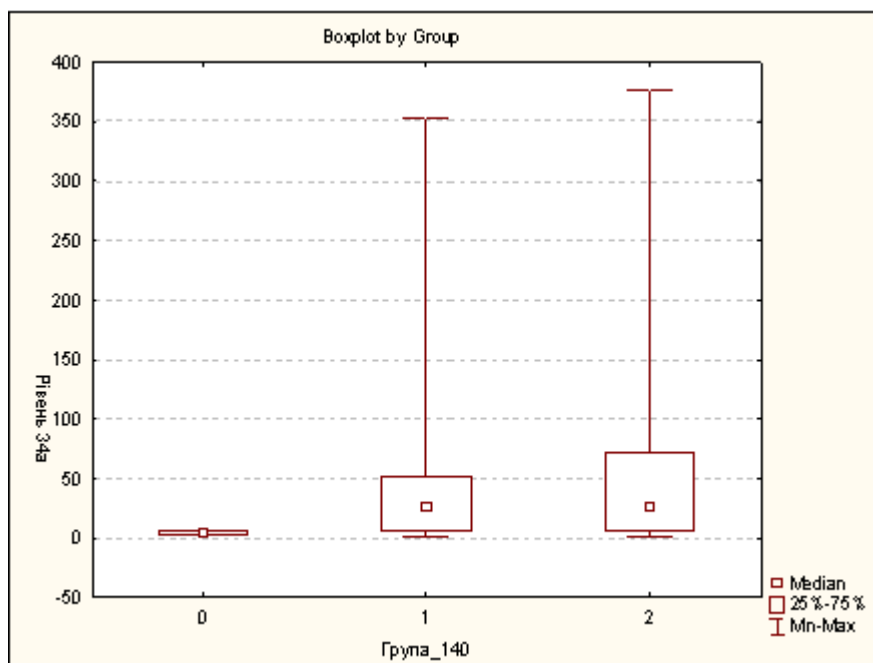


Рис. 5.7. Особливості вмісту мікроРНК-34а у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги: (0) – група контролю, (1) – II підгрупа, (2) – I підгрупа, Рівень 34а – рівень мікроРНК-34а (в.о.)

У контрольній групі рівень мікроРНК-34а складав 4,08 [3,27; 5,70] в.о. і достовірно був нижчим від показників I підгрупи у 6,4 рази та II підгрупи у 6,2 рази, про що судили за медіанними значенням даної мікроРНК. При порівнянні підгруп статистично значущі відмінності виявлені не були: у I підгрупі мікроРНК-34а складала 26,12 [6,11; 71,30] в.о., а в II – 25,74 [5,8; 52,07] в.о. ($p > 0,01$).

Аналіз скарг, які пред'являли обстежувані хворі на НАЖХП, виявив статистично значущі зміни рівня мікроРНК-34а у хворих із суб'єктивними скаргами на зниження толерантності до фізичних навантажень (за критерієм Манна-Уїтні; $U = 288,00; p < 0,01$) та болі у правому підребер'ї (за критерієм Манна-Уїтні; $U = 416,00; p < 0,01$, відповідно) (рис. 5.8).

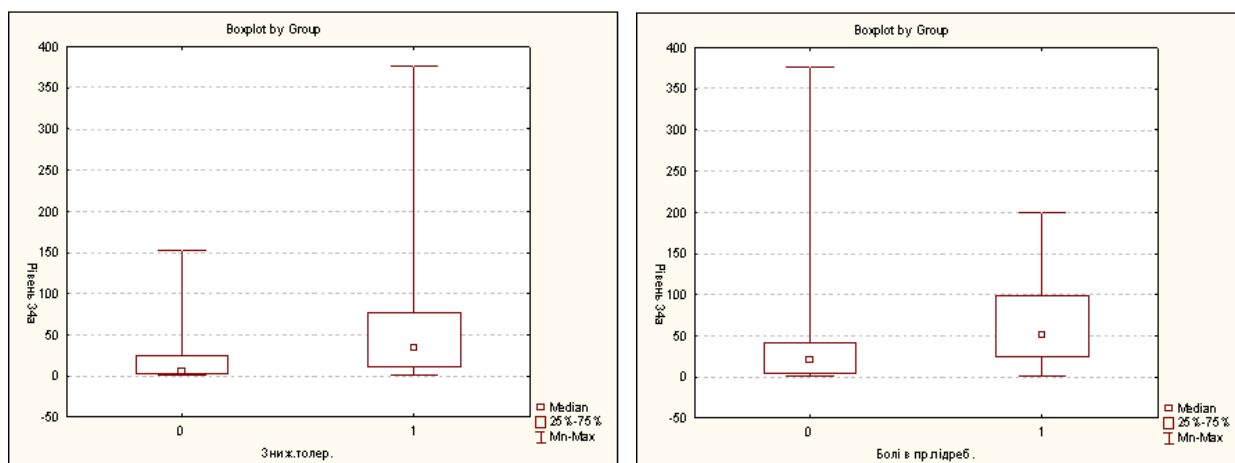


Рис. 5.8. Особливості вмісту мікроРНК-34а у хворих на НАЖХП із суб'єктивними скаргами на зниження толерантності до фізичних навантажень (зліва) та болі у правому підребер'ї (справа): (0) – відсутність скарг, (1) – наявність скарг, зниж. толер. – зниження толерантності до фізичних навантажень, болі в пр. підреб. – біль у правому підребер'ї, Рівень 34а – рівень мікроРНК-34а (в.о.)

У хворих на НАЖХП при наявності скарг на зниження толерантності до фізичних навантажень у порівнянні із хворими без зазначених явищ спостерігалось збільшення вмісту мікроРНК-34а у 9,5 разів ($p < 0,01$). У хворих основної групи при наявності скарг на болі у правому підребер'ї було відмічене достовірне збільшення вмісту мікроРНК-34а майже у 2 рази ($p < 0,01$) у порівнянні із хворими, які не пред'являли даної скарги.

При проведенні кореляційного аналізу знайдено позитивні кореляційні зв'язки між рівнем мікроРНК-34а та ОС (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = +0,30$; $p = 0,0051$) і % ЖТ (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = +0,37$; $p = 0,0200$), а також негативний – з % СкМ (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = -0,26$; $p = 0,0152$), які досягали статистичної значущості лише у хворих І підгрупи (рис. 5.9).

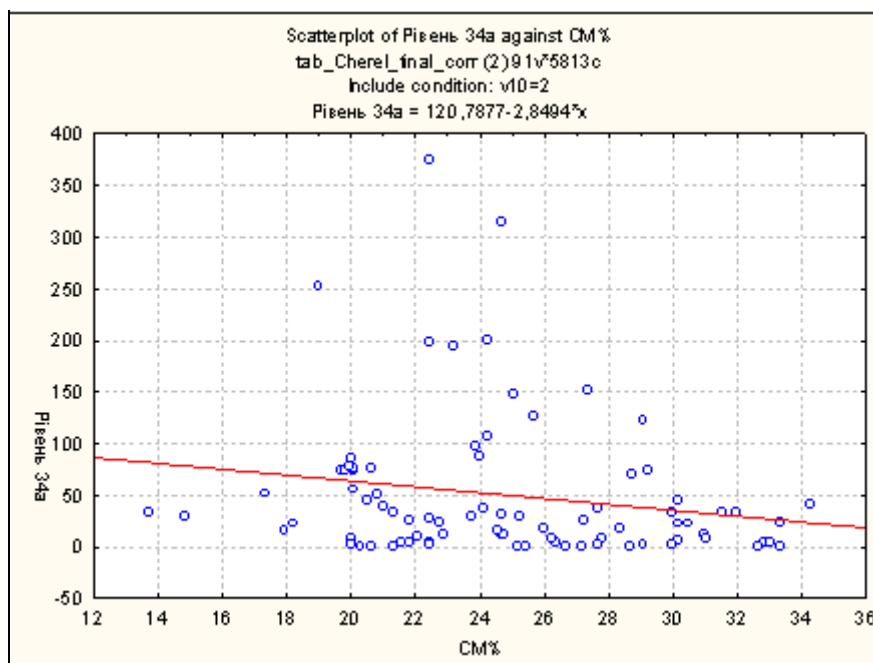


Рис. 5.9. Кореляційний зв'язок вмісту мікроРНК-34а з % СкМ у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння: CM % – відсоток скелетної мускулатури, Рівень 34а – рівень мікроРНК-34а (в.о.)

У пацієнтів групи контролю виявлено негативний кореляційний зв'язок між рівнем мікроРНК-34а та сироватковою концентрацією загального білірубину (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = -0,45$; $p = 0,0478$).

Кореляційний аналіз виявив сильний негативний зв'язок між вмістом мікроРНК-34а та відносним вмістом *Bacteroidetes* (рис. 5.10).

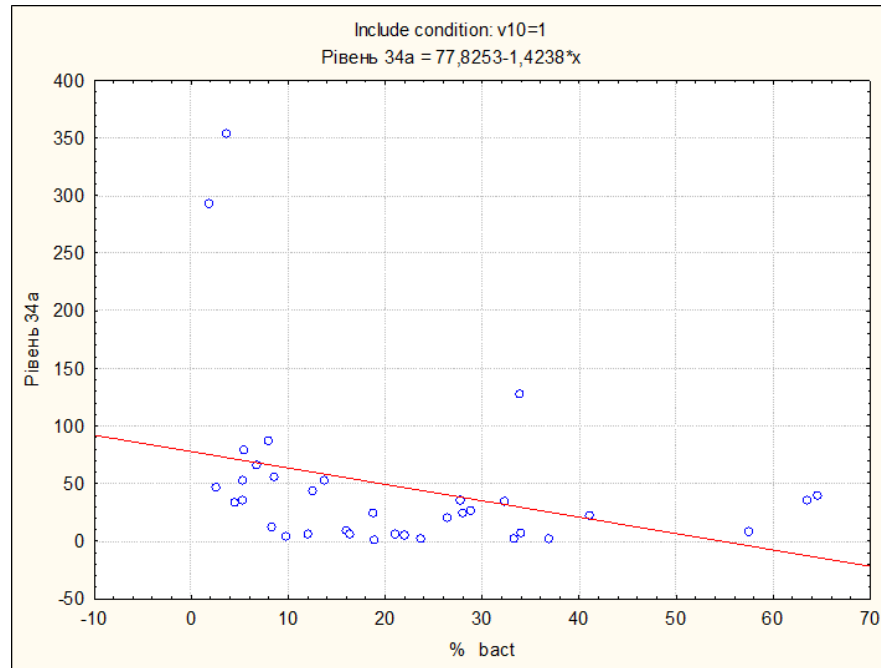


Рис. 5.10. Кореляційний зв'язок вмісту мікроРНК-34а з відносним вмістом *Bacteroidetes* у хворих на НАЖХП та надлишкову вагу:

Рівень 34а –мікро рівень РНК-34а (в.о.),
 % *bact* – відносний вміст *Bacteroidetes* (%)

Зростання відносного вмісту *Bacteroidetes* супроводжувалось зниженням рівня мікроРНК-34а (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = -0,44$; $p = 0,0086$), що досягало статистичної значущості лише для хворих II підгрупи.

Крім того, для пацієнтів II підгрупи виявлено зв'язок мікроРНК-34а зі співвідношенням *Firmicutes/Bacteroidetes* (рис. 5.11).

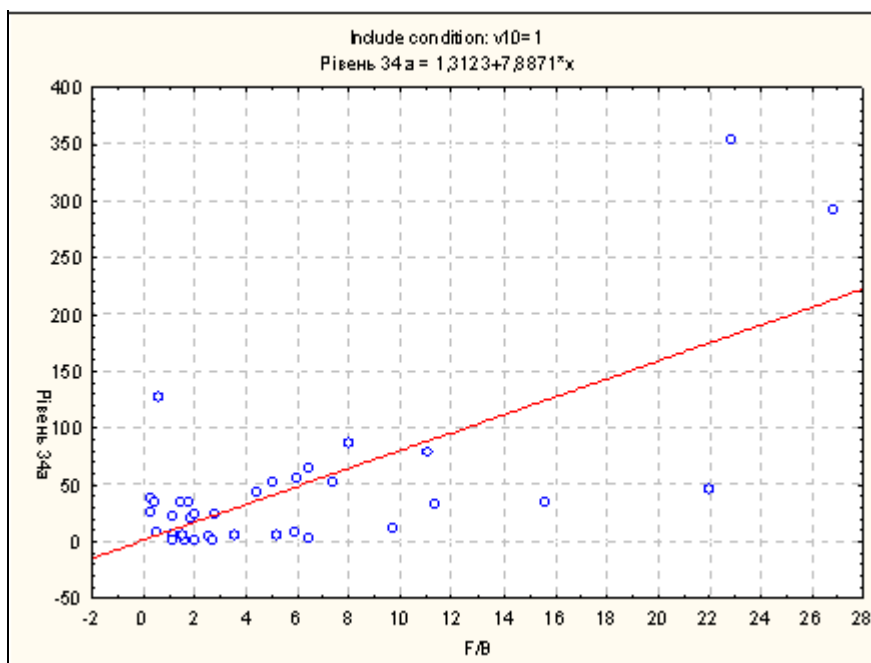


Рис. 5.11. Кореляційний зв'язок співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes* із вмістом мікроРНК-34а у хворих на НАЖХП та надлишкову вагу:

Рівень 34а – рівень мікроРНК-34а, F/B – співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes*, (в.о.)

Зростання вмісту мікроРНК-34а було асоційоване із збільшенням співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes* (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = 0,38$; $p = 0,0231$).

Окремо для хворих I підгрупи також було виявлено позитивний кореляційний зв'язок між рівнями мікроРНК-34а та мікроРНК-122 (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = +0,72$; $p = 0,001$).

5.3. Вміст сироваткових маркерів запалення вчСРП та ФНП-альфа у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки на тлі ожиріння та надлишкової ваги.

Для вивчення інтенсивності системного запалення у всіх хворих були визначені концентрації таких маркерів запалення як вчСРП та ФНП-альфа (табл 5.1). Результати обстеження групи контролю надали можливість

визначити референтні значення рівня вчСРП, які становили 0–5 мг/л ($\delta = \pm 5 \%$) та ФНП-альфа – 0–6 пг/мл ($\delta = \pm 10 \%$).

Таблиця 5.1

Маркери системного запалення у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишковою ваги та у контрольній групі

Показник	Основна група (n = 120)		Контрольна група (n = 20)
	НАЖХП на тлі ожиріння (n = 85)	НАЖХП та надлишкова вага (n = 35)	
вчСРП, мг/л	7,94 [6,30; 9,90]	5,39 [5,04; 7,05]	1,66 [0,96; 2,61]
	p < 0,01		
ФНП-альфа, пг/мл	7,04 [6,16; 8,36]	6,06 [5,23; 7,042]	5,95 [4,76; 6,99]
	p > 0,05		

При дослідженні рівнів вчСРП було виявлено, що найбільша концентрація зазначеного маркера спостерігалась у хворих I підгрупи й становила 7,94 мг/л та перевищувала показник групи контролю у 4,87 рази ($p < 0,01$). У II підгрупі даний показник був дещо нижчим та складав 5,39 мг/мл, що у 3,23 рази більше за групу контролю ($p < 0,01$).

При визначенні концентрації ФНП-альфа статистично значущих відмінностей медіан даного показника між підгрупами та групою контролю виявлено не було.

Аналіз взаємозв'язків рівня мікроРНК-122 з маркерами запалення виявив статистично значущі закономірності між мікроРНК-122 та вчСРП у хворих як I, так і II підгруп (рис. 5.12).

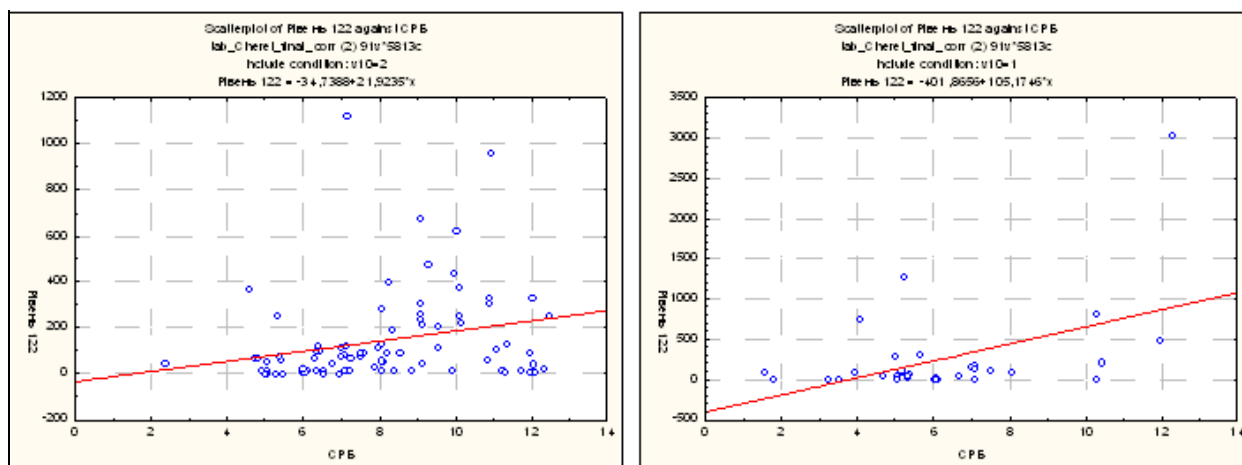


Рис. 5.12. Кореляційний зв'язок вмісту мікроРНК-122 з концентрацією вчСРП у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння (зліва) та надлишкової ваги (справа): вчСРП – високочутливий С-реактивний протеїн (мг/л), Рівень 122 – рівень мікроРНК-122 (в.о.)

Діаграми, зображені на рисунку 5.12, демонструють прямий сильний кореляційний зв'язок між концентрацією вчСРП та з рівнем мікроРНК-122 у хворих I та II підгруп (коефіцієнти кореляції Спірмена $r = +0,36$; $p = 0,0008$ та $r = +0,34$; $p = 0,0406$, відповідно). Тобто збільшення сироваткової концентрації вчСРП асоційовано зі збільшенням рівня мікроРНК-122 у плазмі крові хворих обох підгруп.

У хворих I підгрупи виявлено слабкий позитивний кореляційний зв'язок між рівнем мікроРНК-122 та сироватковою концентрацією ФНП-альфа (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = +0,23$; $p = 0,0353$) (рис. 5.13).

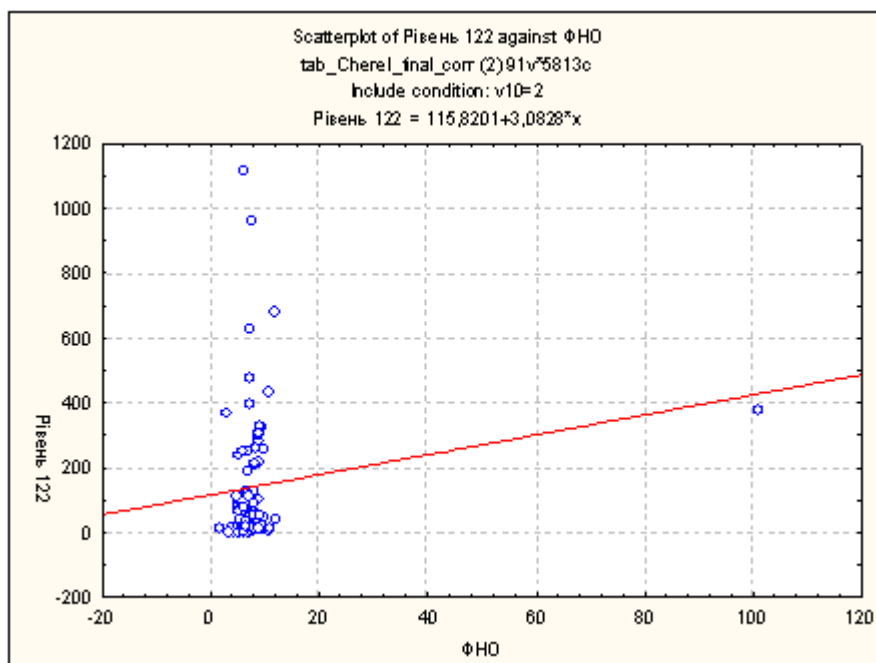


Рис. 5.13. Кореляційний зв'язок вмісту мікроРНК-122 з концентрацією ФНП-альфа у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння: ФНП-альфа – фактор некрозу пухлини альфа (пг/мл), Рівень 122 – рівень мікроРНК-122 (в.о.)

Збільшення сироваткової концентрації ФНП-альфа призводило до незначного збільшення вмісту мікроРНК-122, що досягало статистичної значущості лише у пацієнтів I підгрупи.

Результати аналізу зв'язків високочутливих маркерів запалення (вчСРП та ФНП-альфа) з відносним вмістом основних філотипів КМ у хворих на НАЖХП на тлі надлишкової ваги та ожиріння наведені в таблиці 5.2 та таблиці 5.3, відповідно.

Таблиця 5.2

Кореляційні зв'язки основних філотипів КМ з маркерами системного запалення у хворих з НАЖХП з надлишковою вагою

	N	Коефіцієнт Spearman	t(N-2)	p
вчСРП & % <i>Bacteroidetes</i>	35	-0,229412	-1,35398	0,184943
вчСРП & % <i>Firmicutes</i>	35	0,001961	0,01126	0,991081
вчСРП & % <i>Actinobacteria</i>	35	0,061909	0,35632	0,723866
вчСРП & % інші	35	-0,093277	-0,53818	0,594062
ФНП-альфа & % <i>Bacteroidetes</i>	35	0,099187	0,57261	0,570788
ФНП -альфа & % <i>Firmicutes</i>	35	0,155506	0,90431	0,372384
ФНП-альфа & % <i>Actinobacteria</i>	35	-0,004063	-0,02334	0,981519
ФНП -альфа & % інші	35	-0,219950	-1,29523	0,204228

Таблиця 5.3

Кореляційні зв'язки основних філотипів кишкової мікробіоти з маркерами системного запалення у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння

	N	Коефіцієнт Spearman	t(N-2)	p
вчСРП & % <i>Bacteroidetes</i>	85	-0,070414	-0,64310	0,521935
вчСРП & % <i>Firmicutes</i>	85	0,010583	0,09642	0,923422
вчСРП & % <i>Actinobacteria</i>	85	0,006928	0,06312	0,949824
вчСРП & % інші	85	0,007387	0,06730	0,946502
ФНП-альфа & % <i>Bacteroidetes</i>	85	-0,038378	-0,34989	0,727305

ФНП-альфа & % <i>Firmicutes</i>	85	0,080390	0,73476	0,464555
ФНП-альфа & % <i>Actinobacteria</i>	85	-0,176853	-1,63702	0,105414
ФНП-альфа & % інші	85	-0,008423	-0,07674	0,059015

Як свідчать вищенаведені дані, статистично значущих кореляційних зв'язків у хворих як I, так і II підгруп виявлено не було. Проте при аналізі сукупної групи хворих на НАЖХП (n = 120), без розподілу на підгрупи, було виявлено кореляційний зв'язок відносного вмісту *Firmicutes* з маркерами запалення: вчСРП (рис. 5.14) та дуже слабкий ФНП-альфа.

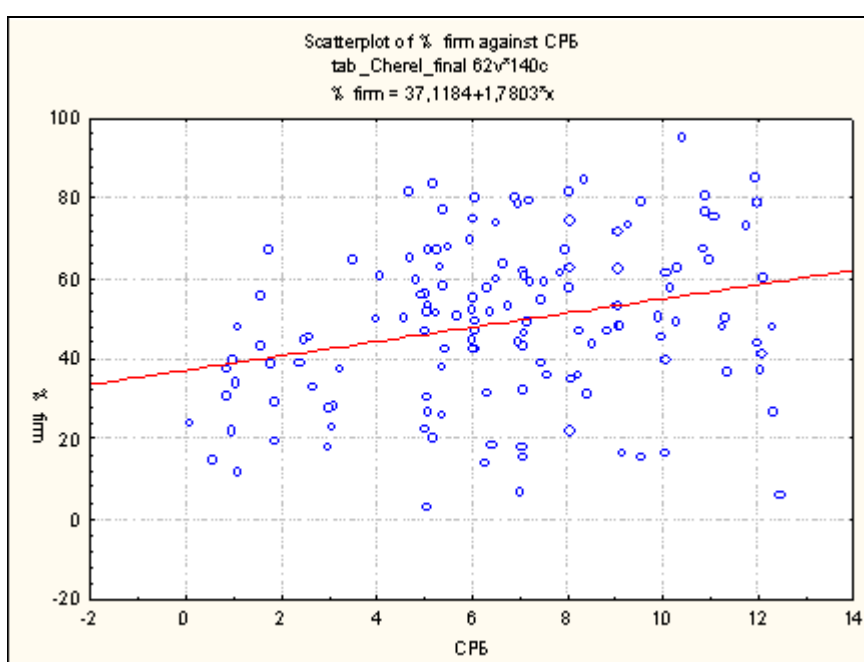


Рис. 5.14. Кореляційний зв'язок концентрації вчСРП з відносним вмістом *Firmicutes* у хворих на НАЖХП: вчСРП – високочутливий С-реактивний протеїн (мг/л), % *firm* – відносний вміст *Firmicutes* (%)

Так при проведенні кореляційного аналізу виявлено позитивний кореляційний зв'язок між відносним вмістом *Firmicutes* та сироватковою концентрацією вчСРП (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = + 0,25$; $p = 0,002$) і ФНП-альфа (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = + 0,17$; $p = 0,035$).

На рисунку 5.15 зображено зворотній помірний зв'язок між відносним вмістом *Bacteroidetes* та концентрацією вчСРП.

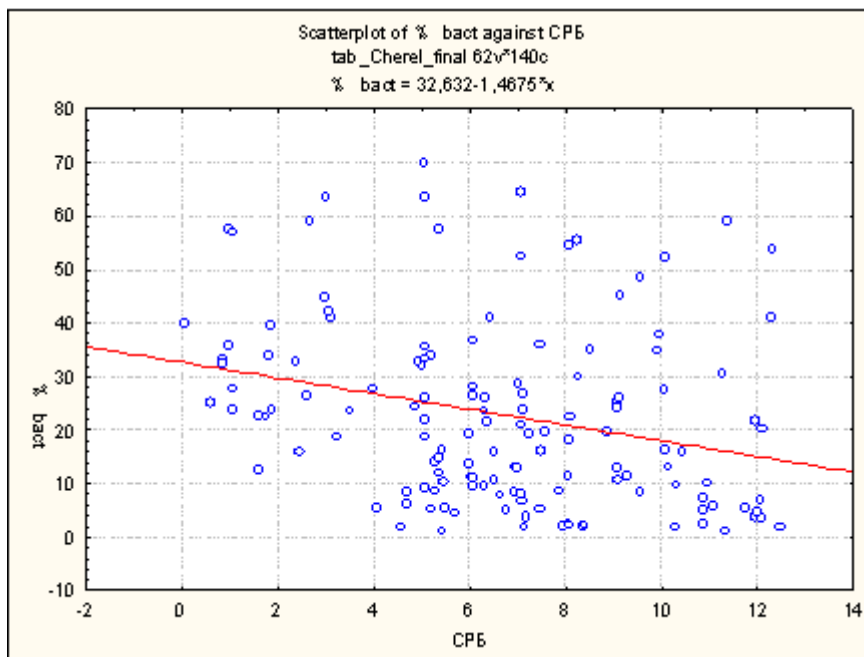


Рис. 5.15. Кореляційний зв'язок концентрації вчСРП з відносним вмістом *Bacteroidetes* у хворих на НАЖХП: вчСРП – високочутливий С-реактивний протеїн (мг/л), % *bact* – відносний вміст *Bacteroidetes* (%)

Кореляційний аналіз виявив зменшення сироваткової концентрації вчСРП на тлі зростання відносного вмісту *Bacteroidetes* (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = -0,29$; $p = 0,0003$).

Таким чином, у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги визначені статистично значущі зміни як мікроРНК-122 та -34а, так і прозапальних маркерів вчСРП та ФНП-альфа, що асоційовані із вірогідними змінами складу КМ.

У хворих на НАЖХП на тлі ожиріння спостерігалось збільшення рівня мікроРНК-122 та -34а, що було менш вираженим у хворих на НАЖХП на тлі надлишкової ваги. Підвищення мікроРНК-122 було асоційоване з особливостями клінічного перебігу НАЖХП: формуванням таких скарг, як зниження толерантності до фізичних навантажень, а також біль та важкість у правому підребер'ї. Крім того, збільшення рівня мікроРНК-122 було пов'язано з патогенетичними чинниками та сигнатурами НАЖХП: маркерами вісцерального ожиріння – показником ОТ та ОС; збільшенням

рівнів загального білірубіну та його фракцій; гепатомегалії за рахунок лівої долі за даними УЗД. Особливо слід підкреслити асоціативний зв'язок рівня мікроРНК-122 та стадії фіброзу печінки.

Збільшення рівня мікроРНК-34а також асоційоване з формуванням клінічних особливостей НАЖХП: розвитком суб'єктивних скарг на зниження толерантності до фізичних навантажень та болів у правому підребер'ї. Вміст мікроРНК-34а збільшувався при збільшенні % ЖТ – фактора ризику жирової дистрофії печінки.

Зміни мікроРНК-122 та -34а були асоційовані з особливостями складу КМ. Проте, якщо збільшення вмісту мікроРНК-122 було пов'язане із зростанням співвідношенням *Firmicutes/Bacteroidetes* як у хворих на НАЖХП на тлі надлишкової ваги, так і на тлі ожиріння, то відповідний взаємозв'язок між мікроРНК-34а та співвідношенням *Firmicutes/Bacteroidetes* і окремо *Firmicutes*, а також мікроРНК-122 із *Firmicutes* був визначений лише у хворих на НАЖХП на тлі надлишкової ваги.

Перебіг НАЖХП характеризувався статистично значущим збільшенням вмісту сироваткових маркерів запалення – зростанням концентрацій вчСРП та ФНП-альфа. Проте, окремо вплив ожиріння на дані показники визначено не було.

Збільшення концентрації вчСРП в сироватці крові було асоційоване із зниженням відносного вмісту *Bacteroidetes* на тлі зростання вмісту бактерій філотипу *Firmicutes*. У свою чергу збільшення пулу *Firmicutes* додатково було пов'язане із зростанням сироваткового вмісту ФНП-альфа.

Отримані дані підкреслюють залученість прозапальних маркерів вчСРП та ФНП-альфа, мікроРНК-122 та -34а, а також асоційованих змін складу КМ в патофізіологічні процеси розвитку НАЖХП та формування клініко-лабораторних особливостей перебігу захворювання, зокрема розвиток фіброзу. За активністю запалення можна побічно судити про рівень процесів фіброутворення у печінці.

Результати власних досліджень за дисертаційною темою оприлюднені на міжнародних конференціях [190,191].

Результати досліджень поданого розділу опубліковані в наукових публікаціях:

1. Фадєєнко ГД, Черелюк НІ. Визначення рівнів експресії miR-34a та miR-122 у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки із супутнім ожирінням. В: Матеріалах міжнародної науково-практичної конференції «Вітчизняна та світова медицина в умовах сучасності»; 2020 січ. 10-11; Дніпро, Україна. Дніпро; 2020. с. 91-96.

2. Фадєєнко ГД, Черелюк НІ, Гальчінська ВЮ, Бондар ТМ. Взаємозв'язок показників стану мікробіоти з рівнем мікрорнк-34a та мікрорнк-122 у пацієнтів з неалкогольною жировою хворобою печінки на тлі ожиріння чи надлишкової ваги. В: Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Щорічні терапевтичні читання. Неінфекційні захворювання: профілактика та зміцнення здоров'я в Україні»; 2021 квіт. 22-23; Харків, Україна. Харків;2021. с.155.

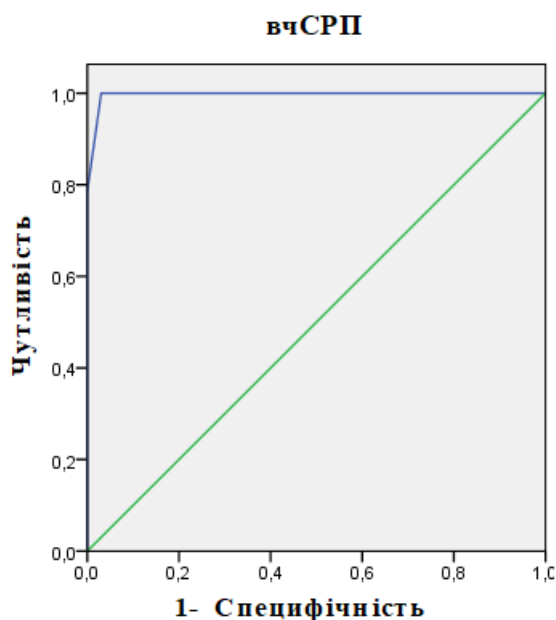
РОЗДІЛ 6

АЛГОРИТМ РАННЬОЇ ДІАГНОСТИКИ ФІБРОЗУ У ХВОРИХ НА НЕАЛКОГОЛЬНУ ЖИРОВУ ХВОРОБУ ПЕЧІНКИ НА ТЛІ ОЖИРІННЯ ТА НАДЛИШКОВОЇ ВАГИ

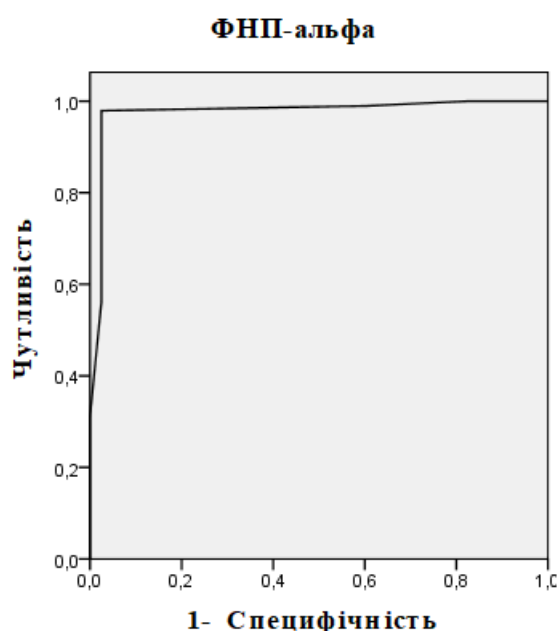
З метою розробки алгоритму ранньої діагностики фіброзу було проведено розвідувальний аналіз діагностичних маркерів фіброзу у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги, що дозволило визначити, крім традиційних діагностичних факторів (ІМТ, ОТ, АЛТ, АСТ, ГГТП, індекс НОМА, концентрація ЗХС та ХС ЛПНЩ), додаткові – % ВЖ, сироваткові концентрації прозапальних маркерів вчСРП та ФНП-альфа, рівня мікроРНК-122 та -34а в плазмі крові, а також співвідношення основних філотипів КМ F/V.

Для пошуку значення діагностичного параметра, що розділяє хворих та здорових (cut-off value), для кожного з інформаційно значущих показників використовували апарат характеристичних (ROC) кривих (рис. 6.1). Критерієм оцінювання точності тесту для кожного з показників була площа під ROC-кривою, що мала бути максимально наближеною до 1. При знаходженні точки розділу здорові-хворі перевагу надавали чутливості тесту попри його специфічність. Розрахунки проводили за допомогою програмного забезпечення SPSS.

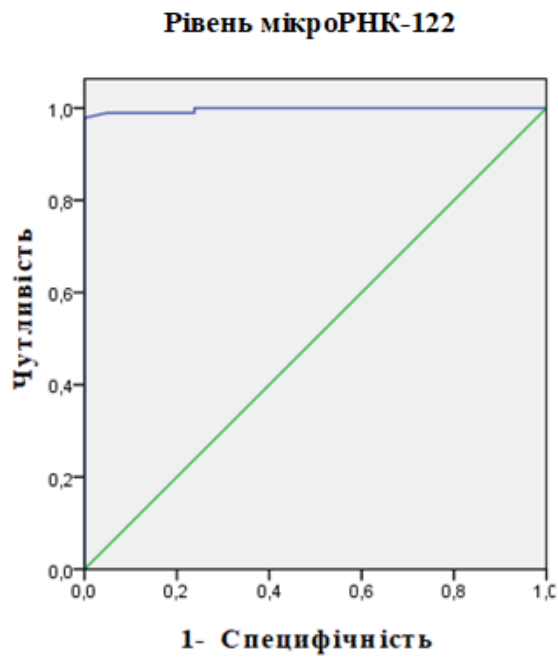
а)



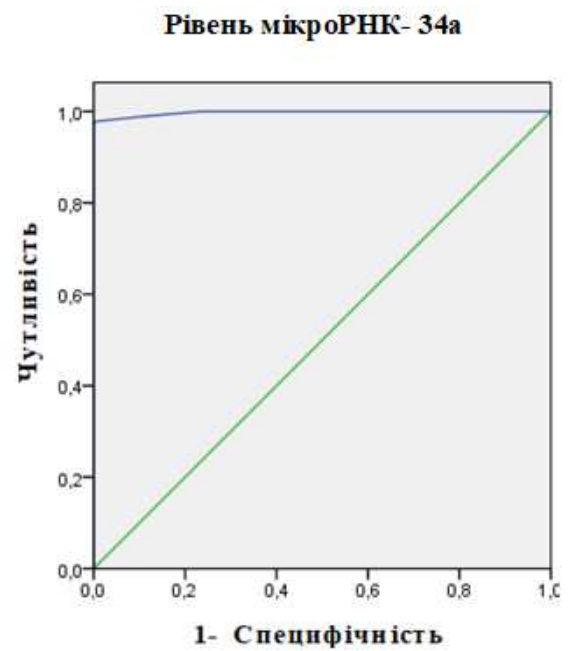
б)



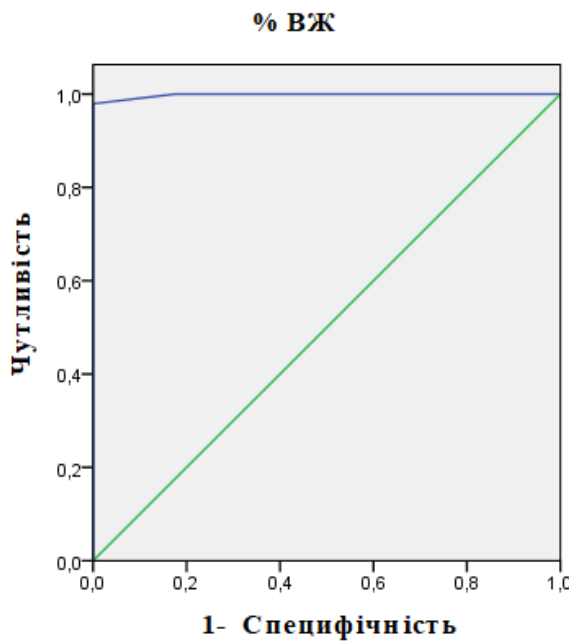
в)



г)



д)



е)

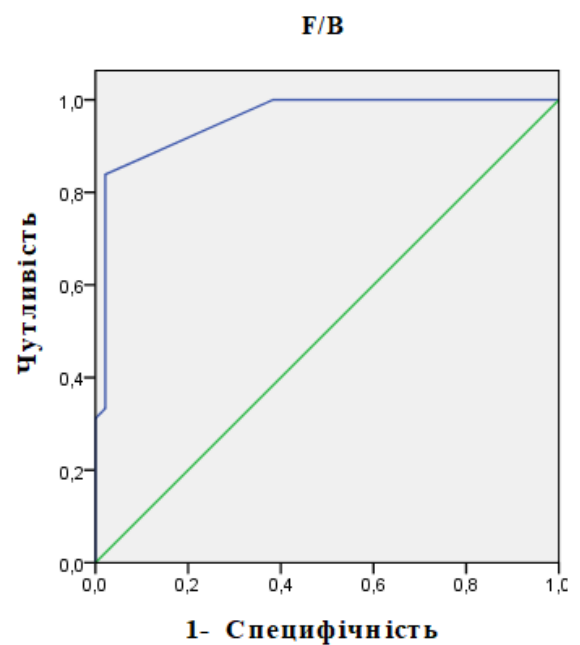


Рис. 6.1. ROC-криві діагностичних параметрів визначення фіброзу у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги: (а) сироваткова концентрація вчСРП мг/л; (б) сироваткова концентрація ФНП-альфа (пг/мл); (в) рівень мікроРНК-122 (в.о.); (г) рівень рівень мікроРНК-34а (в.о.); (д) частка вісцерального жиру % ВЖ (%); (е) співвідношення основних філотипів КМ F/V

Аналіз ROC-кривих дозволив визначити cut-off value для кожного з додаткових діагностичних критеріїв: cut-off value для сироваткової концентрації вчСРП – 4,5 мг/л (AUC = 0,99, чутливість 1,00, специфічність 0,030; $p < 0,05$); для сироваткової концентрації ФНП-альфа – 5,5 пг/мл (AUC = 0,97, чутливість 0,98, специфічність 0,025; $p < 0,05$); для рівня мікроРНК-122 – 12,50 в.о. (AUC = 0,99, чутливість 0,98, специфічність 0,048; $p < 0,05$); для рівня мікроРНК-34a – 5,50 в.о. (AUC = 0,98, чутливість 0,98, специфічність 0,106; $p < 0,05$); для % ВЖ складав 8,5 % (AUC = 0,99, чутливість 1,00, специфічність 0,175; $p < 0,05$); для співвідношення основних філотипів КМ F/B – 1,51 (AUC = 0,95, чутливість 0,83, специфічність 0,021; $p < 0,05$).

Отримані нами дані стали підставою для створення алгоритму раннього діагностики фіброзу у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової маси тіла.

Алгоритм ранньої діагностики розвитку фіброзу у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги (рис. 6.2).

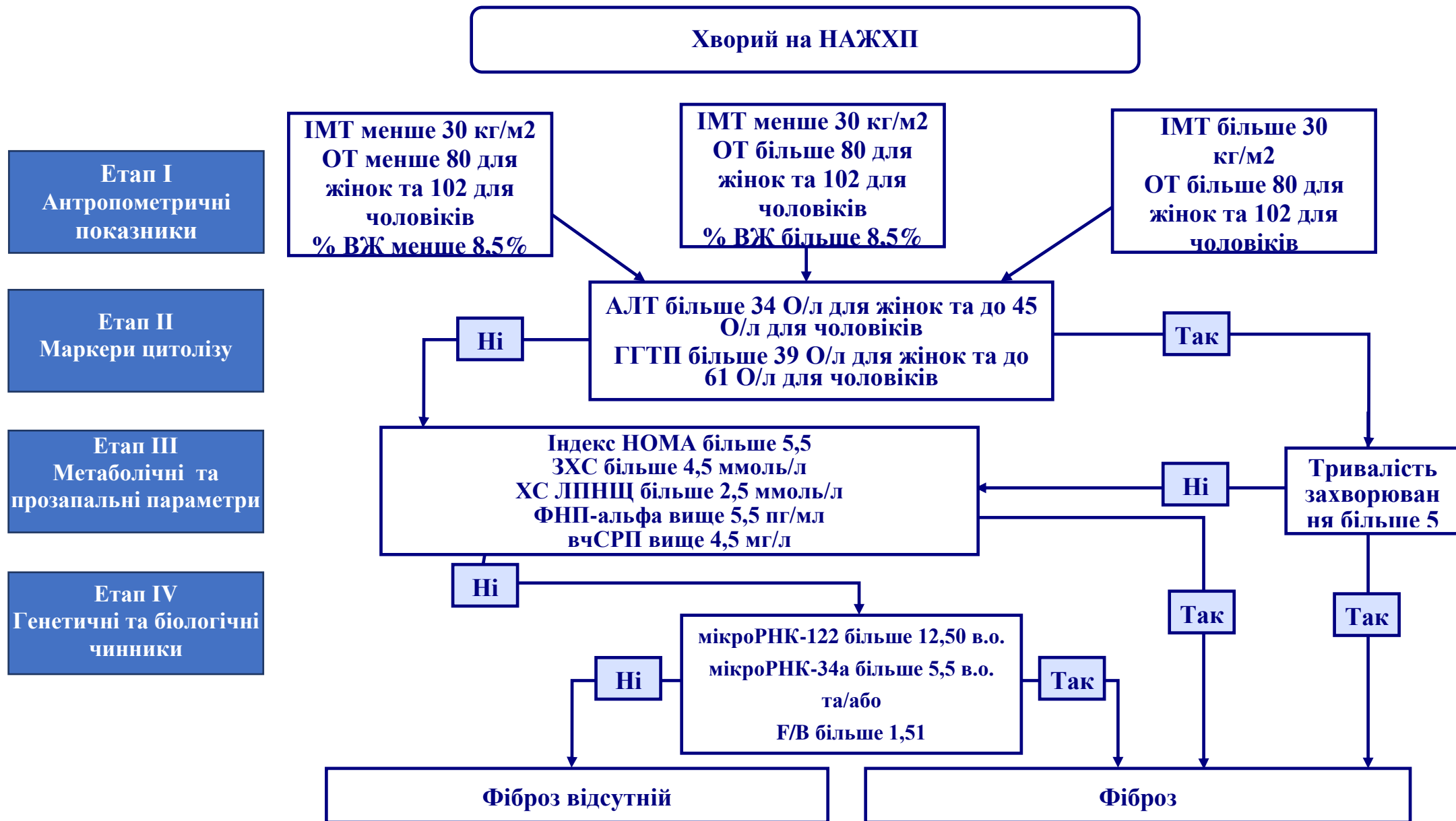


Рис. 6.2. Алгоритм ранньої діагностики фіброзу у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги.

Запропонований алгоритм ранньої діагностики фіброзу у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги складається з 4 наступних етапів та визначення значущих діагностичних факторів зі значенням їх cut-off value.

1. Етап I включає інтерв'ювання хворого з ознаками гепатопатії за даними УЗД (гепатомегалія: збільшення лівої долі більше ніж 8 см, правої долі більше ніж 13 см та хвостової долі більше ніж 2 см; зміни структури печінки – збільшення ехогенності печінки, дрібно-, середньо- та крупнозерниста структура печінки, закругленість та/або бугристість контуру, згладженість судинного малюнка) з метою визначення скарг та анамнестичних даних для виключення етіологічних факторів вторинної жирової дистрофії печінки (споживання алкоголю більш ніж 40 мл етанолу на день для чоловіків та 20 мл – для жінок протягом останнього року, хронічні вірусні (ВГВ, ВГС, ВГД) та аутоімунні гепатити, токсичні гепатити (у тому числі й медикаментозні) та анамнестичні дані щодо генетично-обумовлених захворювань: хвороба Коновалова-Вільсона, ідіопатичний гемохроматоз, природжена недостатність α 1-антитрипсину та ін.) та обов'язкове об'єктивне обстеження з перкусійним/пальпаторним визначенням розмірів печінки, а також антропометричних показників (зріст, вага з розрахунком ІМТ, ОТ) та складу тіла за даними біоімпедансометрії: %ВЖ. Cut-off value для визначених діагностичних показників складають:
 - ✓ ІМТ більше ніж 25 кг/м²;
 - ✓ ОТ > 102 см для чоловіків та 80 см у жінок;
 - ✓ % ВЖ > 8,5 %.
2. Етап II включає визначення маркерів цитолізу, а саме АЛТ та ГГТП:
 - ✓ АЛТ більше ніж 34 О/л для жінок та до 45 О/л для чоловіків;
 - ✓ ГГТП більше ніж 39 О/л для жінок та до 61 О/л для чоловіків.

3. Етап III включає визначення метаболічних та прозапальних параметрів: індексу НОМА; ЗХС та ХС ЛПНЩ; вчСРП та ФНП-альфа:
 - ✓ індекс НОМА більше ніж 5,5 ммоль/л;
 - ✓ ЗХС більше ніж 4,5 ммоль/л;
 - ✓ ХС ЛПНЩ більше ніж 2,5 ммоль/л;
 - ✓ вчСРП вище 4,5 мг/л;
 - ✓ ФНП-альфа вище 5,5 пг/мл.
4. Етап IV включає оцінку генетичних та біологічних чинників: визначення основних філотипів КМ та рівня мікроРНК-122 та мікроРНК-34а:
 - ✓ F/V більше ніж 1,51;
 - ✓ мікроРНК-122 більше ніж 12,50 в.о.;
 - ✓ мікроРНК-34а більше ніж 5,5 в.о.

Використання алгоритму дозволяє провести скринінг хворих на НАЖХП та тлі ожиріння та надлишкової ваги та визначити хворих із ранніми стадіями фіброзу шляхом поетапного обстеження. Якщо на I етапі визначений хоча б один із перелічених діагностичних критеріїв, хворому рекомендовано проведення обстежень II етапу. При визначенні на етапі II збільшення хоча б одного з показників, а також при тривалості захворювання більше 5 років, даним хворим рекомендовано обстеження у спеціалізованому закладі з визначенням наявності фіброзу та його ступеня високотехнологічними інструментальними методами. Якщо тривалість захворювання не перевищує 5 років або якщо на етапі II у хворого не визначено підвищення концентрації ні АЛТ, ні ГГТП, даним хворим рекомендовано проведення обстежень етапу III: метаболічних та прозапальних маркерів. При виявленні відхилень хоча б одного з показників етапу III, даним хворим також рекомендовано уточнення стадії фіброзу в спеціалізованому закладі. У свою чергу, якщо у хворих відсутні метаболічні порушення, показники прозапальної активації знаходяться в межах референтних значень, слід обов'язково визначати генетичні

та біологічні чинники НАЖХП етапу IV: підвищення рівня мікроРНК-122 вище 12,50 в.о., та/або мікроРНК-34а більше ніж 5,50 в.о., та/або збільшення співвідношення основних філотипів КМ F/V більше ніж 1,51 – також свідчить про високу діагностичну ймовірність фіброзу та обґрунтовує спрямування даних хворих для уточнення стадії фіброзу до високоспеціалізованих закладів.

Створений алгоритм ранньої діагностики фіброзу у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги дозволяє виявити хворих на НАЖХП з наявністю фіброзу навіть на ранніх стадіях та своєчасно призначати заходи щодо лікування та профілактики прогресування захворювання, а також підвищення якості життя хворих.

АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Актуальність дослідження НАЖХП обумовлена її широкою розповсюдженістю: дана хвороба залишається однією з найбільш поширених причин захворювань печінки у всьому світі, яка тісно пов'язана з глобалізованою економікою і особливостями тенденцій у стилі життя населення, на який суттєво вплинула пандемія COVID-19 [192].

Загальна поширеність НАЖХП у всьому світі становить 25,24 % і суттєво коливається в залежності від географічного регіону: найвищі показники поширеності спостерігаються в країнах Близького Сходу та Південної Америки (близько 30 %), тоді як у регіоні Африки даний показник суттєво нижчий (13 %), а в США та Північній Америці займає посередні значення 21–24,7 %, у Європі – 24 % [192]. Аналіз епідеміологічної ситуації дає несприятливі прогнози: за оцінками експертів до 2030 року поширеність НАЖХП зросте на 18,3 %, а кількість хворих на НАСГ буде експоненціально зростати до 2025 року, що спричинить 43 мільйони нових випадків даного захворювання [20, 194]. Відповідно до епідеміологічної динаміки очікується експоненційний вплив НАЖХП на економічний тягар та прогнозоване збільшення обсягів економічних витрат на охорону здоров'я. Аналіз страхувальних витрат на амбулаторному етапі надання медичної допомоги в США показав зростання середньорічних витрат у 2005 році з 2624 ± 3308 доларів США до 3608 ± 5132 доларів США ($p < 0,05$). Математичне моделювання прогнозує зростання щорічного економічного тягара США до 103 мільярдів доларів США лише за рахунок прямих витрат на медичне обслуговування та ще 188 мільярдів доларів США соціальних витрат, пов'язаних із НАЖХП [22.]

Не менш важливим є те, що поширеність НАЖХП збільшується паралельно із зростанням розповсюдженості ожиріння, МС і ЦД2. За даними ВОЗ, спостерігається несприятлива епідеміологічна динаміка: число хворих на ожиріння в усьому світі з 1975 по 2014 рік подвоїлось [31]. У 2016 році

стандартизована за віком поширеність ожиріння (для вікової групи 20–84 роки) коливалася від 22,7 % у Португалії до 29,3 % у Великобританії для чоловіків, та від 19,5 % у Швейцарії до 31,3 % у Великобританії для жінок; найбільший показник поширеності ожиріння визначався у США і складав 37,5 % для чоловіків та 39,5 % для жінок [195]. Математичне прогнозування епідеміологічної ситуації припускає прогресивне розповсюдження даного захворювання: за даними McPherson у 2050 році приблизно у 50 % дорослих жінок Великобританії та 60 % чоловіків буде діагностовано ожиріння [195].

Серед хворих на НАЖХП і НАСГ у всьому світі ожиріння діагностують у 51 % та 81 %, відповідно [20], а серед хворих на ожиріння поширеність НАЖХП коливається від 60 до 95 % [196, 197].

Це співіснування створює складну етіологічну основу для прогресування захворювання печінки й синергетичний дуалізм, який призводить до суттєвих соціоекономічних наслідків: зростанню показників загальної смертності та летальності, обумовленої захворюваннями печінки, та обґрунтовує зростаючий тягар для громадської охорони здоров'я в усьому світі [193].

Одним із важливих прогностичних факторів несприятливого перебігу НАЖХП є фіброз [199], навіть на ранніх стадіях. Саме наявність фіброзу, а не прозапальні зміни, характерні для стеатогепатиту, є найбільш важливим прогностичним маркером, пов'язаним із несприятливими подіями, асоційованими з прогресуванням захворювання печінки та загальною смертністю. Цей ефект спостерігається навіть на ранніх стадіях фіброзу, демонструючи поступове збільшення несприятливих подій у міру прогресування стадії фіброзу [14-17]. Фіброз розвивається паралельно з розвитком двох основних компонентів хронічних захворювань печінки: портальної гіпертензії та печінковоклітинної недостатності, проте важливість фіброзу печінки виходить за рамки її патології, оскільки пов'язана з іншими несприятливими клінічними наслідками, включаючи серцево-судинні події, ішемічний інсульт, метаболічні ускладнення та серцево-судинні

захворювання [200]. Це можна пояснити більш вираженим профілем системного запалення, що впливає на різні органи та системи, а взаємодія між ними призводить до подальшого запалення та активації імунної відповіді.

Попри те, що біопсія печінки залишається сучасним «золотим» стандартом для діагностики та гістопатологічного визначення стадії НАЖХП, альтернативні методи обстеження хворих даної категорії містять в собі транзиторну еластографію, еластографію зсувної хвилі, магнітно-резонансну еластографію та спектроскопію, а також неінвазивні прості та комплексні серологічні системи оцінки визначення ступеня стеатозу та фіброзу. Проте їх використання має обмежену діагностичну цінність та сприяє недостатній оцінці тягара захворювання НАЖХП [201].

Тому на сьогодні нерозв'язаним залишається питання діагностики у хворих на НАЖХП фіброзу саме на ранній стадії, що дозволило б ідентифікувати тих хворих, які потребують суворішого спостереження, цілеспрямованих заходів щодо корекції способу життя та зниження ваги, лікування асоційованих метаболічних порушень та призначення нових патогенетично-обґрунтованих стратегій лікування [15].

Сучасні уявлення щодо патогенезу НАЖХП узагальнені теорією «множинних ударів», згідно з якою ліпотоксичність ЖТ та зміни функціонального стану мікробіому кишечника сприяють розвитку запалення та фіброзу при НАЖХП [202]; а провідна роль у якості вирішальних чинників патогенезу НАЖХП надається запаленню ЖТ [203] і мікробіому кишечника (і пов'язаних з ним метаболітів) [115, 204].

Патофізіологічні ланки розвитку та прогресування жирової дистрофії печінки та асоційованих запальних змін та фіброгенезу є складними й включають КМ як важливого фактору регулювання гомеостазу шлунково-кишкового тракту, який реалізує свій вплив через цілу низку механізмів [205, 206]. Зміни КМ впливають на метаболізм господаря шляхом синтезу коротколанцюгових ЖК (КЛЖК), які є метаболітами бактеріального

бродіння полісахаридів у товстій кишці й містять ацетат, пропіонат і бутират. В експериментальних моделях НАЖХП, а також у пацієнтів з ожирінням було показано підвищення рівня КЛЖК у фекаліях [122, 207]. КЛЖК можуть зв'язувати специфічні G-білокспряжені рецептори, GPR41 та GPR43, що експресуються в тканинах, які беруть участь у патогенезі НАЖХП, таких як: ЖТ, печінка та кишечник, що призводить до активізації ліпогенезу *de novo*, порушень синтезу холестерину та зміни гомеостазу глюкози [208]. Крім того, КЛЖК можуть впливати на нейронну активність і, таким чином, регулювати апетит та споживання їжі [209]. КМ здатна безпосередньо впливати на метаболізм ліпідів: найбільш відомим ефектом є здатність кишкових бактерій пригнічувати синтез індукованого натще фактора адипоцитів – специфічного інгібітора ліпопротеїнліпази. Відсутність пригнічення ліпопротеїнліпази у свою чергу призводить до більшого вивільнення ВЖК з частинок ліпопротеїнів дуже низької щільності в печінку, що сприяє розвитку стеатозу [210]. Ще одним ключовим механізмом у патогенезі НАЖХП, пов'язаним із КМ, є порушення кишкового бар'єра, що сприяє проходженню бактерій або бактеріальних продуктів, таких як ліпополісахариди, у порталний кровообіг, що призводить до прогресування від НАЖХП до НАСГ [130, 131]. Регуляція кишкового бар'єра є результатом складної взаємодії мікроорганізмів із механічними та імунологічними механізмами, які впливають на щільні з'єднання – мультибілкові комплекси, які утворюють вибірково проникне ущільнення між сусідніми епітеліальними клітинами [123]. Ожиріння, асоційоване з нераціональним харчуванням, сприяє порушенню експресії та розподілу щільних з'єднань, і це безпосередньо пов'язано зі збільшенням кишкової проникності [123, 130, 211]. У свою чергу деконтамінація кишечника призводила до відновлення кишкового бар'єра [212].

Дослідженню КМ, особливо складу її основних філотипів: *Firmicutes*, *Bacteroidetes* та *Actinobacteria*, при НАЖХП та ожирінні присвячено декілька досліджень [213, 214], проте їх результати суперечливі. Незважаючи на певні

досягнення в розробці скринінгових способів виявлення фіброзу на важких стадіях, навіть із використанням мікробіологічних сигнатур, питання щодо виявлення фіброзу на ранніх стадіях у хворих на НАЖХП [129, 215], особливо на тлі ожиріння і надлишкової ваги, та можливості використання КМ з діагностичною метою залишається невирішеним.

Саме тому метою нашого дослідження стала оптимізація ранньої діагностики фіброзу у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги шляхом вивчення особливостей співвідношення філотипів *Firmicutes/Bacteroidetes* КМ, молекулярно-генетичних чинників: мікроРНК-122, мікроРНК-34а, а також прозапальних маркерів: вчСРП та ФНП-альфа.

Для досягнення мети та поставлених завдань було проведе проспективне дослідження, у яке було включено 140 пацієнтів: основна група – 120 хворих з діагнозом НАЖХП на тлі ожиріння I–III ступенів ($\text{ІМТ} \geq 30,0$ – $29,9 \text{ кг/м}^2$) або з надлишковою вагою ($\text{ІМТ} \geq 30,0$ – $39,9 \text{ кг/м}^2$) та 20 практично здорових добровольців ($\text{ІМТ} 18,5$ – $24,9 \text{ кг/м}^2$), відповідних за віком та статтю.

НАЖХП була діагностована відповідно до актуальних міжнародних та локальних рекомендацій: МКХ-10 згідно з Наказом № 826 МОЗ України від 06.11.2014 року; Американської асоціації з вивчення захворювань печінки (2012 р.) та Європейських Рекомендацій з діагностики та лікування НАЖХП (2016 р.) [173, 174, 175]. Ожиріння та його ступінь діагностували, використовуючи критерії ВООЗ [176] та антропометричними показниками – ОТ, ОС та їх співвідношення.

Дослідження гендерного та вікового розподілу хворих продемонструвало переважання хворих чоловічої статі у віковій групі 25–44 років та жіночої – у віковій групі 45–60 років. Визначена тенденція відповідає літературним даним, зокрема А. Lonardo [216, 217] продемонстрував, що поширеність і тяжкість НАЖХП вищі у чоловіків, ніж у жінок у репродуктивному віці, однак після менопаузи НАЖХП частіше

зустрічається у жінок. Наявні літературні джерела визначають комплексні гендерні особливості в соціокультурних факторах ризику НАЖХП, які взаємодіють з генетичними та гормональними чинниками, призводячи до жирової дистрофії печінки та її прогресування [218].

Аналіз розподілу хворих за ступенем стеатозу печінки продемонстрував, що в досліджуваній групі превалювали хворі з 2 ступенем стеатозу. Також слід зазначити, що зі зростанням ступеня ожиріння зростала частка хворих із стеатозом 2-го та 3-го ступеня. Крім того, серед обстежених хворих превалювали хворі без ознак фіброзу та фіброзом 1 ступеня, проте при наявності ожиріння частка хворих з фіброзом 1-го та 2-го ступенів вірогідно зростала ($\chi^2 = 37,23985$, $df = 9$, $p < 0,002$). Отримані дані підтверджують роль ожиріння як фактора ризику прогресивного перебігу НАЖХП, як це було продемонстровано в мета-аналізі Feng-Bin Lu [219], зокрема фіброзу [220, 221]. Відсутність хворих на НАЖХП із фіброзом 3 та 4 ступенів обумовлена дизайном дослідження: формування фіброзу важких ступенів асоційоване з більш комплексними та потужними змінами в механізмах прозапальної активації [222] та порушеннях кишкової мікробіоти [223], а включення до дослідження хворих даної категорії не дозволило б досягти мети нашої роботи.

Наступним етапом дослідження було проведено аналіз клінічної маніфестації НАЖХП, який продемонстрував, що основними скаргами у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння було зниження толерантності до фізичних навантажень, яке відмічалось у 80 %, важкість у правому підребер'ї майже у 72 % та астеничний синдром у 64 %, які у хворих із супутньою надлишковою вагою зустрічались суттєво в меншій кількості випадків: 23 %, 34 % та 23 %, відповідно, що наочно демонструє відому малоспецифічну клінічну маніфестацію НАЖХП та вплив ожиріння на клінічний перебіг захворювання [224], що обумовлено надмірним розвитком ЖТ, щонайважливіше за рахунок ВЖ, як це також було продемонстровано в нашому дослідженні – вірогідним підвищенням ОТ та ОТ/ОС у 1,18 та

1,06 рази відповідно, зростанням % ЖТ у 1,37 рази, % ВЖ – у 1,58 разів на тлі зниження % СкМ у 0,87 разів та асоційованими метаболічними порушеннями – формуванням інсулінорезистентності: збільшенням інсулінемії на 20,10 %, індексу НОМА – на 33,50 %, а також дисліпідемії: збільшенням сироваткової концентрації ХС ЛПНЩ на 9,31 %, а також більш вираженими змінами функціонального стану печінки: підвищенням концентрацій АСТ на 17,39 %, АЛТ – на 38,09 %, а також ГГТП – 36,69 %, та збігається з даними, отриманими в інших міжнародних дослідженнях [225].

Відповідно до Gao X у більшості пацієнтів із НАЖХП клінічно протікає безсимптомно, хоча у деяких випадках можуть спостерігатись явища астенізації, диспепсичний синдром, тупий біль у печінці та гепатоспленомегалія [226], що збігається з результатами роботи Amir M., які свідчать про широку розповсюдженість проявів астенічного синдрому у хворих на хронічні захворювання печінки, зокрема НАЖХП, що може бути пояснено з одного боку дисфункцією вегетативної нервової системи, більш тривалим часом гіподинамії та сонливістю в денні часи [227], з іншого – імунними реакціями, опосередкованими ФНП-альфа, інтерлейкін-1 β (ІЛ-1 β) та ІЛ-6 [32].

Виявлені в нашому дослідженні зміни функційних проб печінки, формування синдрому інсулінорезистентності та дисліпідемії також відповідають актуальним літературним даним: відповідно до Gao X. підвищення рівня печінкових ферментів виявляється приблизно у 20 % пацієнтів із НАЖХП [196]. У великому дослідженні Marchesini et al., у якому брали участь 799 осіб з ожирінням, середні рівні АЛТ і АСТ збільшувалися з класом ожиріння і перевищували нормальні межі у 21 % пацієнтів [228].

Надалі для визначення особливостей складу КМ було проаналізовано відносний вміст найбільш поширених філотипів КМ [7] шляхом ідентифікації загальної бактеріальної ДНК та ДНК *Bacteroidetes*, *Firmicutes* і *Actinobacteria*, а також співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes*, методом кПЛР-РЧ.

У хворих на НАЖХП превалював відносний вміст *Firmicutes*, який у хворих із супутнім ожирінням складав 52,12 [39,94; 67,03] %, а у хворих на надлишкову вагу – 51,49 [39,26; 62,88] %, і майже у 2 рази переважав відповідний показник групи контролю (за критерієм Краскела-Уолліса; $H = 18,43$; $p < 0,01$). Протилежна динаміка спостерігалась щодо відносного вмісту *Bacteroidetes*, який у хворих із супутнім ожирінням набував мінімальних значень – 15,97 [8,10; 27,52] %, і був дещо вищим у хворих на надлишкову вагу – 18,83 [7,96; 32,35] %, проте вірогідно був нижчим за показник групи контролю (за критерієм Краскела-Уолліса; $H = 17,69$; $p < 0,01$). Відповідним чином спостерігались зміни співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes*: даний показник у хворих на НАЖХП із супутнім ожирінням перевищував значення групи контролю у 5,7 разів, а у хворих із надлишковою вагою у 4,3 рази (за критерієм Краскела-Уолліса; $H = 21,17$; $p < 0,01$). Визначена динаміка суперечить результатам, отриманим Wang B. [125], які навпаки продемонстрували збільшення відносної кількості *Bacteroidetes* та зниження – *Firmicutes* у хворих на НАЖХП у порівнянні із хворими без жирової дистрофії печінки, про що також свідчили результати деяких інших досліджень [229, 230]. Проте, у свою чергу дослідження Mouzaki M. та Wong V.W. [231, 232] продемонстрували зниження або відсутність змін у відносному вмісті *Bacteroidetes*.

Можливо, отримані зміни складу КМ можуть бути асоційовані з надлишковим розвитком ЖТ, як це було продемонстровано в нашому дослідженні: підвищення відносного вмісту *Firmicutes* у хворих на НАЖХП із супутнім ожирінням та надлишковою вагою корелювало з % ВЖ ($r = + 0,74$, $p = 0,01$ та $r = + 0,70$, $p = 0,01$, відповідно) та відповідним чином % СкМ (у хворих із надлишковою вагою $r = -0,47$, $p = 0,03$); у свою чергу зниження відносного вмісту *Bacteroidetes* у хворих на НАЖХП із супутнім ожирінням та надлишковою вагою корелювало з % ВЖ ($r = -0,48$, $p = 0,01$ та $r = -0,49$, $p = 0,003$, відповідно). Відповідна тенденція підтверджена актуальними науковими дослідженнями, включаючи експериментальні, які

показали взаємозв'язок надлишкового розвитку ЖТ зі збільшенням *Firmicutes* на тлі зниження відносного вмісту *Bacteroidetes* [233, 234]. А гіпокалорійна дієта, у свою чергу, протягом року та відповідне зниження ваги призводили до збільшення кількості *Bacteroidetes*, а також нормалізації співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes*, що було підтверджено експериментальними роботами [233, 235]. Більш того, дані результати підтверджуються також результатами обстеження педіатричної популяції африканських регіонів: у порівнянні із дітьми, що мали західний стиль харчування, у дітей, що дотримувались традиційної дієти, збагаченої харчовими волокнами, та у яких спостерігалось збільшення відносної кількості *Bacteroidetes* та зниження – *Firmicutes* [236].

Механізми, що лежать у формуванні подібного патерну, можуть бути пояснені дослідженнями, у тому числі й експериментальними, які продемонстрували більшу здатність бактерій пулу *Firmicutes* у порівнянні із *Bacteroidetes* реалізовувати абсорбцію енергії з наступним зростанням ваги [237, 238, 239]. Відповідні спостереження зроблені Turnbaugh et al. [240] у близнюків: аналіз наборів даних 16S рРНК, отриманих трьома методами на основі ПЛР, а також секвенування спільної ДНК, виявив у хворих на ожиріння зниження кількості *Bacteroidetes* на тлі збільшення – *Actinobacteria*, але не було суттєвої різниці у *Firmicutes* ($p = 0,09$). У хворих на ожиріння мікробіом був збагачений генами, кодуєчими нутритивні транспортери, у той час, як мікробіом близнюків з нормальною вагою був збагачений генами, кодуєчими ферменти, асоційовані з метаболізмом вуглеводів [241], що дозволяє припустити, що порушення складу КМ асоційовані зі змінами метаболічного профілю та впливають на здоров'я організму господаря, а співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes* можна розглядати як специфічний чинник патофізіологічного континуума [242].

Про залученість КМ в дані патофізіологічні механізми можуть свідчити взаємозв'язки окремих філотипів із відомими чинниками формування та прогресування жирової дистрофії печінки: негативний кореляційний зв'язок

між відносним вмістом *Actinobacteria* та глікемією натще (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = -0,22$; $p = 0,040$) та позитивний – між відносним вмістом *Actinobacteria* та % СкМ (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = + 0,31$; $p = 0,004$) у хворих із супутнім ожирінням. Слід зазначити, суперечливі результати, отримані в групі хворих на НАЖХП на тлі надлишкової ваги, де був виявлений позитивний кореляційний зв'язок між відносним вмістом *Actinobacteria* та ОС (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = + 0,36$; $p = 0,022$) і % ВЖ (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = + 0,57$; $p = 0,0003$), ще потребує подальшого дослідження. Отримані результати збігаються з відповідними даними, отриманими в педіатричній популяції хворих на НАЖХП [243].

Потенційним поясненням визначених змін КМ можуть бути особливості метаболічної активності окремих бактеріальних філотипів, опосередкованої кон'югованими жовчними кислотами (КЖК) [244] – похідними холестерину, синтезованими в печінці, які складаються з компонента стероїдного кільця, який кон'югований або з гліцином, або з таурином перед секрецією (гліко-СВА і тауро-СВА, відповідно) [245]. КЖК полегшують абсорбцію ліпідів і діють в якості сигнальних молекул, що регулюють системні ендокринні функції, включаючи обмін тригліцеридів, холестерину і, потенційно, гомеостаз глюкози [246]. Крім того, КЖК пригнічують ріст бактерій у тонкій кишці через пряму антимікробну дію, посилення захисту слизової оболонки хазяїна або синергічну дію обох механізмів [247].

Бактеріальний метаболізм КЖК опосередковується гідролазою солей жовчних кислот, яка каталізує декон'югацію КЖК для вивільнення первинних жовчних кислот (холева або хенодезоксихолева кислота) та амінокислот [248]. Згодом вільні первинні ЖК відкриваються для більш широкого шляху модифікації ЖК, що кодується мікробіотою кишечника, яка генерує вторинні та третинні форми шляхом дегідроксилювання, дегідрування та сульфатації [248]. КМ через зміни декон'югованих та модифікованих ЖК може модулювати метаболізм жовчних кислот

господаря, що впливатиме на фізіологію господаря через порушення ендокринних функцій і на ризик метаболічних захворювань, таких як ожиріння, діабет та атеросклероз [249].

Крім того, у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги було виявлене зменшення кількості мікроорганізмів, що відносяться до інших бактеріальних пулів: у хворих на НАЖХП із супутнім ожирінням спостерігалось зниження даних мікроорганізмів на 22,35 %, а у хворих із надлишковою вагою – на 21,15 %. А кореляційний аналіз виявив позитивний кореляційний зв'язок між відносним вмістом даних мікроорганізмів із концентрацією ТГ та ХС ЛПДНЩ (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = + 0,29$; $p = 0,028$ та $r = -0,21$; $p = 0,049$) і, навпаки, негативний – з рівнями глікемії натще та глікозильованим гемоглобіном у хворих на НАЖХП із супутнім ожирінням (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = -0,21$; $p = 0,049$ та $r = -0,29$; $p = 0,007$).

Як підтвердження ролі КМ у формуванні клінічної маніфестації НАЖХП нами були отримані дані щодо залежності порушення дефекації і диспепсичних явищ від відносного вмісту *Firmicutes* (за критерієм Краскела-Уолліса; $H = 6,66$; $p < 0,01$; $H = 4,80$; $p = 0,028$), а порушення дефекації – від відносного вмісту *Bacteroidetes* (за критерієм Краскела-Уолліса; $H = 10,58$; $p < 0,01$), співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes* (за критерієм Краскела-Уолліса; $H = 26,91$; $p < 0,01$), *Actinobacteria* (за критерієм Краскела-Уолліса; $H = 5,29$; $p = 0,0214$), збільшення останніх також було асоційоване з формуванням диспепсичних явищ (за критерієм Краскела-Уолліса; $H = 5,24$; $p = 0,0220$), а формування скарг на порушення дефекації та диспепсичних явищ було пов'язане із зростанням вмісту мікроорганізмів, що відносились до інших бактеріальних пулів (за критерієм Краскела-Уолліса; $H = 5,29$; $p = 0,0214$; та $H = 42,50$; $p < 0,01$, відповідно).

Для уточнення патогенетичних механізмів, через які КМ може впливати на формування клінічних синдромокомплексів у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги, додатково було досліджено

вміст прозапальних та профібротичних маркерів – мікроРНК-34а та мікроРНК-122.

Результати дослідження показали, що у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння спостерігалось збільшення мікроРНК-122 у 39,09 разів, а у хворих із надлишковою вагою – майже у 40 разів (за критерієм Краскела-Уолліса; $H = 42,28$; $p < 0,01$), і суттєво змінювалось при відповідній клінічній симптоматиці: зниженням толерантності до фізичних навантажень (за критерієм Манна-Уїтні; $U = 364,50$; $p < 0,01$), болю та важкості у правому підребер'ї ($U = 355,00$; $p < 0,01$; та $U = 509,50$; $p = 0,029$, відповідно). Отримані дані відповідають результатам інших досліджень, проведеними Јамрока К., Ye D. та Akuta N. [71, 76, 250], які виявили збільшення мікроРНК-122 в плазмі хворих на НАЖХП і запропонували її в якості потенційного біомаркеру НАЖХП. Крім того, літературні джерела свідчать про вплив даної молекули на формування патоморфозу НАЖХП, зокрема фіброзу [251], що також було підтверджено виявленням у нашому дослідженні збільшенням мікроРНК-122 при зростанні стадії фіброзу у хворих на НАЖХП на тлі ожирінням (за критерієм Краскела-Уолліса; $H = 6,16$; $p = 0,46$). Попри те, що Jun-Ke Long продемонстрував залученість мікроРНК-122 у печінковий ліпогенез шляхом пригнічення шляху LKB1/AMPK через Sirt1 [80]; дані, отримані Hiroya Yamada [77], свідчили про взаємозв'язки мікроРНК-122 із вираженістю стеатозу печінки; а результати, отримані Auguet T., визначили взаємозв'язок мікроРНК-122 та гістологічними ознаками важкості НАЖХП: балонною дистрофією та лобулярним запаленням [252], у нашому дослідженні даних щодо взаємозв'язку мікроРНК-122 зі ступенем стеатозу печінки виявлено не було, проте у хворих із супутнім ожирінням був виявлений зв'язок вмісту мікроРНК-122 із ультрасонографічними розмірами печінки, а саме товщиною лівої долі (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = 0,27$; $p = 0,0120$), та концентрацією загального білірубину ($r = + 0,27$; $p = 0,0136$) і його фракцій –

прямим та непрямым білірубіном ($r = +0,23$; $p = 0,0358$ та $r = +0,24$; $p = 0,0170$, відповідно).

Визначені у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння взаємозв'язки між змінами мікроРНК-122 та антропометричними показниками, зокрема ОТ та ОС (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = 0,26$; $p = 0,0164$ та $r = 0,27$; $p = 0,0078$, відповідно), а у хворих на НАЖХП на тлі надлишкової ваги з ІМТ (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = -0,48$; $p = 0,0038$) також підтверджують залученість даної регуляторної молекули у формування патофізіологічних змін при ожирінні, як це було продемонстровано Ortega F.J. та Wang R. [253, 254]. Проте, якщо в обстежених хворих у дослідженні Wang R. концентрація мікроРНК-122 збільшувалась у 3,07 разів, то в нашому дослідженні – приблизно в 40 разів, що може бути обумовлене додатковим впливом жирової дистрофії печінки та прозапальних змін, тому що саме печінка є головним джерелом синтезу мікроРНК-122 [255] і, хоча в згаданому дослідженні не виключали супутню НАЖХП, автори визначили кореляційний зв'язок із сироватковою концентрацією АЛТ.

Дослідження кореляційних залежностей мікроРНК-122 визначило зв'язок даної регуляторної молекули з вчСРП – у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = 0,36$; $p = 0,0008$ та $r = 0,34$; $p = 0,0406$, відповідно). Попри те, що вчСРП є маркером системного запалення, асоційованого з ожирінням та НАЖХП, визначений патерн протирічить дослідженню Lischka J. [256], але може бути пояснений іншими механізмами, залученими в цитокіновий каскад при формуванні НАЖХП. А виявлена кореляційна залежність, у свою чергу, між рівнем мікроРНК-122 та ФНП-альфа (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = 0,23$; $p = 0,0353$) у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння обґрунтована: дослідження Sendi H. [257] довело залученість мікроРНК-122 в експресію ФНП-альфа, а робота Matsuzaki J. продемонструвала, що цитокіни, зокрема ФНП-альфа, здатні індукувати печінкову секрецію мікроРНК-122 [258]. Проте, остаточні механізми даного патерну залишаються невизначеними.

Відповідним чином змінювались і значення мікроРНК-34а (за критерієм Краскела-Уолліса; $H = 20,97$; $p < 0,01$): у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння збільшувався у 6,20 разів, а у хворих на НАЖХП із супутньою надлишковою вагою – у 6,40 разів. Збільшення вмісту мікроРНК-34а пов'язане зі зниженням толерантності до фізичних навантажень ($U = 288,00$; $p < 0,01$) та болями у правому підребер'ї ($U = 416,00$; $p < 0,01$, відповідно). Отримані результати підтверджують дані Li Wang, які продемонстрували, що надлишкова експресія мікроРНК-34а призводила до збільшення накопичення тригліцеридів у гепатоцитах, а також до зниження потенціалу мітохондріальної мембрани та рівня SIRT1 [91] – ліпогенезу, запаленню та апоптозу шляхом пригнічення окислення жирних кислот [259]. Основною мішенню мікроРНК-34а є SIRT1, який регулює енергетичний гомеостаз шляхом активації факторів транскрипції, таких як: рецептори, активовані проліфератором пероксисом (PPAR) α і X-рецептор печінки (LXR). Крім того, SIRT1 інгібує коактиватор 1α PPAR- γ (PGC1- α), SREBP-1c і фарнезоїдний X-рецептор (FXR). У хворих на НАЖХП SIRT1 пригнічений [260], а інгібування мікроРНК-34а відновлює експресію SIRT1 і PPAR- α , що призводить до активації AMP-активованої протеїнкінази (AMPK) і кількох цільових генів PPAR- α , що обґрунтовує фундаментальну роль мікроРНК-34а у формуванні й прогресуванні НАЖХП [74].

У свою чергу, визначений кореляційний зв'язок мікроРНК-34а з надмірним розвитком % ЖТ ($r = + 0,37$; $p = 0,02$) відповідає результатам роботи Ortega F.J., у якій кріоконсервовані преадипоцити підшкірної клітковини як у осіб з нормальною вагою ($IMT < 25,0$ кг/м²), так і у хворих на ожиріння ($IMT > 30,0$ кг/м²) культивували та диференціювали з наступним дослідженням 799 мікроРНК, яке в свою чергу показало, що мікроРНК-34а була однією з семи мікроРНК, експресія яких була найбільш посилена (більше ніж у 2,5 рази), і рівень її експресії корелював з IMT, свідчить про залученість даної регуляторної молекули у патофізіологічні механізми розвитку ожиріння [261]. Ting Fu показав, що

підвищений рівень мікроРНК-34а діє як інгібітор утворення бурої ЖТ та індикатор асоційованих із ожирінням порушень: в експериментальній роботі на мишах опосередковане лентівірусом пригнічення мікроРНК-34а у мишей з індукованим харчуванням ожиріння призводило до посилення експресії маркера CD137, специфічного для бурої ЖТ, а також маркера потемніння – UCP1. Пригнічення мікроРНК-34а збільшувало експресію FGF21, FGFR1 і β KL, а також SIRT1, що призводило до FGF21/SIRT1-залежного деацетилювання PGC-1 α та індукції генів потемніння UCP1, PGC-1 α та PRDM16, покращенню передачі сигналів FGF21 і окисленню ліпідів у печінці [262].

Так при проведенні кореляційного аналізу у хворих на НАЖХП без розподілу на групи було виявлено позитивний кореляційний зв'язок між вчСРП та відносним вмістом *Firmicutes* (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = +0,25$; $p = 0,002$ та $r = +0,17$; $p = 0,035$), та негативний – з відносним вмістом *Bacteroidetes* (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = -0,29$; $p = 0,0003$). У свою чергу рівень мікроРНК-122 позитивно корелювала з співвідношенням *Firmicutes/Bacteroidetes* у хворих із супутнім ожирінням та надлишковою вагою (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = 0,27$; $p = 0,0117$ та $r = 0,56$; $p = 0,0003$, відповідно), та відносним вмістом *Bacteroidetes* лише у хворих із надлишковою вагою (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = -0,34$; $p = 0,043$).

У хворих на НАЖХП на тлі надлишкової ваги виявлений негативний кореляційний зв'язок між рівнем мікроРНК-34а та відносним вмістом *Bacteroidetes* (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = -0,44$; $p = 0,0086$) та позитивний – зі співвідношенням *Firmicutes/Bacteroidetes* (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = 0,38$; $p = 0,0231$).

Для хворих на НАЖХП на тлі ожиріння була виявлена позитивна кореляційна залежність між рівнями мікроРНК-34а та мікроРНК-122 (коефіцієнт кореляції Спірмена $r = +0,72$; $p = 0,001$).

Дані залежності можуть бути пояснені мікробіотичними метаболітами, які є основними посередниками між мікробіотою кишечника та організмом

хазяїном. Взаємодія між мікробіотичними продуктами та гепатоцитами є механізмом між КМ та патофізіологічними змінами організму хазяїну. Kishor Pant визначив роль бутирату – однієї з КЛЖК, у мікроРНК-22 – опосередкованому пригніченні SIRT-1, асоційованому вивільненні АФК та індукції апоптозу гепатоцитів, а також пригніченні клітинної проліферації [263]. Іншим мікробіотичним продуктом, що бере участь у регуляції експресії мікроРНК є ЛПС: інкубація моноцитів з ЛПС *Escherichia coli* посилювала експресію мікроРНК-155 та мікроРНК-146, а також асоційовану запальну відповідь [264].

Отже, мікроРНК, імовірно, є інтегральною ланкою між мікробіотою кишечника і розвитком НАЖХП: зокрема мікроРНК-34а залучена до формування стеатозу печінки [265], запальних змін та фіброгенезу [266]. Як продемонструвало експериментальне дослідження Ning Jia [265], експресія мікроРНК-34а була тісно пов'язаною із змінами мікробіоти, особливо філотипу *Firmicutes* (рід *Lactobacillus*). МікроРНК-34а модулює кілька метаболічних шляхів ліпідів у печінці шляхом впливу на три цільових гени, включаючи HNF4 α , SIRT1 і PPAR α , які регулюють секрецію ЛПДНЩ, синтез та окислення жирних кислот, а також резистентність до інсуліну, що беруть участь у прогресуванні НАЖХП [38, 72, 114]. Згідно з попередніми дослідженнями, в основі даного взаємозв'язку лежать метаболіти КМ, такі як ЛПС та етанол [267].

З іншого боку, протилежна концепція, запропонована Feng Q. [268] та Liu S.[269], відповідно до якої саме КМ є об'єктом впливу мікроРНК людини, що може бути пов'язане з регуляцією профілю бактеріальної мікроРНК хазяїна. Таким чином, причинно-наслідковий зв'язок змін КМ та змін мікроРНК людини залишається відкритим та потребує подальших досліджень.

Для досягнення мети дослідження останнім етапом стала розробка чотириетапного алгоритму ранньої діагностики фіброзу у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги, для чого за допомогою розвідувального

аналізу були визначені діагностичні маркери фіброзу, до яких додатково до традиційних діагностичних факторів (ІМТ, ОТ, АЛТ, АСТ, ГГТП, індекс НОМА, концентрація ЗХС та ХС ЛПНЩ) відносили й інші: % ВЖ, сироваткові концентрації прозапальних маркерів вчСРП та ФНП-альфа, рівень мікроРНК-122 та -34а в плазмі крові, а також співвідношення основних філотипів КМ F/V. Для кожного з діагностичних параметрів за допомогою апарату характеристичних (ROC) кривих було розраховане порогове значення (cut-off value): cut-off value для сироваткової концентрації вчСРП – 4,5 мг/л (AUC = 0,99, чутливість 1,00, специфічність 0,030; $p < 0,05$); для сироваткової концентрації ФНП-альфа – 5,5 пг/мл (AUC = 0,97, чутливість 0,98, специфічність 0,025; $p < 0,05$); для рівня мікроРНК-122 – 12,50 в.о. (AUC = 0,99, чутливість 0,98, специфічність 0,048; $p < 0,05$); для рівня мікроРНК-34а – 5,50 в.о. (AUC = 0,98, чутливість 0,98, специфічність 0,106; $p < 0,05$); для % ВЖ складало 8,5 % (AUC = 0,99, чутливість 1,00, специфічність 0,175; $p < 0,05$); для співвідношення основних філотипів КМ F/V – 1,51 (AUC = 0,95, чутливість 0,83, специфічність 0,021; $p < 0,05$).

Для визначення на етапі I були відібрані додатково до рутинного клініко-лабораторного дослідження також ІМТ, ОТ та %ВЖ. Етап II включав визначення маркерів цитолізу, а саме АЛТ та ГГТП. На етапі III було запропоновано визначення метаболічних та прозапальних параметрів: індексу НОМА; ЗХС та ХС ЛПНЩ; вчСРП та ФНП-альфа. Останній IV етап включав оцінку генетичних та біологічних чинників: визначення основних філотипів КМ (F/V) та рівня мікроРНК-122 та мікроРНК-34а.

Поетапне використання алгоритму дозволяє провести скринінг хворих на НАЖХП та тлі ожиріння та надлишкової ваги з визначенням хворих з ранніми стадіями фіброзу. Якщо на етапі I визначений хоча б один із перелічених діагностичних критеріїв, хворому рекомендовано проведення обстежень етапу II. При визначенні на етапі II збільшення хоча б одного з показників, а також при тривалості захворювання більше ніж 5 років, даним

хворим рекомендовано обстеження у спеціалізованому закладі з визначенням наявності фіброзу та його ступеня високотехнологічними інструментальними методами. Якщо тривалість захворювання не перевищує 5 років або якщо на етапі II у хворого не визначено підвищення концентрації ні АЛТ, ні ГГТП, даним хворим рекомендовано проведення обстежень етапу III: метаболічних та прозапальних маркерів. При виявленні відхилень хоча б одного з показників етапу III даним хворим також рекомендовано уточнення стадії фіброзу в спеціалізованому закладі. У свою чергу, якщо у хворих відсутні метаболічні порушення, показники прозапальної активації знаходяться в межах референтних значень, слід обов'язково визначати генетичні та біологічні чинники НАЖХП етапу IV: підвищення рівня мікроРНК-122 в плазмі крові вище 12,50 в.о. та/або мікроРНК-34а більше ніж 5,50 в.о., та/або збільшення співвідношення основних філотипів КМ F/V більше ніж 1,51 – також свідчить про високу діагностичну ймовірність фіброзу та обґрунтовує спрямування даних хворих для уточнення стадії фіброзу до високоспеціалізованих закладів.

Використання розробленого алгоритму дозволяє стратифікувати хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги за наявністю фіброзу навіть на ранніх стадіях та своєчасно призначати превентивні та лікувальні заходи з метою поліпшення перебігу захворювання, профілактики прогресування та підвищення якості життя хворих.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення розв'язання актуального питання внутрішньої медицини, а саме: підвищення методів ранньої діагностики НАЖХП у хворих на тлі ожиріння та надлишкової ваги шляхом визначення основних філотипів кишкової мікробіоти, високочутливих маркерів запалення та метаболічних показників обстежених хворих.

1. У хворих на НАЖХП на тлі ожиріння найбільш частими суб'єктивними скаргами були зниження толерантності до фізичних навантажень (80 %), важкість у правому підребер'ї (72 %) та астеничний синдром (64 %); у свою чергу, при наявності надлишкової ваги вищезгадані прояви зустрічалися з меншою частотою (23 %, 34 % та 23 %, відповідно, $p < 0,01$). У хворих на НАЖХП на тлі ожиріння спостерігались вірогідні ($p < 0,01$) зміни антропометричних показників: збільшення ІМТ у 1,30 рази, ОТ – у 1,18 разів, ОС – у 1,12 разів, ОТ/ОС – у 1,06 разів; та складу тіла – зростання % ЖТ у 1,37 рази, % ВЖ – у 1,58 разів на тлі зниження % СкМ у 0,87 разів, що свідчить про переважання абдомінального типу розподілу ЖТ, асоційовані з метаболічними особливостями – формуванням резистентності до інсуліну: зростання концентрації інсуліну – на 20,10 %, індексу НОМА – на 33,50 %, а також порушеннями ліпідного обміну: збільшенням сироваткової концентрації ХС ЛПНЩ на 9,31 %, та більш вираженими змінами функціонального стану печінки: підвищенням концентрацій АСТ на 17,39 %, АЛТ – на 38,09 %, а також ГГТП – 36,69 %.

2. Зміни складу КМ у хворих на НАЖХП характеризувались підвищенням відносного вмісту *Firmicutes*: у хворих із супутнім ожирінням у 1,78 рази та надлишковою вагою – у 1,72 рази, які корелювали з % ВЖ ($r = + 0,74$, $p = 0,01$ та $r = + 0,70$, $p = 0,01$, відповідно) та % СкМ (у хворих із надлишковою вагою $r = -0,47$, $p = 0,03$); зниженням відносного вмісту

Bacteroidetes: у хворих із супутнім ожирінням на 53,91 % і надлишковою вагою – на 45,66 %, які корелювали з % ВЖ ($r = -0,48$, $p = 0,01$ та $r = -0,49$, $p = 0,003$, відповідно); збільшенням співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes* у 5,7 разів при наявності супутнього ожиріння, а у хворих із надлишковою вагою – у 4,3 рази. Найбільш значущі зміни КМ були асоційовані з особливостями клінічного перебігу НАЖХП: збільшення *Firmicutes* при формуванні скарг на порушення дефекації ($N = 6,66$, $p < 0,01$;) і диспепсичні явища ($N = 4,80$, $p = 0,028$); зменшення відносного вмісту *Bacteroidetes* на тлі збільшення співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes* – при порушеннях дефекації ($N = 10,58$; $p < 0,01$ та $N = 26,91$; $p < 0,01$, відповідно).

3. У хворих на НАЖХП спостерігались прозапальні та профібротичні зміни: підвищення рівня мікроРНК-122 при наявності надлишкової ваги у 40 разів ($p < 0,01$), а при супутньому ожирінні – у 39,09 разів ($p < 0,01$), які залежали від стадії фіброзу ($N = 6,16$; $p = 0,46$); збільшення мікроРНК-34а у 6,20 рази та у 6,40 рази, відповідно ($p < 0,01$); вчСРП – у 3,23 та 4,87 рази, відповідно ($p < 0,01$). Збільшення рівня мікроРНК-122 було асоційоване з особливостями клінічної симптоматики – зниженням толерантності до фізичних навантажень (за критерієм Манна-Уїтні; $U = 364,50$; $p < 0,01$), болем та важкістю у правому підребер'ї ($U = 355,00$; $p < 0,01$; та $U = 509,50$; $p = 0,029$, відповідно), концентрацією загального білірубіну ($r = + 0,27$; $p = 0,0136$) та його фракцій – прямим та непрямим білірубіном ($r = + 0,23$; $p = 0,0358$ та $r = + 0,24$; $p = 0,0170$, відповідно); а також з ультрасонографічними розмірами печінки, а саме товщиною лівої долі ($r = + 0,27$; $p = 0,0120$); у свою чергу, у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння – збільшення рівня мікроРНК-34а пов'язане зі зниженням толерантності до фізичних навантажень ($U = 288,00$; $p < 0,01$) та болями у правому підребер'ї ($U = 416,00$; $p < 0,01$, відповідно), а також надмірним розвитком % ЖТ ($r = + 0,37$; $p = 0,02$).

4. У хворих на НАЖХП зміни прозапальних та профібротичних маркерів були асоційовані зі змінами КМ: мікроРНК-122 зі співвідношенням

Firmicutes/Bacteroidetes (у хворих із супутнім ожирінням $r = 0,27$; $p = 0,0117$ та надлишковою вагою $r = 0,56$; $p = 0,0003$) та *Bacteroidetes* (у хворих із надлишковою вагою $r = -0,34$; $p = 0,043$); мікроРНК-34а корелювало із *Bacteroidetes* (у хворих із надлишковою вагою $r = -0,44$; $p = 0,0086$) та співвідношенням *Firmicutes/Bacteroidetes* ($r = 0,38$; $p = 0,0231$).

5. Визначено додаткові діагностичні маркери – % ВЖ, сироваткові концентрації прозапальних маркерів вчСРП та ФНП-альфа, рівень мікроРНК-122 та-34а в плазмі крові, а також співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes* та їх cut-off value: сироваткової концентрації вчСРП – 4,5 мг/л (AUC = 0,99, чутливість 1,00, специфічність 0,030; $p < 0,05$); для сироваткової концентрації ФНП-альфа – 5,5 пг/мл (AUC = 0,97, чутливість 0,98, специфічність 0,025; $p < 0,05$); для рівня мікроРНК-122 – 12,50 в.о. (AUC = 0,99, чутливість 0,98, специфічність 0,048; $p < 0,05$); для рівня мікроРНК-34а – 5,50 в.о. (AUC = 0,98, чутливість 0,98, специфічність 0,106; $p < 0,05$); для % ВЖ складав 8,5 % (AUC = 0,99, чутливість 1,00, специфічність 0,175; $p < 0,05$); для співвідношення основних філотипів КМ *Firmicutes/Bacteroidetes* – 1,51 (AUC = 0,95, чутливість 0,83, специфічність 0,021; $p < 0,05$). На підставі визначених маркерів створений алгоритм ранньої діагностики фіброзу у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової маси тіла.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. При первинному обстеженні хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги поряд з обов'язковими методами загальноклінічного, лабораторного та інструментального обстеження з метою ранньої діагностики фіброзу доцільно визначати відносний склад КМ з визначенням співвідношення її основних філотипів, активність прозапальних маркерів: вчСРП та ФНП-альфа, а також рівнів мікроРНК-122 та мікроРНК-34а в плазмі крові.
2. Для визначення груп НАЖХП з ранніми стадіями фіброзу рекомендовано використовувати розроблений алгоритм, який включає поетапне обстеження хворих з визначенням антропометричних показників, цитолітичних, метаболічних параметрів, молекулярно-генетичних та біологічних чинників, що дозволить стратифікувати хворих до групи, що потребують поглибленого обстеження та інтенсивного лікування.
3. Хворим на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги, з діагностованим фіброзом за результатами використання алгоритму, рекомендовано поглиблене обстеження в високоспеціалізованих закладах медичної допомоги з використанням високотехнологічних методів обстеження для уточнення стадії фіброзу та призначення активної лікувальної тактики.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Фадєєнко ГД, Гріднев ОЄ, Кушнір ІЕ. Ендотоксінемія у пацієнтів з ожирінням та неалкогольною жировою хворобою печінки. Проблеми ендокринної патології. 2021;77(3):76-82. doi:10.21856/j-PEP.2021.3.11.
2. Kumar R, Priyadarshi RN, Anand U. Non-alcoholic Fatty Liver Disease: Growing Burden, Adverse Outcomes and Associations. J Clin Transl Hepatol. 2020;8(1):76-86. doi: 10.14218/JCTH.2019.00051.
3. Idalsoaga F, Kulkarni AV, Mousa OY, Arrese M, Arab JP. Non-alcoholic Fatty Liver Disease and Alcohol-Related Liver Disease: Two Intertwined Entities. Front Med. 2020;7:448. doi: 10.3389/fmed.2020.00448.
4. Aron-Wisnewsky J, Vigliotti C, Witjes J, Le P, Holleboom AG, Verheij J, et al. Gut microbiota and human NAFLD: disentangling microbial signatures from metabolic disorders. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2020;17(5):279-97. doi: 10.1038/s41575-020-0269-9.
5. Raman M, Ahmed I, Gillevet PM, Probert CS, Ratcliffe NM, Smith S, et al. Fecal microbiome and volatile organic compound metabolome in obese humans with nonalcoholic fatty liver disease. Clin Gastroenterol Hepatol. 2013; 11(7):868-75.e1-3. doi: 10.1016/j.cgh.2013.02.015.
6. Jiang W, Wu N, Wang X, Chi Y, Zhang Y, Qiu X, et al. Dysbiosis gut microbiota associated with inflammation and impaired mucosal immune function in intestine of humans with non-alcoholic fatty liver disease. Sci Rep. 2015;5:8096. doi: 10.1038/srep08096.
7. Jasirwan COM, Muradi A, Hasan I, Simadibrata M, Rinaldi I. Correlation of gut Firmicutes/Bacteroidetes ratio with fibrosis and steatosis stratified by body mass index in patients with non-alcoholic fatty liver disease. Biosci Microbiota, Food Health. 2021;40(1):50-8. doi: 10.12938/bmfh.2020-046.

8. Rahayu ES, Utami T, Mariyatun M, Hasan PN, Kamil RZ, Setyawan RH, et al. Gut microbiota profile in healthy Indonesians. *World J Gastroenterol*. 2019;25(12):1478-91. doi: 10.3748/wjg.v25.i12.1478.
9. Daya M, Pujiyanto DA, Witjaksono F, Priliani L, Susanto J, Lukito W, et al. Obesity risk and preference for high dietary fat intake are determined by FTO rs9939609 gene polymorphism in selected Indonesian adults. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2019;28(1):183-91. doi: 10.6133/apjcn.201903_28(1).0024.
10. Tkach S, Gubska O, Cheverda T. The efficacy of eradication of small intestinal bacterial overgrowth in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *EUREKA: Health Sciences*. 2017;(4):34-41. doi: 10.21303/2504-5679.2017.00395.
11. Stepanov YM, Zavhorodnia NY, Yagmur VB, Lukianenko OY, Zygalo EV. Association of nonalcoholic fatty liver disease with small intestine bacterial overgrowth in obese children. *Wiad Lek*. 2019;72(3):350-6.
12. Koliada A, Syzenko G, Moseiko V, Budovska L, Puchkov K, Perederiy V, et al. Association between body mass index and Firmicutes/Bacteroidetes ratio in an adult Ukrainian population. *BMC microbiology*. 2017;17(1):120.
13. Giraudi PJ, Stephenson AM, Tiribelli C, Rosso N. Novel high-throughput applications for nafld diagnostics and biomarker discovery. *Hepatoma Research*. 2021;7:2. doi: 10.20517/2394-5079.2020.92.
14. Le MH, Devaki P, Ha NB, Jun DW, Te HS, Cheung RC, et al. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease and risk factors for advanced fibrosis and mortality in the United States. *PloS one*. 2017;12(3):e0173499.
15. Campos-Murguía A, Ruiz-Margáin A, González-Regueiro JA, Macías-Rodríguez RU. Clinical assessment and management of liver fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2020; 26(39):5919-43. doi: 10.3748/wjg.v26.i39.5919.
16. Dulai PS, Singh S, Patel J, Soni M, Prokop LJ, Younossi Z, et al. Increased risk of mortality by fibrosis stage in nonalcoholic fatty liver disease: Systematic review and meta-analysis. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2017;65(5):1557-65.

17. Hagström H, Nasr P, Ekstedt M, Hammar U, Stål P, Hultcrantz R, et al. Fibrosis stage but not NASH predicts mortality and time to development of severe liver disease in biopsy-proven NAFLD. *J Hepatol.* 2017;67(6):1265-73. doi: 10.1016/j.jhep.2017.07.027.
18. Schwenger KJP, Fischer SE, Jackson TD, Okrainec A, Allard JP. Non-alcoholic Fatty Liver Disease in Morbidly Obese Individuals Undergoing Bariatric Surgery: Prevalence and Effect of the Pre-Bariatric Very Low Calorie Diet. *Obes Surg.* 2018;28(4):1109-16. doi: 10.1007/s11695-017-2980-3.
19. Milić S, Lulić D, Štimac D. Non-alcoholic fatty liver disease and obesity: biochemical, metabolic and clinical presentations. *World J Gastroenterol.* 2014;20(28):9330-7.
20. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology.* 2016;64(1):73-84. doi: 10.1002/hep.28431.
21. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Charlton M, Cusi K, Rinella M, et al. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology.* 2018;67(1):328-57.
22. Younossi ZM, Blissett D, Blissett R, Henry L, Stepanova M, Younossi Y, et al. The economic and clinical burden of nonalcoholic fatty liver disease in the United States and Europe. *Hepatology.* 2016;64(5):1577-86.
23. EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* 2016;64(6):1388-402. doi: 10.1016/j.jhep.2015.11.004.
24. Kim D, Touros A, Kim WR. Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Metabolic Syndrome. *Clin Liver Dis.* 2018;22(1):133-40. doi: 10.1016/j.cld.2017.08.010.

25. Younossi Z, Anstee QM, Marietti M, Hardy T, Henry L, Eslam M, et al. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2018;15(1):11-20.
26. Saitta C, Pollicino T, Raimondo G. Obesity and liver cancer. *Ann Hepatol*. 2019c;18(6):810-815. doi: 10.1016/j.aohep.2019.07.004.
27. Sayiner M, Koenig A, Henry L, Younossi ZM. Epidemiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis in the United States and the Rest of the World. *Clin Liver Dis*. 2016;20(2):205-14.
28. WHO. Obesity and overweight. 2021. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.
29. Peng L, Wu S, Zhou N, Zhu S, Liu Q, Li X. Clinical characteristics and risk factors of nonalcoholic fatty liver disease in children with obesity. *BMC pediatrics*. 2021;21(1):122.
30. Bush H, Golabi P, Younossi ZM. Pediatric Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Children (Basel)*. 2017;4(6):48. doi: 10.3390/children4060048.
31. Ko JS. New Perspectives in Pediatric Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Epidemiology, Genetics, Diagnosis, and Natural History. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr*. 2019; 22(6):501-510. doi: 10.5223/pghn.2019.22.6.501.
32. Betancourt-Garcia MM, Arguelles A, Montes J, Hernandez A, Singh M, Forse RA. Pediatric Nonalcoholic Fatty Liver Disease: the Rise of a Lethal Disease Among Mexican American Hispanic Children. *Obes Surg*. 2017;27(1):236-44. doi: 10.1007/s11695-016-2440-5.
33. Степанов ЮМ. Результати обсерваційного перехресного дослідження PRELID 2 (2015–2016). Частина 2. Фактори ризику неалкогольної жирової хвороби печінки й методи лікування хвороби в пацієнтів, які звертаються до терапевтів і гастроентерологів в Україні. *Гастроентерология*. 2019;53(2):26-33. doi: 10.22141/2308-2097.53.2.2019.168984.
34. STEPS поширеність факторів ризику неінфекційних захворювань. Україна 2019. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/336643>.

35. Suresh D, Srinivas AN, Kumar DP. Etiology of Hepatocellular Carcinoma: Special Focus on Fatty Liver Disease. *Front Oncol.* 2020;10:601710.
36. Orabi D, Berger NA, Brown JM. Abnormal Metabolism in the Progression of Nonalcoholic Fatty Liver Disease to Hepatocellular Carcinoma: Mechanistic Insights to Chemoprevention. *Cancers (Basel).* 2021;13(14):3473.
37. Mikolasevic I, Filipec-Kanizaj T, Mijic M, et al. Nonalcoholic fatty liver disease and liver transplantation - Where do we stand?. *World J Gastroenterol.* 2018;24(14):1491-1506.
38. Eshraghian A, Nikeghbalian S, Kazemi K, Shamsaeefar A, Geramizadeh B, Malek-Hosseini SA. Non-alcoholic fatty liver disease after liver transplantation in patients with non-alcoholic steatohepatitis and cryptogenic cirrhosis: the impact of pre-transplant graft steatosis. *HPB (Oxford).* 2020;22(4):521- 8.
39. Burra P, Becchetti C, Germani G. NAFLD and liver transplantation: Disease burden, current management and future challenges. *JHEP Rep.* 2020;2(6):100192.
40. Meroni M, Longo M, Rustichelli A, Dongiovanni P. Nutrition and Genetics in NAFLD: The Perfect Binomium. *Int J Mol Sci.* 2020;21(8):2986.
41. Nahon P, Allaire M, Nault JC, Paradis V. Characterizing the mechanism behind the progression of NAFLD to hepatocellular carcinoma. *Hepat Oncol.* 2020;7(4):HEP36. doi: 10.2217/hep-2020-0017.
42. Benedict M, Zhang X. Non-alcoholic fatty liver disease: An expanded review. *World J Hepatol.* 2017;9(16):715-32. doi: 10.4254/wjh.v9.i16.715.
43. Friedman SL, Neuschwander-Tetri BA, Rinella M, Sanyal AJ. Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies. *Nat Med.* 2018;24(7):908-22.
44. Fujii H, Kawada N, Japan Study Group Of Nafld Jsg-Nafld. The Role of Insulin Resistance and Diabetes in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Int J Mol Sci.* 2020;21(11):3863.
45. Sakurai Y, Kubota N, Yamauchi T, Kadowaki T. Role of Insulin Resistance in MAFLD. *Int J Mol Sci.* 2021;22(8):4156.

46. Alam S, Mustafa G, Alam M, Ahmad N. Insulin resistance in development and progression of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastrointest Pathophysiol.* 2016;7(2):211-7. doi: 10.4291/wjgp.v7.i2.211.
47. Журавльова ЛВ, Пильов ДІ. Значення співвідношення фактору некрозу пухлин- α та васпіну в розвитку інсулінорезистентності. *Проблеми ендокринної патології.* 2019;(3):113–121.
48. Zhao J, Wu Y, Rong X, Zheng C, Guo J. Anti-Lipolysis Induced by Insulin in Diverse Pathophysiologic Conditions of Adipose Tissue. *Diabetes Metab Syndr Obes.* 2020;13:1575-85. doi: 10.2147/DMSO.S250699.
49. Divella R, Mazzocca A, Daniele A, Sabbà C, Paradiso A. Obesity, Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Adipocytokines Network in Promotion of Cancer. *Int J Biol Sci.* 2019;15(3):610-616. doi: 10.7150/ijbs.29599.
50. Grabner GF, Xie H, Schweiger M, Zechner R. Lipolysis: cellular mechanisms for lipid mobilization from fat stores. *Nat Metab.* 2021;3(11):1445-65.
51. Byrne CD, Targher G. NAFLD: a multisystem disease. *J Hepatol.* 2015;62(1 Suppl):S47-64. doi: 10.1016/j.jhep.2014.12.012.
52. Masarone M, Rosato V, Dallio M, Gravina AG, Aglitti A, Loguercio C, et al. Role of Oxidative Stress in Pathophysiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Oxid Med Cell Longev.* 2018;2018:9547613. doi: 10.1155/2018/9547613.
53. Hui JM, Hodge A, Farrell GC, Kench JG, Kriketos A, George J. Beyond insulin resistance in NASH: TNF- α or adiponectin? *Hepatology.* 2004;40(1):46-54.
54. Harvey I, Boudreau A, Stephens JM. Adipose tissue in health and disease. *Open Biol.* 2020;10(12):200291.
55. Alzamil H. Elevated Serum TNF- α Is Related to Obesity in Type 2 Diabetes Mellitus and Is Associated with Glycemic Control and Insulin Resistance. *J Obes.* 2020;2020:5076858.
56. Adams LA, Sanderson S, Lindor KD, Angulo P. The histological course of nonalcoholic fatty liver disease: a longitudinal study of 103 patients with sequential liver biopsies. *J Hepatol.* 2005;42(1):132–8.

57. Suarez-Alvarez K, Solis-Lozano L, Leon-Cabrera S, Gonzalez-Chavez A, Gomez-Hernandez G, Quinones-Alvarez MS, et al. Serum IL-12 is increased in Mexican obese subjects and associated with low-grade inflammation and obesity-related parameters. *Mediators Inflamm.* 2013;2013:967067.
58. Leon-Cabrera S, Solis-Lozano L, Suarez-Alvarez K, Gonzalez-Chavez A, Bejar YL, Robles-Diaz G, et al. Hyperleptinemia is associated with parameters of low-grade systemic inflammation and metabolic dysfunction in obese human beings. *Front Integr Neurosci.* 2013;7:62.
59. Zahran WE, Salah El-Dien KA, Kamel PG, El-Sawaby AS. Efficacy of tumor necrosis factor and interleukin-10 analysis in the follow-up of nonalcoholic fatty liver disease progression. *Indian J Clin Biochem.* 2013;28(2):141–6. doi: 10.1007/s12291-012-0236-5.
60. Wang H, Mehal W, Nagy LE, Rotman Y. Immunological mechanisms and therapeutic targets of fatty liver diseases. *Cell Mol Immunol.* 2021;18(1):73-91.
61. Mu W, Cheng XF, Liu Y, Lv QZ, Liu GL, Zhang JG, et al. Potential Nexus of Non-alcoholic Fatty Liver Disease and Type 2 Diabetes Mellitus: Insulin Resistance Between Hepatic and Peripheral Tissues. *Front Pharmacol.* 2018; 9:1566. doi: 10.3389/fphar.2018.01566.
62. Uemura H, Katsuura-Kamano S, Yamaguchi M, Bahari T, Ishizu M, Fujioka M, et al. Relationships of Serum High-Sensitivity C-reactive Protein and Body Size With Insulin Resistance in a Japanese Cohort. *PloS One.* 2017;12(6):e0178672.
63. Rinaldi L, Pafundi PC, Galiero R, Caturano A, Morone MV, Silvestri C, et al. Mechanisms of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in the Metabolic Syndrome. A Narrative Review. *Antioxidants (Basel).* 2021;10(2):270. doi: 10.3390/antiox10020270.
64. Khan RS, Bril F, Cusi K, Newsome PN. Modulation of Insulin Resistance in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepatology.* 2019;70(2):711–24.
65. Barretto JR, Boa-Sorte N, Vinhaes CL, Malta-Santos H, Reboucas-Silva J, Ramos CF, et al. Heightened Plasma Levels of Transforming Growth Factor Beta (TGF-Beta) and Increased Degree of Systemic Biochemical Perturbation

Characterizes Hepatic Steatosis in Overweight Pediatric Patients:A Cross-Sectional Study. *Nutrients*.2020;12(6):1650.

66. Bian F, Yang XY, Xu G, Zheng T, Jin S. CRP-Induced NLRP3 Inflammasome Activation Increases LDL Transcytosis Across Endothelial Cells. *Front Pharmacol*. 2019;10:40.

67. Nigam P, Bhatt SP, Misra A, Vaidya M, Dasgupta J, Chadha DS. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Is Closely Associated With Sub-Clinical Inflammation: A Case-Control Study on Asian Indians in North India. *PLoS One*. 2013;8(1):e49286.

68. MalekiI, RastgarA, HosseiniV, TaghvaeiT, RafieiA, BarzinM, et al. High Sensitive CRP and Pentraxine 3 as Noninvasive Biomarkers of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*.2014;18(11):1583–90.

69. Yoneda M, Mawatari H, Fujita K, Iida H, Yonemitsu K, Kato S, et al. High-Sensitivity C-Reactive Protein is an Independent Clinical Feature of Nonalcoholic Steatohepatitis (NASH) and Also of the Severity of Fibrosis in NASH. *J Gastroenterol*. 2007;42(7):573–82.

70. Zimmermann E, Anty R, Tordjman J, Verrijken A, Gual P, Tran A, et al. C-Reactive Protein Levels in Relation to Various Features of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Among Obese Patients. *J Hepatol*.2011;55(3):660–5.

71. Jampoka K, Muangpaisarn P, Khongnomnan K, Treeprasertsuk S, Tangkijvanich P, Payungporn S. Serum miR-29a and miR-122 as Potential Biomarkers for Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). *Microna*. 2018;7(3):215-22.

72. Xiao G, Zhu S, Xiao X, Yan L, Yang J, Wu G. Comparison of laboratory tests, ultrasound, or magnetic resonance elastography to detect fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease: A meta-analysis. *Hepatology*. 2017;66(5):1486-1501.

73. Wong VW, Adams LA, de Lédinghen V, Wong GL, Sookoian S. Noninvasive biomarkers in NAFLD and NASH - current progress and future promise. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2018;15(8):461-78.

74. Wei XY, Ding J, Tian WG, Yu YC. MicroRNA-122 as a diagnostic biomarker for hepatocellular carcinoma related to hepatitis C virus: a meta-analysis and systematic review. *J Int Med Res.* 2020;48(8):300060520941634.
75. Iravani F, Hosseini N, Mojarrad M. Role of MicroRNAs in Pathophysiology of Non-alcoholic Fatty Liver Disease and Non-alcoholic Steatohepatitis. *Middle East J Dig Dis.* 2018;10(4):213-9.
76. Akuta N, Kawamura Y, Suzuki F, Saitoh S, Arase Y, Kunimoto H, et al. Impact of circulating miR-122 for histological features and hepatocellular carcinoma of nonalcoholic fatty liver disease in Japan. *Hepatol Int.* 2016;10(4):647-56. doi: 10.1007/s12072-016-9729-2.
77. Yamada H, Suzuki K, Ichino N, Ando Y, Sawada A, Osakabe K, et al. Associations between circulating microRNAs (miR-21, miR-34a, miR-122 and miR-451) and non-alcoholic fatty liver. *Clin Chim Acta.*;424:99-103.
78. Miyaaki H, Ichikawa T, Kamo Y, Taura N, Honda T, Shibata H, et al. Significance of serum and hepatic microRNA-122 levels in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int.* 2014;34(7):e302-7.
79. Cheung O, Puri P, Eicken C, Contos MJ, Mirshahi F, Maher JW, et al. Nonalcoholic steatohepatitis is associated with altered hepatic MicroRNA expression. *Hepatology.* 2008;48(6):1810-20. doi: 10.1002/hep.22569.
80. Long JK, Dai W, Zheng YW, Zhao SP. miR-122 promotes hepatic lipogenesis via inhibiting the LKB1/AMPK pathway by targeting Sirt1 in non-alcoholic fatty liver disease. *Mol Med.* 2019;25(1):26.
81. Dongiovanni P, Meroni M, Longo M, Fargion S, Fracanzani AL. miRNA Signature in NAFLD: A Turning Point for a Non-Invasive Diagnosis. *Int J Mol Sci.* 2018;19(12):3966.
82. Di Mauro S, Scamporrino A, Filippello A, Di Pino A, Scicali R, Malaguarnera R, et al. Clinical and Molecular Biomarkers for Diagnosis and Staging of NAFLD. *Int J Mol Sci.* 2021;22(21):11905.

83. Luna JM, Michailidis E, Rice CM. Mopping up miRNA: An integrated HBV transcript disrupts liver homeostasis by sequestering miR-122. *J Hepatol.* 2016;64(2):257-259.
84. Elabd NS, Tayel SI, Elhamouly MS, Hassanein SA, Kamaleldeen SM, Ahmed FE, et al. Evaluation of MicroRNA-122 as a Biomarker for Chronic Hepatitis C Infection and as a Predictor for Treatment Response to Direct-Acting Antivirals. *Hepat Med.* 2021;13:9-23.
85. Ambade A, Satishchandran A, Szabo G. Alcoholic hepatitis accelerates early hepatobiliary cancer by increasing stemness and miR-122-mediated HIF-1 α activation. *Sci Rep.* 2016;6:21340.
86. Bakshi S, Kaur M, Saini N, Mir AA, Duseja A, Sinha SK, Sharma S. Altered expressions of circulating microRNAs 122 and 192 during antitubercular drug induced liver injury indicating their role as potential biomarkers. *Hum Exp Toxicol.* 2021;40(9):1474-84.
87. Iacomino G, Russo P, Marena P, Lauria F, Venezia A, Ahrens W, et al. Circulating microRNAs are associated with early childhood obesity: results of the I. Family Study. *Genes Nutr.* 2019;14:2. doi: 10.1186/s12263-018-0622-6.
88. Okamatsu-Ogura Y, Matsushita M, Bariuan JV, Nagaya K, Tsubota A, Saito M. Association of circulating exosomal miR-122 levels with BAT activity in healthy humans. *Scientific reports.* 2019;9(1):1-6.
89. Sebag SC, Zhang Z, Qian Q, Li M, Zhu Z, Harata M, et al. ADH5-mediated NO bioactivity maintains metabolic homeostasis in brown adipose tissue. *Cell Rep.* 2021;37(7):110003.
90. Wibmer AG, Becher T, Eljalby M, Crane A, Andrieu PC, Jiang CS, et al. Brown adipose tissue is associated with healthier body fat distribution and metabolic benefits independent of regional adiposity. *Cell Rep Med.* 2021;2(7):100332.
91. Wang L, Sun M, Cao Y, Ma L, Shen Y, Velikanova AA, et al. miR-34a regulates lipid metabolism by targeting SIRT1 in non-alcoholic fatty liver disease with iron overload. *Arch Biochem Biophys.* 2020;695:108642.

92. Kim M, Kwon YE, Song JO, Bae SJ, Seol JH. CHFR negatively regulates SIRT1 activity upon oxidative stress. *Sci Rep*. 2016;6:37578.
93. Wen F, An C, Wu X, Yang Y, Xu J, Liu Y, et al. MiR-34a regulates mitochondrial content and fat ectopic deposition induced by resistin through the AMPK/PPAR α pathway in HepG2 cells. *Int J Biochem Cell Biol*. 2018;94:133-45. doi: 10.1016/j.biocel.2017.11.008.
94. Yan G, Li B, Xin X, Xu M, Ji G, Yu H. MicroRNA-34a Promotes Hepatic Stellate Cell Activation via Targeting ACSL1. *Med Sci Monit*. 2015;21:3008-15.
95. Sagnelli E, Potenza N, Onorato L, Sagnelli C, Coppola N, Russo A. Micro-RNAs in hepatitis B virus-related chronic liver diseases and hepatocellular carcinoma. *World J Hepatol*. 2018;10(9):558-570.
96. Matijašić M, Meštrović T, Paljetak HČ, Perić M, Barešić A, Verbanac D. Gut Microbiota beyond Bacteria-Mycobiome, Virome, Archaeome, and Eukaryotic Parasites in IBD. *Int J Mol Sci*. 2020;21(8):2668.
97. Thursby E, Juge N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochem J*. 2017;474(11):1823-36.
98. Claesson MJ, Cusack S, O'Sullivan O, Greene-Diniz R, de Weerd H, Flannery, E, et al. Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly. *Proc Natl Acad Sci*. 2011;108(supplement_1):4586-91.
99. Iglesias-Vázquez L, Van Ginkel Riba G, Arija V, Canals J. Composition of Gut Microbiota in Children with Autism Spectrum Disorder: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*. 2020;12(3):792.
100. Ciuffreda L, Rodríguez-Pérez H, Flores C. Nanopore sequencing and its application to the study of microbial communities. *Comput Struct Biotechnol J*. 2021;19:1497-1511.
101. Gao B, Chi L, Zhu Y, Shi X, Tu P, Li B, et al. An Introduction to Next Generation Sequencing Bioinformatic Analysis in Gut Microbiome Studies. *Biomolecules*. 2021;11(4):530.

102. Metagenomics of the Human Intestinal Tract. Available from: <https://cordis.europa.eu/project/id/201052>.
103. Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*. 2010;464(7285):59-65. doi: 10.1038/nature08821.
104. Human Microbiome Project. Available from: <https://en.mgi-tech.com/News/info/id/96>.
105. Rinninella E, Raoul P, Cintoni M, Franceschi F, Miggianno GAD, Gasbarrini A, Mele MC. What is the Healthy Gut Microbiota Composition? A Changing Ecosystem across Age, Environment, Diet, and Diseases. *Microorganisms*. 2019;7(1):14. doi: 10.3390/microorganisms7010014.
106. Jayakumar S, Loomba R. Review article: emerging role of the gut microbiome in the progression of nonalcoholic fatty liver disease and potential therapeutic implications. *Aliment Pharmacol Ther*. 2019;50(2):144-58.
107. Zhang Z, Dai W, Weng S, Luo M, Fu J, Zadroga JA, et al. The association of serum total bile acid with non-alcoholic fatty liver disease in Chinese adults: a cross sectional study. *Lipids Health Dis*. 2020;19(1):18.
108. Albhaisi S, Sanyal AJ. Gene-Environmental Interactions as Metabolic Drivers of Nonalcoholic Steatohepatitis. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021;12:665987.
109. Jiang X, Zheng J, Zhang S, Wang B, Wu C, Guo X. Advances in the Involvement of Gut Microbiota in Pathophysiology of NAFLD. *Front Med (Lausanne)*. 2020;7:361.
110. Armstrong LE, Lee EC, Armstrong EM. Interactions of Gut Microbiota, Endotoxemia, Immune Function, and Diet in Exertional Heatstroke. *J Sports Med (Hindawi Publ Corp)*. 2018;2018:5724575.
111. Vancamelbeke M, Vermeire S. The intestinal barrier: a fundamental role in health and disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017;11(9):821-34.
112. Fukui H. Role of Gut Dysbiosis in Liver Diseases: What Have We Learned So Far?. *Diseases*. 2019;7(4):58.

113. Tokuhara D. Role of the Gut Microbiota in Regulating Non-alcoholic Fatty Liver Disease in Children and Adolescents. *Front Nutr.* 2021;8:700058.
114. Diehl AM, Day C. Cause, Pathogenesis, and Treatment of Nonalcoholic Steatohepatitis. *N Engl J Med.* 2017;377(21):2063-72.
115. Kolodziejczyk AA, Zheng D, Shibolet O, Elinav E. The role of the microbiome in NAFLD and NASH. *EMBO Mol Med.* 2019;11(2):e9302.
116. Fianchi F, Liguori A, Gasbarrini A, Grieco A, Miele L. Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) as Model of Gut-Liver Axis Interaction: From Pathophysiology to Potential Target of Treatment for Personalized Therapy. *Int J Mol Sci.* 2021;22(12):6485. doi: 10.3390/ijms22126485.
117. Kessoku T, Kobayashi T, Tanaka K, Yamamoto A, Takahashi K, Iwaki M, et al. The Role of Leaky Gut in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Novel Therapeutic Target. *Int J Mol Sci.* 2021;22(15):8161. doi: 10.3390/ijms22158161.
118. Nier A, Huber Y, Labenz C, Michel M, Bergheim I, Schattenberg JM. Adipokines and Endotoxemia Correlate with Hepatic Steatosis in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). *Nutrients.* 2020;12(3):699.
119. Bibbò S, Ianiro G, Dore MP, Simonelli C, Newton EE, Cammarota G. Gut Microbiota as a Driver of Inflammation in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Mediators Inflamm.* 2018;2018:9321643.
120. Pang J, Xu W, Zhang X, Wong GL, Chan AW, Chan HY, et al. Significant positive association of endotoxemia with histological severity in 237 patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2017;46(2):175-82.
121. Chan RS, Chim AM, Chan CK, Tse YK, Woo J, Chu WC, Chan HL. Bacterial endotoxin and non-alcoholic fatty liver disease in the general population: a prospective cohort study. *Aliment Pharmacol Ther.* 2015;42(6):731-40.
122. Grabherr F, Grander C, Effenberger M, Adolph TE, Tilg H. Gut Dysfunction and Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2019;10:611.

123. Da Silva HE, Teterina A, Comelli EM, Taibi A, Arendt BM, Fischer SE, et al. Nonalcoholic fatty liver disease is associated with dysbiosis independent of body mass index and insulin resistance. *Sci Rep*. 2018;8(1):1466.
124. Jasirwan COM, Lesmana CRA, Hasan I, Sulaiman AS, Gani RA. The role of gut microbiota in non-alcoholic fatty liver disease: pathways of mechanisms. *Biosci Microbiota Food Health*. 2019;38(3):81-8.
125. Wang B, Jiang X, Cao M, Ge J, Bao Q, Tang L, et al. Altered Fecal Microbiota Correlates with Liver Biochemistry in Nonobese Patients with Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *Sci Rep*. 2016;6:32002.
126. Brandl K, Schnabl B. Intestinal microbiota and nonalcoholic steatohepatitis. *Curr Opin Gastroenterol*. 2017;33(3):128-33.
127. Zhao Y, Zhou J, Liu J, Wang Z, Chen M, Zhou S. Metagenome of Gut Microbiota of Children With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Front Pediatr*. 2019;7:518.
128. Tang DM, Kumar S. The Association Between *Helicobacter pylori* Infection and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Curr Gastroenterol Rep*. 2017;19(2):56.
129. Loomba R, Seguritan V, Li W, Long T, Klitgord N, Bhatt A, et al. Gut Microbiome-Based Metagenomic Signature for Non-invasive Detection of Advanced Fibrosis in Human Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Cell Metab*. 2017;25(5):1054-62.e5. doi: 10.1016/j.cmet.2017.04.001.
130. Caussy C, Tripathi A, Humphrey G, Bassirian S, Singh S, Faulkner C, et al. A gut microbiome signature for cirrhosis due to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Commun*. 2019;10(1):1-9. doi: 10.1038/s41467-019-09455-9.
131. Kim H.N., Joo E.J., Cheong H.S., Kim Y., Kim H.L., Shin H., Chang Y., Ryu S. Gut Microbiota and Risk of Persistent Nonalcoholic Fatty Liver Diseases. *J Clin Med*. 2019;24;8(8).
132. Abuqwider JN, Mauriello G, Altamimi M. *Akkermansia muciniphila*, a New Generation of Beneficial Microbiota in Modulating Obesity: A Systematic Review. *Microorganisms*. 2021;9(5):1098.

133. Madrid AM, Hurtado C, Venegas M, Cumsille F, Defilippi C. Long-Term treatment with cisapride and antibiotics in liver cirrhosis: effect on small intestinal motility, bacterial overgrowth, and liver function. *Am J Gastroenterol.* 2001;96(4):1251-5.
134. Zmora N, Zilberman-Schapira G, Suez J, Mor U, Dori-Bachash M, Bashiares S, et al. Personalized Gut Mucosal Colonization Resistance to Empiric Probiotics Is Associated with Unique Host and Microbiome Features. *Cell.* 2018;174(6):1388-1405.e21. doi: 10.1016/j.cell.2018.08.041.
135. Fan R, Wang J, Du J. Association between body mass index and fatty liver risk: A dose-response analysis. *Sci Rep.* 2018;8:15273. doi: 10.1038/s41598-018-33419-6.
136. Plaza-DíazJ, Solis-UrraP, Aragón-VelaJ, Rodríguez-RodríguezF, Olivares-ArancibiaJ, Álvarez-MercadoAI. Insights into the Impact of Microbiota in the Treatment of NAFLD/NASH and Its Potential as a Biomarker for Prognosis and Diagnosis. *Biomedicines.* 2021;9(2):145.
137. Zhang JZ, Cai JJ, Yu Y, She ZG, Li H. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: An Update on the Diagnosis. *Gene Expr.* 2019;19(3):187-98.
138. Treeprasertsuk S, Björnsson E, Enders F, Suwanwalaikorn S, Lindor KD. NAFLD fibrosis score: a prognostic predictor for mortality and liver complications among NAFLD patients. *World J Gastroenterol.* 2013;19(8):1219-29.
139. Mózes FE, Lee JA, Selvaraj EA, Jayaswal ANA, Trauner M, Boursier J, et al.; LITMUS Investigators. Diagnostic accuracy of non-invasive tests for advanced fibrosis in patients with NAFLD: an individual patient data meta-analysis. *Gut.* 2022;71(5):1006-19. doi: 10.1136/gutjnl-2021-324243.
140. Almpanis Z, Demonakou M, Tiniakos D. Evaluation of liver fibrosis: "Something old, something new...". *Ann Gastroenterol.* 2016;29(4):445-53.
141. Castera L, Friedrich-Rust M, Loomba R. Noninvasive Assessment of Liver Disease in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology.* 2019;156(5):1264-1281.e4.

142. Gheorghe G, Bungău S, Ceobanu G, Ilie M, Bacalbaşa N, Bratu OG, Vesa CM, Găman MA, Diaconu CC. The non-invasive assessment of hepatic fibrosis. *J Formos Med Assoc.* 2021;120(2):794-803.
143. Lin Z-H, Xin Y-N, Dong Q-J, et al. Performance of the aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index for the staging of hepatitis C-related fibrosis: an updated meta-analysis. *Hepatology.* 2011;53:726–36.
144. Huang C, Seah JJ, Tan CK, Kam JW, Tan J, Teo EK, et al. Modified AST to platelet ratio index improves APRI and better predicts advanced fibrosis and liver cirrhosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2021;45(4):101528.
145. Kim WR, Berg T, Asselah T, Flisiak R, Fung S, Gordon SC, et al. Evaluation of APRI and FIB-4 scoring systems for non-invasive assessment of hepatic fibrosis in chronic hepatitis B patients. *J Hepatol.* 2016;64:773–80. doi: 10.1016/j.jhep.2015.11.012.
146. Kruger FC, Daniels CR, Kidd M, et al. APRI: A simple bedside marker for advanced fibrosis that can avoid liver biopsy in patients with NAFLD/NASH. *S Afr Med J.* 2011;101(7):477–80.
147. Wang CC, Liu CH, Lin CL, Wang PC, Tseng TC, Lin HH, Kao JH. Fibrosis index based on four factors better predicts advanced fibrosis or cirrhosis than aspartate aminotransferase/platelet ratio index in chronic hepatitis C patients. *J Formos Med Assoc.* 2015;114(10):923-8.
148. Hernandez Roman J, Siddiqui MS. The role of noninvasive biomarkers in diagnosis and risk stratification in nonalcoholic fatty liver disease. *Endocrinol Diabetes Metab.* 2020;3(4):e00127.
149. McPherson S, Hardy T, Dufour JF, Petta S, Romero-Gomez M, Allison M, et al. Age as a confounding factor for the accurate non-invasive diagnosis of advanced NAFLD fibrosis. *Am J Gastroenterol.* 2017;112(5):740–51.
150. Zhou JH, Cai JJ, She ZG, Li HL. Noninvasive evaluation of nonalcoholic fatty liver disease: Current evidence and practice. *World J Gastroenterol.* 2019;25(11):1307-26.

151. Lee TH, Han SH, Yang JD, Kim D, Ahmed M. Prediction of advanced fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease: an enhanced model of BARD score. *Gut and Liver*. 2013;7(3):323–8.
152. Adams L. A., George J., Bugianesi E., Rossi E, De Boer WB, van der Poorten D, et al. Complex non-invasive fibrosis models are more accurate than simple models in non-alcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol*. 2011;26(10):1536–43. doi: 10.1111/j.1440-1746.2011.06774.x.
153. Guéchet J, Lasnier E, Sturm N, Paris A, Zarski J-P. Automation of the Hepascore and validation as a biochemical index of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C from the ANRS HC EP 23 Fibrostar cohort. *Clinica Chimica Acta*. 2010;411(1-2):86–91.
154. Rossi E, Adams L A, Ching H L, Bulsara M, MacQuillan GC, Jeffrey GP. High biological variation of serum hyaluronic acid and hepascore, a biochemical marker model for the prediction of liver fibrosis. *Clin Chem Lab Med*. 2013;51(5):1107–14. doi: 10.1515/cclm-2012-0584.
155. Huang Y, Adams LA, Joseph J, Bulsara MK, Jeffrey GP. The ability of Hepascore to predict liver fibrosis in chronic liver disease: a meta-analysis. *Liver Int*. 2017;37(1):121-31.
156. QuY, SongYY, ChenCW, Fu QC, Shi JP, Xu Y, et al. Diagnostic Performance of FibroTouch Ultrasound Attenuation Parameter and Liver Stiffness Measurement in Assessing Hepatic Steatosis and Fibrosis in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clin Transl Gastroenterol*. 2021;12(4):e00323. doi: 10.14309/ctg.0000000000000323.
157. Grąt K, Grąt M, Rowiński O. Usefulness of Different Imaging Modalities in Evaluation of Patients with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Biomedicines*. 2020;8(9):298. doi: 10.3390/biomedicines8090298.
158. Harrison SA. Utilization of FibroScan Testing in Hepatitis C Virus Management. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*. 2015;11(3):187-189.

159. Sun Y, Wu X, Zhou J, Meng T, Wang B, Chen S, et al. Persistent Low Level of Hepatitis B Virus Promotes Fibrosis Progression During Therapy. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2020;18(11):2582-91.e6.
160. Haga Y, Kanda T, Sasaki R, Nakamura M, Nakamoto S, Yokosuka O. Nonalcoholic fatty liver disease and hepatic cirrhosis: Comparison with viral hepatitis-associated steatosis. *World J Gastroenterol*. 2015;21(46):12989–95.
161. Hu X, Huang X, Hou J, Ding L, Su C, Meng F. Diagnostic accuracy of spleen stiffness to evaluate portal hypertension and esophageal varices in chronic liver disease: a systematic review and meta-analysis. *Eur Radiol*. 2021;31(4):2392-2404.
162. Oeda S, Takahashi H, Imajo K, Seko Y, Ogawa Y, Moriguchi M, et al. Accuracy of liver stiffness measurement and controlled attenuation parameter using FibroScan® M/XL probes to diagnose liver fibrosis and steatosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease: a multicenter prospective study. *J Gastroenterol*. 2020;55(4):428-40.
163. Xia B, Wang F, Friedrich-Rust M, Zhou F, Zhu J, Yang H, et al. Feasibility and Efficacy of Transient Elastography using the XL probe to diagnose liver fibrosis and cirrhosis: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2018 Sep;97(39):e11816.
164. Yanrong Guo, Haoming Lin, Xinyu Zhang, Huiying Wen, Siping Chen, Xin Chen. The influence of hepatic steatosis on the evaluation of fibrosis with non-alcoholic fatty liver disease by acoustic radiation force impulse. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc*. 2017;2017:2988-91. doi: 10.1109/EMBC.2017.8037485.
165. Yin M, Glaser KJ, Talwalkar JA, Chen J, Manduca A, Ehman RL. Hepatic MR elastography: Clinical performance in a series of 1377 consecutive examinations. *Radiology*. 2016;278(1):114–24.
166. Chen J, Yin M, Talwalkar JA, Oudry J, Glaser KJ, Smyrk TC, et al. Diagnostic performance of MR elastography and vibration-controlled

- transient elastography in the detection of hepatic fibrosis in patients with severe to morbid obesity. *Radiology*. 2017;283(2):418–28. doi: 10.1148/radiol.2016160685.
167. Kastl AJ Jr, Terry NA, Wu GD, Albenberg LG. The Structure and Function of the Human Small Intestinal Microbiota: Current Understanding and Future Directions. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2020;9(1):33-45. doi: 10.1016/j.jcmgh.2019.07.006.
168. Курінна ОГ, Кушнір ІЕ, Чернова ВМ, Черелюк НІ. Вплив немедикаментозного лікування на показники вуглеводного обміну у пацієнтів з неалкогольною жировою хворобою печінки та ожирінням. *Сучасна Гастроентерологія*. 2018;(3):42-7. doi: 10.30978/MG-2018-3-42.
169. Фадеєнко ГД, Гриднєв АЕ, Черелюк НІ, Куринная ЕГ. Роль кишечной микробиоты в развитии неалкогольной жировой болезни печени. *Сучасна Гастроентерологія*. 2019;(4):92-9. doi: 10.30978/MG-2019-4-92.
170. Фадеєнко ГД, Черелюк НІ, Курінна ОГ. Зв'язок неалкогольної жирової хвороби печінки з порушеннями мікробного складу кишечника. *Медицина сьогодні і завтра*. 2019;(1):6-22. doi: 10.35339/msz.2019.82.01.03.
171. Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги «Неалкогольний стеатогепатит»: наказ МОЗ України № 826 від 06.11.2014. Available from: <http://search.ligazakon.ua>.
172. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, 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;55(6):2005-23. doi: 10.1002/hep.25762.
173. Catapano AL, Graham I, De Backer G, Wiklund O, Chapman MJ, Drexel H, et al.; ESC Scientific Document Group. 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias. *Eur Heart J*. 2016;37(39):2999-3058. doi: 10.1093/eurheartj/ehw272.
174. Yumuk V, Tsigos C, Fried M, Schindler K, Busetto L, Micic D, Toplak H; Obesity Management Task Force of the European Association for the Study of

Obesity. European Guidelines for Obesity Management in Adults. Obes Facts. 2015;8(6):402-24.

175. Bacchetti De Gregoris T, Aldred N, Clare AS, Burgess JG. Improvement of phylum- and class-specific primers for real-time PCR quantification of bacterial taxa. J Microbiol Methods. 2011;86(3):351-6.

176. Фадєєнко ГД, Черелюк НІ, Гальчінська ВЮ. Стан кишкової мікробіоти у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки в залежності від коморбідного перебігу на тлі асоційованих з метаболічним синдромом захворювань. В: Матеріали наукового симпозіуму з міжнародною участю «Неінфекційні захворювання: ключові чинники, що впливають на якість та тривалість життя»; 2020 лист. 4; Харків, Україна. Харків; 2020. с.161.

177. Фадєєнко Г. Д., Черелюк Н. І. Співвідношення основних філотипів кишкової мікробіоти у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки на тлі ожиріння та його зв'язок зі стадією стеатозу печінки. Сучасна гастроентерологія. 2020;6(116):14-20. doi:10.30978/MG-2020-6-14.

178. Фадєєнко ГД, Черелюк НІ, Гальчінська ВЮ. Метаболічні захворювання та неалкогольна жирова хвороба печінки-особливості стану кишкової мікробіоти. Проблеми ендокринної патології. 2020;(4):99-105. doi:10.21856/j-PER.2020.4.13

179. Черелюк НІ, Степанова ОВ. Вплив медикаментозного лікування на клініко-антропометричні показники, біохімічні параметри та маркери системного запалення у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки. В: Програма «34-а річна наукова сесія присвячена підсумкам заключних та перехідних етапів науково-дослідних робіт в ДУ «Національний інститут терапії ім. Л.Т. Малої НАМН України»; 2020 лют. 7; Харків, Україна. Харків; 2020. с. 2.

180. Фадєєнко ГД, Черелюк НІ, Курінна ОГ. Співвідношення основних філотипів кишкової мікробіоти у пацієнтів на неалкогольну жирову хворобу печінки в залежності від стадії фіброзу. В: Матеріали науково-практичної конференції молодих вчених за участю міжнародних спеціалістів «Сучасна

медицина очима молоді: проблеми і перспективи вирішення»; 2020 трав. 22; Харків, Україна. Харків; 2020. с. 164.

181. Фадєєнко ГД, Кушнір ІЕ, Чернова ВМ, Соломенцева ТА, Нікіфорова ЯВ, Курінна ОГ, Черелюк НІ, винахідники; Спосіб діагностики неалкогольного стеатогепатиту у хворих з неалкогольною жирковою хворобою печінки на тлі метаболічних порушень. Патент України на корисну модель № 138380 від 25.11.2019, МПК (2006), G01N33/50 (2006.01), A61B 31/00 A61P.

182. Fadieienko GD, Chereliuk NI, Kurinna OH. Effect of lifestyle modification on proinflammation markers in non-alcoholic fatty liver disease. In: World Congress of Gastroenterology; 2019 Sep 21 – 24; Istanbul, Turkey. Turkish J Gastroenterol. 2019;30(Suppl 3): S258.

183. Fadieienko GD, Chereliuk NI, Kurinna OH, Radzishevskaya YeB. Relationship between the main phylotypes of intestinal microbiota and comorbid states in patients with nonalcoholic fatty liver disease and obesity. In: 5th Paris NASH Meeting; 2019 Jul 11-12; Paris, France. 2019:Abstract 16.

184. Фадєєнко ГД, Черелюк НІ, Курінна ОГ, Олійник ОВ, Радзишевська ЄБ. Зв'язок між ступенем стеатозу та фіброзу, а також показниками складу тіла у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки із супутнім ожирінням. В: Матеріали науково-практичної конференції молодих вчених за участю міжнародних спеціалістів «Досягнення профілактичної медицини як основа збереження здоров'я і благополуччя»; 2019 трав. 23; Харків, Україна. Харків; 2019. с. 60.

185. Фадєєнко ГД, Черелюк НІ, Курінна ОГ. Співвідношення основних філотипів кишкової мікробіоти у хворих на НАЖХП та супутнє ожиріння. В: Матеріали науково-практичної конференції «Ювілейні терапевтичні читання. Клінічна та профілактична медицина: досвід та нові напрямки розвитку»; 2019 квіт. 11-12; Харків, Україна. Харків; 2019. с. 256.

186. Chereliuk NI, Fadieienko GD, Gridnyev OE. Effect of body mass index on the ratio of the main microbiota phylotypes in patients with non-alcoholic fatty

- liver disease. In: 28th United European Gastroenterology Week; 2020 Octob 11-13; Virtual. UEG Journal. 2020;8(S8):S588, P0839.
187. Черелюк НІ. Співвідношення основних філотипів кишкової мікробіоти у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки та ожиріння. Сучасна Гастроентерологія. 2019;(5):26-33. doi:10.30978/MG-2019-5-26.
188. Fadieienko GD, Chereliuk NI, Galchinskaya VY. Ratio of main phylotypes of gut microbiota in patients with non-alcoholic fatty liver disease depending on the body mass index. Wiad Lek. 2021;74(3 cz 1):523-9. PMID: 33813462.
189. Фадєєнко ГД, Черелюк НІ, Гріднєв ОЄ, Гальчинська ВЮ, винахідники; Спосіб прогнозування розвитку неалкогольної жирової хвороби печінки на тлі ожиріння. Патент України на корисну на корисну модель №144533 від 12.10.2020, МПК (2020.01),G01N33/00Бюл.№ 19.
190. Фадєєнко ГД, Черелюк НІ, Гальчинська ВЮ, Бондар ТМ. Взаємозв'язок показників стану мікробіоти з рівнем мікрорнк-34а та мікрорнк-122 у пацієнтів з неалкогольною жировою хворобою печінки на тлі ожиріння чи надлишкової ваги. В: Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Щорічні терапевтичні читання. Неінфекційні захворювання: профілактика та зміцнення здоров'я в Україні»; 2021 квіт. 22-23; Харків, Україна. Харків;2021. с.155.
191. Фадєєнко ГД, Черелюк НІ. Визначення рівнів експресії mir-34a та mir-122 у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки із супутнім ожирінням. В: Матеріалах міжнародної науково-практичної конференції «Вітчизняна та світова медицина в умовах сучасності»; 2020 січ. 10-11; Дніпро, Україна. Дніпро; 2020. с. 91-96.
192. O'Gorman P, Norris S Exercising in the COVID-19 era: implications in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). BMJ Open Gastroenterology. 2021;8:e000568.
193. Mitra S, De A, Chowdhury A. Epidemiology of non-alcoholic and alcoholic fatty liver diseases. Transl Gastroenterol Hepatol. 2020;5:16.

194. Estes C, Anstee QM, Arias-Loste MT, Bantel H, Bellentani S, Caballeria J, et al. Modeling NAFLD disease burden in China, France, Germany, Italy, Japan, Spain, United Kingdom, and United States for the period 2016-2030. *J Hepatol*. 2018;69(4):896-904. doi: 10.1016/j.jhep.2018.05.036.
195. Janssen F, Bardoutsos A, Vidra N. Obesity Prevalence in the Long-Term Future in 18 European Countries and in the USA. *Obes Facts*. 2020;13:514-27.
196. Godoy-Matos AF, Silva Júnior WS, Valerio CM. NAFLD as a continuum: from obesity to metabolic syndrome and diabetes. *Diabetol Metab Syndr*. 2020;12:60.
197. Taylor RS, Taylor RJ, Bayliss S, Hagström H, Nasr P, Schattenberg JM, et al. Association Between Fibrosis Stage and Outcomes of Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Gastroenterology*. 2020;158(6):1611-125.e12. doi: 10.1053/j.gastro.2020.01.043.
199. Heyens LJM, Busschots D, Koek GH, Robaeys G, Francque S. Liver Fibrosis in Non-alcoholic Fatty Liver Disease: From Liver Biopsy to Non-invasive Biomarkers in Diagnosis and Treatment. *Front Med (Lausanne)*. 2021;8:615978.
200. El Hadi H, Di Vincenzo A, Vettor R, Rossato M. Relationship between Heart Disease and Liver Disease: A Two-Way Street. *Cells*. 2020;9(3):567.
201. Mumtaz S, Schomaker N, Von Roenn N. Pro: Noninvasive Imaging Has Replaced Biopsy as the Gold Standard in the Evaluation of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clin Liver Dis (Hoboken)*. 2019;13(4):111-113.
202. TilgH, AdolphTE, MoschenAR. Multiple Parallel Hits Hypothesis in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Revisited After a Decade. *Hepatology*. 2021;73(2):833-42.
203. Parthasarathy G, Revelo X, Malhi H. Pathogenesis of Nonalcoholic Steatohepatitis: An Overview. *Hepatol Commun*. 2020;4(4):478-492.
204. Liu W, Baker RD, Bhatia T, Zhu L, Baker SS. Pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Cell Mol Life Sci*. 2016;73(10):1969-87.
205. Mouzaki M, Loomba R. Insights into the evolving role of the gut microbiome in nonalcoholic fatty liver disease: rationale and prospects for therapeutic

- intervention. *Therap Adv Gastroenterol.* 2019;12:1756284819858470. doi: 10.1177/1756284819858470.
206. Liang Q, Zhang M, Hu Y, Zhang W, Zhu P, Chen Y, et al. Gut Microbiome Contributes to Liver Fibrosis Impact on T Cell Receptor Immune Repertoire. *Front Microbiol.* 2020;11:571847.
207. Hliwa A, Ramos-Molina B, Laski D, Mika A, Sledzinski T. The Role of Fatty Acids in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Progression: An Update. *Int J Mol Sci.* 2021;22(13):6900.
208. Li X, Wang H. Multiple organs involved in the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *Cell Biosci.* 2020;10(1):140.
209. Romaní-Pérez M, Bullich-Vilarrubias C, López-Almela I, Liébana-García R, Olivares M, Sanz Y. The Microbiota and the Gut-Brain Axis in Controlling Food Intake and Energy Homeostasis. *Int J Mol Sci.* 2021;22(11):5830.
210. Boulangé CL, Neves AL, Chilloux J, Nicholson JK, Dumas ME. Impact of the gut microbiota on inflammation, obesity, and metabolic disease. *Genome Med.* 2016;8(1):42.
211. Camilleri M, Lyle BJ, Madsen KL, Sonnenburg J, Verbeke K, Wu GD. Role for diet in normal gut barrier function: developing guidance within the framework of food-labeling regulations. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2019;317(1):G17-G39. doi: 10.1152/ajpgi.00063.2019.
212. Barsuk AL, Nekaeva ES, Lovtsova LV, Urakov AL. Selective Intestinal Decontamination as a Method for Preventing Infectious Complications (Review). *Sovrem Tekhnologii Med.* 2021;12(6):86-95.
213. Porras D, Nistal E, Martínez-Flórez S, González-Gallego J, García-Mediavilla MV, Sánchez-Campos S. Intestinal Microbiota Modulation in Obesity-Related Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *Front Physiol.* 2018;9:1813.
214. Suk KT, Kim DJ. Gut microbiota: novel therapeutic target for nonalcoholic fatty liver disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2019;13(3):193-204.
215. Gómez de la Cuesta S, Aller de la Fuente R, Tafur Sánchez C, Izaola O, García Sánchez C, Mora N, et al. Analytical, anthropometric and dietary factors

associated with the development of fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Rev Esp Enferm Dig.* 2018;110(5):292-298. doi: 10.17235/reed.2018.5118/2017.

216. Burra P, Bizzaro D, Gonta A, Shalaby S, Gambato M, Morell MC, et al.; Special Interest Group Gender in Hepatology of the Italian Association for the Study of the Liver (AISF). Clinical impact of sexual dimorphism in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and non-alcoholic steatohepatitis (NASH). *Liver Int.* 2021;41(8):1713-1733.

217. Lonardo A, Suzuki A. Sexual Dimorphism of NAFLD in Adults. Focus on Clinical Aspects and Implications for Practice and Translational Research. *J Clin Med.* 2020;9(5):1278.

218. Lonardo A, Nascimbeni F, Ballestri S, Fairweather D, Win S, Than TA, et al. Sex Differences in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: State of the Art and Identification of Research Gaps. *Hepatology.* 2019;70(4):1457-69. doi: 10.1002/hep.30626.

219. Lu FB, Hu ED, Xu LM, Chen L, Wu JL, Li H, et al. The relationship between obesity and the severity of non-alcoholic fatty liver disease: systematic review and meta-analysis. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2018;12(5):491-502. doi: 10.1080/17474124.2018.1460202.

220. Huh Y, Cho YJ, Nam GE. Recent Epidemiology and Risk Factors of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *J Obes Metab Syndr.* 2022;31(1):17-27.

221. Moran-Lev H, Cohen S, Webb M, Yerushalmy-Feler A, Amir A, Gal DL, Lubetzky R. Higher BMI predicts liver fibrosis among obese children and adolescents with NAFLD - an interventional pilot study. *BMC Pediatr.* 2021;21(1):385.

222. Wynn TA, Ramalingam TR. Mechanisms of fibrosis: therapeutic translation for fibrotic disease. *Nat Med.* 2012;18(7):1028-40.

223. Zhan S, Li N, Liu C, Mao R, Wu D, Li T, et al. Intestinal Fibrosis and Gut Microbiota: Clues From Other Organs. *Front Microbiol.* 2021;12:694967. doi: 10.3389/fmicb.2021.694967.

224. Roeb E. Non-alcoholic fatty liver diseases: current challenges and future directions. *Ann Transl Med.* 2021;9(8):726.
225. Pang Q, Zhang JY, Song SD, Qu K, Xu XS, Liu SS, Liu C. Central obesity and nonalcoholic fatty liver disease risk after adjusting for body mass index. *World J Gastroenterol.* 2015;21(5):1650-62.
226. Gao X, Fan JG; Study Group of Liver and Metabolism, Chinese Society of Endocrinology. Diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease and related metabolic disorders: consensus statement from the Study Group of Liver and Metabolism, Chinese Society of Endocrinology. *J Diabetes.* 2013;5(4):406-15. doi: 10.1111/1753-0407.12056.
227. Amir M, Yu M, He P, Srinivasan S. Hepatic Autonomic Nervous System and Neurotrophic Factors Regulate the Pathogenesis and Progression of Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *Front Med (Lausanne).* 2020;7:62.
228. Marchesini G, Avagnina S, Barantani EG, Ciccarone AM, Corica F, Dall'Aglio E, et al. Aminotransferase and gamma-glutamyltranspeptidase levels in obesity are associated with insulin resistance and the metabolic syndrome. *J Endocrinol Invest.* 2005;28(4):333-9.
229. Woodhouse CA, Patel VC, Singanayagam A, Shawcross DL. Review article: the gut microbiome as a therapeutic target in the pathogenesis and treatment of chronic liver disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2018;47(2):192-202.
230. Lau LHS, Wong SH. Microbiota, Obesity and NAFLD. *Adv Exp Med Biol.* 2018;1061:111-25.
231. Mouzaki M, Comelli EM, Arendt BM, Bonenge IJ, Fung SK, Fischer SE, et al. Intestinal microbiota in patients with non alcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2013;58:120–7.
232. Wong VW, Tse CH, Lam TT, Wong GL, Chim AM, Chu WC, et al. Molecular characterization of the fecal microbiota in patients with non alcoholic steatohepatitis—a long itudinal study. *PLoSOne.* 2013;8:e62885.

233. Magne F, Gotteland M, Gauthier L, Zazueta A, Pessoa S, Navarrete P, et al. The Firmicutes/Bacteroidetes Ratio: A Relevant Marker of Gut Dysbiosis in Obese Patients? *Nutrients*. 2020;12(5):1474.
234. Zhuang T, Li W, Yang L, Wang Z, Ding L, Zhou M. Gut Microbiota: Novel Therapeutic Target of Ginsenosides for the Treatment of Obesity and Its Complications. *Front Pharmacol*. 2021;12:731288.
235. Crommen S, Mattes A, Simon MC. Microbial Adaptation Due to Gastric Bypass Surgery: The Nutritional Impact. *Nutrients*. 2020;12(4):1199.
236. De Filippo C, Cavalieri D, Di Paola M, Ramazzotti M, Poullet JB, Massart S, et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(33):14691-6. doi: 10.1073/pnas.1005963107.
237. Castaner O, Goday A, Park YM, Lee SH, Magkos F, Shiow STE, Schröder H. The Gut Microbiome Profile in Obesity: A Systematic Review. *Int J Endocrinol*. 2018;2018:4095789.
238. Crovesy L, Masterson D, Rosado EL. Profile of the gut microbiota of adults with obesity: a systematic review. *Eur J Clin Nutr*. 2020;74(9):1251-62.
239. Angelakis E, Armougom F, Carrière F, Bachar D, Laugier R, Lagier JC, et al. A Metagenomic Investigation of the Duodenal Microbiota Reveals Links with Obesity. *PLoS One*. 2015;10(9):e0137784.
240. Turnbaugh PJ, Gordon JI. The core gut microbiome, energy balance and obesity. *J Physiol*. 2009;587(Pt 17):4153-8.
241. Vijay-Kumar M, Aitken JD, Carvalho FA, Cullender TC, Mwangi S, Srinivasan S, et al. Metabolic syndrome and altered gut microbiota in mice lacking Toll-like receptor 5. *Science*. 2010;328(5975):228-31.
242. Takezawa K, Fujita K, Matsushita M, Motooka D, Hatano K, Banno E, et al. The Firmicutes/Bacteroidetes ratio of the human gut microbiota is associated with prostate enlargement. *Prostate*. 2021;81(16):1287-93.
243. Del Chierico F, Nobili V, Vernocchi P, Russo A, De Stefanis C, Gnani D, et al. Gut microbiota profiling of pediatric nonalcoholic fatty liver disease and obese

- patients unveiled by an integrated meta-omics-based approach. *Hepatology*. 2017;65(2):451-64.
244. Ramírez-Pérez O, Cruz-Ramón V, Chinchilla-López P, Méndez-Sánchez N. The Role of the Gut Microbiota in Bile Acid Metabolism. *Ann Hepatol*. 2017;16(Suppl. 1: s3-105.):s15-s20
245. Jones BV, Begley M, Hill C, Gahan CG, Marchesi JR. Functional and comparative metagenomic analysis of bile salt hydrolase activity in the human gut microbiome. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(36):13580-5.
246. He J, Zhang P, Shen L, Niu L, Tan Y, Chen L, et al. Short-Chain Fatty Acids and Their Association with Signalling Pathways in Inflammation, Glucose and Lipid Metabolism. *Int J Mol Sci*. 2020;21(17):6356. doi: 10.3390/ijms21176356.
247. Nogal A, Valdes AM, Menni C. The role of short-chain fatty acids in the interplay between gut microbiota and diet in cardio-metabolic health. *Gut Microbes*. 2021;13(1):1-24.
248. Staley C, Weingarden AR, Khoruts A, Sadowsky MJ. Interaction of gut microbiota with bile acid metabolism and its influence on disease states. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2017;101(1):47-64.
249. Wu J, Wang K, Wang X, Pang Y, Jiang C. The role of the gut microbiome and its metabolites in metabolic diseases. *Protein Cell*. 2021;12(5):360-73.
250. Ye D, Zhang T, Lou G, Xu W, Dong F, Chen G, Liu Y. Plasma miR-17, miR-20a, miR-20b and miR-122 as potential biomarkers for diagnosis of NAFLD in type 2 diabetes mellitus patients. *Life Sci*. 2018;208:201-7.
251. Akuta N, Kawamura Y, Arase Y, Saitoh S, Fujiyama S, Sezaki H, et. al. Circulating MicroRNA-122 and Fibrosis Stage Predict Mortality of Japanese Patients With Histopathologically Confirmed NAFLD. *Hepatol Commun*. 2019;4(1):66-76. doi: 10.1002/hep4.1445.
252. Auguet T, Aragonès G, Berlanga A, Guiu-Jurado E, Martí A, Martínez S, et al. miR33a/miR33b* and miR122 as Possible Contributors to Hepatic Lipid Metabolism in Obese Women with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Int J Mol Sci*. 2016;17(10):1620. doi: 10.3390/ijms17101620.

253. Ortega FJ, Mercader JM, Catalan V, MorenoNavarrete JM, Pueyo N, Sabater M, et al. Targeting the circulating micro RNA signature of obesity. *Clin Chem*. 2013;59:781–92.
254. Wang R, Hong J, Cao Y, Shi J, Gu W, Ning G, et al. Elevated circulating microRNA-122 is associated with obesity and insulin resistance in young adults. *Eur J Endocrinol*. 2015;172(3):291-300.
255. Chai C, Rivkin M, Berkovits L, Simerzin A, Zorde-Khvaleyevsky E, Rosenberg N, et al. Metabolic Circuit Involving Free Fatty Acids, microRNA 122, and Triglyceride Synthesis in Liver and Muscle Tissues. *Gastroenterology*. 2017;153(5):1404-15.
256. Lischka J, Schanzer A, Hojreh A, Ba-Ssalamah A, de Gier C, Valent I, et al. Circulating microRNAs 34a, 122, and 192 are linked to obesity-associated inflammation and metabolic disease in pediatric patients. *Int J Obes*. 2021;45(8):1763–72. doi:10.1038/s41366-021-00842-1.
257. Sendi H, Mead I, Wan M, Mehrab-Mohseni M, Koch K, Atala A, et al. miR-122 inhibition in a human liver organoid model leads to liver inflammation, necrosis, steatofibrosis and dysregulated insulin signaling. *PLoS One*. 2018;13(7):e0200847. doi: 10.1371/journal.pone.0200847.
258. Matsuzaki J, Ochiya T. Extracellular microRNAs and oxidative stress in liver injury: a systematic mini review. *J Clin Biochem Nutr*. 2018;63:6–11.
259. Xu Y, Zhu Y, Hu S, Pan X, Bawa FC, Wang HH, et al. Hepatocyte miR-34a is a key regulator in the development and progression of non-alcoholic fatty liver disease. *Mol Metab*. 2021;51:101244. doi: 10.1016/j.molmet.2021.101244.
260. Clemente MG, Mandato C, Poeta M, Vajro P. Pediatric non-alcoholic fatty liver disease: Recent solutions, unresolved issues, and future research directions. *World J Gastroenterol*. 2016;22(36):8078-93. doi: 10.3748/wjg.v22.i36.8078.
261. Ortega FJ, Moreno-Navarrete JM, Pardo G, Sabater M, Hummel M, Ferrer A, et al. MiRNA expression profile of human subcutaneous adipose and during adipocyte differentiation. *PLoS One*. 2010;5(2):e9022.

262. Fu T, Seok S, Choi S, Huang Z, Suino-Powell K, Xu HE, et al. MicroRNA 34a inhibits beige and brown fat formation in obesity in part by suppressing adipocyte fibroblast growth factor 21 signaling and SIRT1 function. *Mol Cell Biol.* 2014;34(22):4130-42.
263. Pant K, Yadav AK, Gupta P, Islam R, Saraya A, Venugopal SK. Butyrate induces ROS-mediated apoptosis by modulating miR-22/SIRT-1 pathway in hepatic cancer cells. *Redox Biol.* 2017;12:340-9.
264. Dilda F, Gioia G, Pisani L, Restelli L, Lecchi C, Albonico F, et al. *Escherichia coli* lipopolysaccharides and *Staphylococcus aureus* enterotoxin B differentially modulate inflammatory microRNAs in bovine monocytes. *Vet J.* 2012;192(3):514-6.
265. Jia N, Lin X, Ma S, Ge S, Mu S, Yang C, et al. Amelioration of hepatic steatosis is associated with modulation of gut microbiota and suppression of hepatic miR-34a in *Gynostemma pentaphylla* (Thunb.) Makino treated mice. *Nutr Metab (Lond).* 2018;15:86.
266. Cui H, Ge J, Xie N, Banerjee S, Zhou Y, Antony VB, et al. miR-34a Inhibits Lung Fibrosis by Inducing Lung Fibroblast Senescence. *AmJ Respir Cell Mol Biol.* 2017 F;56(2):168-78.
267. Zhu L, Baker SS, Gill C, Liu W, Alkhouri R, Baker RD, Gill SR. Characterization of gut microbiomes in nonalcoholic steatohepatitis (NASH) patients: a connection between endogenous alcohol and NASH. *Hepatology.* 2013;57(2):601-9.
268. Feng Q, Chen WD, Wang YD. Gut Microbiota: An Integral Moderator in Health and Disease. *Front Microbiol.* 2018;9:151.
269. Liu S, da Cunha AP, Rezende RM, Cialic R, Wei Z, Bry L, et al. The Host Shapes the Gut Microbiota via Fecal MicroRNA. *Cell Host Microbe.* 2016;19(1):32-43.

ДОДАТКИ

ДОДАТОК А

Індекс маси тіла $\text{кг}/\text{м}^2$	Характеристика
18,5 і менше	Недостатня маса тіла
18,5–24,9	Нормальна маса тіла
25–29,9	Надмірна маса тіла
30–34,9	Ожиріння I ступеня (легке)
35–39,9	Ожиріння II ступеня (помірне)
40 і більше	Ожиріння III ступеня (важке)

ДОДАТОК Б

Опитувальник AUDIT (Alcohol Use Disorders Identification Test)

Питання	Кількість балів				
	0	1	2	3	4
1. Як часто Ви вживаєте алкогольні напої?	Ніколи	раз на місяць або рідше	2-4 рази на місяць	2-3 рази на тиждень	4 рази на тиждень чи частіше
2. Скільки порцій алкогольних напоїв Ви вживаєте за один день?	1 чи 2	3 чи 4	5 чи 6	7 чи 9	10 чи більше
3. Як часто Ви випиваєте понад 5 порцій за один раз?	Ніколи	рідше ніж раз на місяць	щомісяця	щотижнево	кожного дня чи практично щодня
4. Як часто за останній рік Ви не могли зупинитися, коли починали пити?	Ніколи	рідше ніж раз на місяць	щомісяця	щотижнево	кожного дня чи практично щодня
5. Як часто за останній рік Ви не могли зробити	Ніколи	рідше ніж раз на місяць	щомісяця	щотижнево	кожного дня чи практично

заплановану роботу через вживання алкоголю?					щодня
6. Як часто за останній рік Вам необхідно було випити зранку, щоби прийти до тями?	Ніколи	рідше ніж раз на місяць	щомісяця	щотижнево	кожного дня чи практично щодня
7. Як часто за останній рік Ви відчували провину за те, що Ви занадто багато п'єте?	Ніколи	рідше ніж раз на місяць	щомісяця	щотижнево	кожного дня чи практично щодня
8. Як часто за останній рік Ви не могли згадати, що відбувалося напередодні, через причину вживання алкоголю?	Ніколи	рідше ніж раз на місяць	щомісяця	щотижнево	кожного дня чи практично щодня
9. Чи отримували Ви чи хтось інший травми через те, що Ви вживали алкоголь?	Ні	рідше ніж раз на місяць	так, но не за останній рік	щотижнево	так, за останній рік
10. Чи пропонував Вам хто-небудь з лікарів, родичів, друзів припинити вживати алкоголь?	Ні	рідше ніж раз на місяць	так, но не за останній рік	щотижнево	так, за останній рік

Опитувальник Audit – єдиний опитувальник, який має міжнародну стандартизацію та дозволяє виявити небезпечні та шкідливі наслідки зловживання алкоголем, а також можливу залежність від алкоголю.

Опитувальник складається з 10 питань, які досліджують споживання (1–3), залежність (4–6), а також проблеми, пов'язані з алкоголем (7–10).

Результат, що дорівнює 8 балам у чоловіків і 7 балів у жінок, говорить про ймовірне зловживанні алкоголем. Рекомендації тут такі: скоротити випивку до 30 мл (жінкам) і 40 мл (чоловікам) чистого алкоголю в один прийом. Як мінімум, два дні на тиждень не вживати алкоголь. Не випивати більше, ніж 90 мл (жінкам) або 100 мл (чоловікам) чистого алкоголю в тиждень.

Результат 13 балів і вище, вказує на серйозний ризик або наявність залежності і на необхідність направлення на лікування до фахівця.

ДОДАТОК В

Інтерпретація результату вимірювання відсотку жиру в організмі

Згідно інструкції електронного пристрою Omron BF-511

Стать	Вік	– (Низький)	0 (Нормальний)	+	++ (Дуже високий)
Жінки	6	< 13,8 %	13,8–24,9 %	25,0–27,0 %	≥ 27,1 %
	7	< 14,4 %	14,4–27,0 %	27,1–29,6 %	≥ 29,7 %
	8	< 15,1 %	15,1–29,1 %	29,2–31,9 %	≥ 32,0 %
	9	< 15,8 %	15,8–30,8 %	30,9–33,8 %	≥ 33,9 %
	10	< 16,1 %	16,1–32,2 %	32,3–35,2 %	≥ 35,3 %
	11	< 16,3 %	16,3–33,1 %	33,2–36,0 %	≥ 36,1 %
	12	< 16,4 %	16,4–33,5 %	33,6–36,3 %	≥ 36,4 %
	13	< 16,4 %	16,4–33,8 %	33,9–36,5 %	≥ 36,6 %
	14	< 16,3 %	16,3–34,0 %	34,1–36,7 %	≥ 36,8 %
	15	< 16,1 %	16,1–34,2 %	34,3–36,9 %	≥ 37,0 %
	16	< 15,8 %	15,8–34,5 %	34,6–37,1 %	≥ 37,2 %
	17	< 15,4 %	15,4–34,7 %	34,8–37,3 %	≥ 37,4 %
	18–39	< 21,0 %	21,0–32,9 %	33,0–38,9 %	≥ 39,0 %
	40–59	< 23,0 %	23,0–33,9 %	34,0–39,9 %	≥ 40,0 %
	60–80	< 24,0 %	24,0–35,9 %	36,0–41,9 %	≥ 42,0 %
Чоловіки	6	< 11,8 %	11,8–21,7 %	21,8–23,7 %	≥ 23,8 %
	7	< 12,1 %	12,1–23,2 %	23,3–25,5 %	≥ 25,6 %
	8	< 12,4 %	12,4–24,8 %	24,9–27,7 %	≥ 27,8 %
	9	< 12,6 %	12,6–26,5 %	26,6–30,0 %	≥ 30,1 %
	10	< 12,8 %	12,8–27,9 %	28,0–31,8 %	≥ 31,9 %
	11	< 12,6 %	12,6–28,5 %	28,6–32,6 %	≥ 32,7 %
	12	< 12,3 %	12,3–28,2 %	28,3–32,4 %	≥ 32,5 %
	13	< 11,6 %	11,6–27,5 %	27,6–31,3 %	≥ 31,4 %
	14	< 11,1 %	11,1–26,4 %	26,5–30,0 %	≥ 30,1 %
	15	< 10,8 %	10,8–25,4 %	25,5–28,7 %	≥ 28,8 %
	16	< 10,4 %	10,4–24,7 %	24,8–27,7 %	≥ 27,8 %
	17	< 10,1 %	10,1–24,2 %	24,3–26,8 %	≥ 26,9 %
	18–39	< 8,0 %	8,0–19,9 %	20,0–24,9 %	≥ 25,0 %
	40–59	< 11,0 %	11,0–21,9 %	22,0–27,9 %	≥ 28,0 %
	60–80	< 13,0 %	13,0–24,9 %	25,0–29,9 %	≥ 30,0 %

ДОДАТОК В (продовження)

**Інтерпретація результату вимірювання відсотку
вісцерального жиру в організмі та оцінка метаболічного ризику**

Згідно інструкції електронного пристрою Omron BF-511

Рівень вісцерального жиру	Класифікація рівня
1–9	0 (Нормальний)
10–14	+ (Високий)
15–30	++ (Дуже високий)

Інтерпретація результату вимірювання скелетних м'язів

Згідно інструкції електронного пристрою Omron BF-511

Стать	Вік	– (Низький)	0 (Нормальний)	+ (Високий)	++ (Дуже високий)
Жінки	18–39	< 24,3 %	24,3–30,3 %	30,4–35,3 %	≥ 35,4 %
	40–59	< 24,1 %	24,1–30,1 %	30,2–35,1 %	≥ 35,2 %
	60–80	< 23,9 %	23,9–29,9 %	30,0–34,9 %	≥ 35,0 %
Чоловіки	18–39	< 33,3 %	33,3–39,3 %	39,4–44,0 %	≥ 44,1 %
	40–59	< 33,1 %	33,1–39,1 %	39,2–43,8 %	≥ 43,9 %
	60–80	< 32,9 %	32,9–38,9 %	39,0–43,6 %	≥ 43,7 %

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

Наукові праці, у яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Черелюк НІ. Співвідношення основних філотипів кишкової мікробіоти у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки та ожиріння. Сучасна Гастроентерологія. 2019;(5):26-33. doi:10.30978/MG-2019-5-26. *(Здобувачем розроблено дизайн дослідження, проведено обстеження хворих, створено електронну базу даних, інтерпретація та аналіз отриманих даних, написання та підготовка статті до друку).*
2. Фадєєнко ГД, Черелюк НІ, Гальчінська ВЮ. Метаболічні захворювання та неалкогольна жирова хвороба печінки-особливості стану кишкової мікробіоти. Проблеми ендокринної патології. 2020;(4):99-105. doi:10.21856/j-PER.2020.4.13 *(Здобувачем розроблено дизайн дослідження, проведено обстеження хворих, створено електронну базу даних, інтерпретація та аналіз отриманих даних, написання та підготовка статті до друку).*
3. Fadieienko GD, Chereliuk NI, Galchinskaya VY. Ratio of main phylotypes of gut microbiota in patients with non-alcoholic fatty liver disease depending on the body mass index. Wiad Lek. 2021;74(3 cz 1):523-9. PMID: 33813462. *(Здобувачем розроблено дизайн дослідження, проведено обстеження хворих, розділення їх на підгрупи, створено електронну базу даних, інтерпретація та аналіз отриманих даних, написання та підготовка статті до друку).*

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

4. Фадєєнко ГД, Черелюк НІ, Курінна ОГ. Співвідношення основних філотипів кишкової мікробіоти у хворих на НАЖХП та супутнє ожиріння. В: Матеріали науково-практичної конференції «Ювілейні терапевтичні читання. Клінічна та профілактична медицина: досвід та нові напрямки розвитку»; 2019 квіт. 11-12; Харків, Україна. Харків;

2019. с. 256. *(Здобувачем розроблено дизайн дослідження, створено електронну базу даних, написано та оформлено тези до друку).*
5. Фадєєнко ГД, Черелюк НІ, Курінна ОГ, Олійник ОВ, Радзишевська ЄБ. Зв'язок між ступенем стеатозу та фіброзу, а також показниками складу тіла у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки із супутнім ожирінням. В: Матеріали науково-практичної конференції молодих вчених за участю міжнародних спеціалістів «Досягнення профілактичної медицини як основа збереження здоров'я і благополуччя»; 2019 трав. 23; Харків, Україна. Харків; 2019. с. 60. *(Здобувачем розроблено дизайн дослідження, створено електронну базу даних, написано та оформлено тези до друку).*
 6. Fadieienco GD, Chereliuk NI, Kurinna OH, Radzishevskaya YeB. Relationship between the main phylotypes of intestinal microbiota and comorbid states in patients with nonalcoholic fatty liver disease and obesity. In: 5th Paris NASH Meeting; 2019 Jul 11-12; Paris, France. 2019:Abstract 16. *(Здобувачем розроблено дизайн дослідження, створено електронну базу даних, проведено статистичну обробку отриманих результатів, написано та оформлено тези до друку).*
 7. Fadieienco GD, Chereliuk NI, Kurinna OH. Effect of lifestyle modification on proinflammation markers in non-alcoholic fatty liver disease. In: World Congress of Gastroenterology; 2019 Sep 21 – 24; Istanbul, Turkey. Turkish J Gastroenterol. 2019;30(Suppl 3): S258. *(Здобувачем розроблено дизайн дослідження, створено електронну базу даних, проведено статистичну обробку отриманих результатів, написано та оформлено тези до друку).*
 8. Черелюк НІ, Степанова ОВ. Вплив медикаментозного лікування на клініко-антропометричні показники, біохімічні параметри та маркери системного запалення у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки. В: Програма «34-а річна наукова сесія присвячена підсумкам заключних та перехідних етапів науково-дослідних робіт в ДУ

«Національний інститут терапії ім. Л.Т. Малої НАМН України»; 2020 лют. 7; Харків, Україна. Харків; 2020. с. 2. *(Здобувачем розроблено дизайн дослідження, створено електронну базу даних, проведено статистичну обробку отриманих результатів, написано та оформлено тези до друку).*

9. Фадєєнко ГД, Черелюк НІ. Визначення рівнів експресії miR-34a та miR-122 у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки із супутнім ожирінням. В: Матеріалах міжнародної науково-практичної конференції «Вітчизняна та світова медицина в умовах сучасності»; 2020 січ. 10-11; Дніпро, Україна. Дніпро; 2020. с. 91-96. *(Здобувачем розроблено дизайн дослідження, створено електронну базу даних, проведено статистичну обробку отриманих результатів, написано та оформлено тези до друку).*
10. Фадєєнко ГД, Черелюк НІ, Гальчінська ВЮ. Стан кишкової мікробіоти у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки в залежності від коморбідного перебігу на тлі асоційованих з метаболічним синдромом захворювань. В: Матеріали наукового симпозиуму з міжнародною участю «Неінфекційні захворювання: ключові чинники, що впливають на якість та тривалість життя»; 2020 лист. 4; Харків, Україна. Харків; 2020. с.161. *(Здобувачем розроблено дизайн дослідження, створено електронну базу даних, написано та оформлено тези до друку).*
11. Chereliuk NI, Fadieienko GD, Gridnyev OE. Effect of body mass index on the ratio of the main microbiota phylotypes in patients with non-alcoholic fatty liver disease. In: 28th United European Gastroenterology Week; 2020 Octob 11-13; Virtual. UEG Journal. 2020;8(S8):S588, P0839. *(Здобувачем розроблено дизайн дослідження, створено електронну базу даних, проведено статистичну обробку отриманих результатів, написано та оформлено тези до друку).*
12. Фадєєнко ГД, Черелюк НІ, Курінна ОГ. Співвідношення основних філотипів кишкової мікробіоти у пацієнтів на неалкогольну жирову

хворобу печінки в залежності від стадії фіброзу. В: Матеріали науково-практичної конференції молодих вчених за участю міжнародних спеціалістів «Сучасна медицина очима молоді: проблеми і перспективи вирішення»; 2020 трав. 22; Харків, Україна. Харків; 2020. с. 164. *(Здобувачем розроблено дизайн дослідження, створено електронну базу даних, проведено статистичну обробку отриманих результатів, написано та оформлено тези до друку).*

13. Фадєєнко ГД, Черелюк НІ, Гальчінська ВЮ, Бондар ТМ. Взаємозв'язок показників стану мікробіоти з рівнем мікрорнк-34а та мікрорнк-122 у пацієнтів з неалкогольною жировою хворобою печінки на тлі ожиріння чи надлишкової ваги. В: Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Щорічні терапевтичні читання. Неінфекційні захворювання: профілактика та зміцнення здоров'я в Україні»; 2021 квіт. 22-23; Харків, Україна. Харків; 2021. с.155. *(Здобувачем розроблено дизайн дослідження, створено електронну базу даних, проведено статистичну обробку отриманих результатів, написано та оформлено тези до друку).*

Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:

14. Фадєєнко Г. Д., Черелюк Н. І. Співвідношення основних філотипів кишкової мікробіоти у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки на тлі ожиріння та його зв'язок зі стадією стеатозу печінки. Сучасна гастроентерологія. 2020;6(116):14-20. doi:10.30978/MG-2020-6-14. *(Здобувачем проведено оглядовий аналіз даних, інтерпретація та аналіз отриманих даних, написання та підготовка статті до друку).*
15. Фадєєнко ГД, Гриднєв АЕ, Черелюк НІ, Куринная ЕГ. Роль кишечной микробиоты в развитии неалкогольной жировой болезни печени. Сучасна Гастроентерологія. 2019;(4):92-9. doi: 10.30978/MG-2019-4-92. *(Здобувачем проведено оглядовий аналіз даних, інтерпретація та аналіз отриманих даних, написання та підготовка статті до друку).*

16. Фадєєнко ГД, Черелюк НІ, Курінна ОГ. Зв'язок неалкогольної жирової хвороби печінки з порушеннями мікробного складу кишечника. Медицина сьогодні і завтра. 2019;(1):6-22. doi: 10.35339/msz.2019.82.01.03. *(Здобувачем проведено оглядовий аналіз даних, інтерпретація та аналіз отриманих даних, написання та підготовка статті до друку).*
17. Курінна ОГ, Кушнір ІЕ, Чернова ВМ, Черелюк НІ. Вплив немедикаментозного лікування на показники вуглеводного обміну у пацієнтів з неалкогольною жировою хворобою печінки та ожирінням. Сучасна Гастроентерологія. 2018;(3):42-7. doi: 10.30978/MG-2018-3-42. *(Здобувачем розроблено дизайн дослідження, проведено обстеження хворих, створено електронну базу даних, інтерпретація та аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку).*
18. Фадєєнко ГД, Кушнір ІЕ, Чернова ВМ, Соломенцева ТА, Нікіфорова ЯВ, Курінна ОГ, Черелюк НІ, винахідники; Спосіб діагностики неалкогольного стеатогепатиту у хворих з неалкогольною жировою хворобою печінки на тлі метаболічних порушень. Патент України на корисну модель № 138380 від 25.11.2019, МПК (2006), G01N33/50 (2006.01), A61B 31/00 A61P. *(Здобувачем проведено збір матеріалу, подано заявку на корисну модель, оформлено патент).*
19. Фадєєнко ГД, Черелюк НІ, Гріднєв ОЄ, Гальчинська ВЮ, винахідники; Спосіб прогнозування розвитку неалкогольної жирової хвороби печінки на тлі ожиріння. Патент України на корисну на корисну модель №144533 від 12.10.2020, МПК (2020.01),G01N33/00Бюл.№ 19. *(Здобувачем проведено збір матеріалу, його аналіз, подано заявку на корисну модель, оформлено патент).*

ВІДОМОСТІ ПРО ПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

Основні положення доповідались та обговорювались на науково-правничних конференціях: Науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченої до 100-річчя від дня народження академіка Л.Т. Малої «Ювілейні терапевтичні читання. Клінічна та профілактична медицина: досвід та нові напрямки розвитку» (Харків, 11-12 квітня 2019), Науково-практичній конференції молодих вчених за участю міжнародних спеціалістів, присвяченої дню науки «Досягнення профілактичної медицини як основа збереження здоров'я і благополуччя» (Харків, 23 травня 2019), Paris NASH Meeting (Paris, 11-12 July 2019), 17th World Congress of Gastroenterology (Istanbul, 21-24 September, 2019), Матеріали науково практичній конференції молодих вчених за участю міжнародних спеціалістів присвяченої дню науки «Сучасна медицина очима молоді: проблеми і перспективи вирішення», присвячена Дню Науки (Харків, 22 травня 2020), UEG Week 2020. Metal. Exchange. Evolve (Amsterdam, 11-13 October 2020), Матеріали наукового симпозіуму з міжнародною участю «Неінфекційні захворювання: ключові чинники, що впливають на якість та тривалість» (Харків, 4 листопада 2020), Міжнародній науковій конференції «Вітчизняна та світова медицина в умовах сучасності» (Дніпро, 10–11 січня 2020), Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Щорічні терапевтичні читання. Неінфекційні захворювання: профілактика та зміцнення здоров'я в Україні» (Харків, 22-23 квітня 2021).

АКТИ ВПРОВАДЖЕННЯ

“Затверджую”
 керівник закладу, в якому проведено
 впровадження
 “10” червня 2021 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження

“Спосіб прогнозування розвитку неалкогольної жирової хвороби печінки на тлі супутнього ожиріння”.

2. Ким і коли запропонований

Фадєєнко Г. Д., Черелюк Н.І., Гріднєв О.Є., Гальчинська В.Ю.

ДУ «Національний Інститут терапії імені Л.Т.Малої НАМН України»

3. Джерело інформації

Патент України №144533 від 12.10.2020, бюл 19.

4. Де і коли впроваджено

Відділення гастроентерології та терапії ДУ «Національний Інститут терапії імені Л.Т.Малої НАМН України»

Загальна кількість спостережень

20

5. Результати застосування за період з

01 січня 2021 по 31 травня 2021

кількість позитивних результатів

20

кількість невизначених результатів

0

кількість негативних результатів

0

6. Ефективність впровадження

100%

Застосування нововведення підвищує ранню діагностику НАЖХП у пацієнтів із супутнім ожирінням та дозволяє своєчасно встановити діагноз та призначити адекватну терапію, що в свою чергу сприяє скороченню строків перебування в стаціонарі на 1-2 доби та позитивно впливає на скорочення витрат на охорону здоров'я.

7. Зауваження та пропозиції

немає

“10” червня 2021

Відповідальний за впровадження

А.М. Черняк
 завідувач відділенням гастроентерології та
 терапії, кмн А.М. Черняк

“Затверджую”

керівник закладу, в якому проведено
впровадження

“12” 07 2021 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження

« Спосіб прогнозування розвитку неалкогольної жирової хвороби (НАЖХП) печінки на тлі ожиріння».

2. Ким і коли запропонований

Фадєєнко Г. Д., Черелюк Н.І., Гріднєв О.Є., Гальчинська В.Ю.

ДУ «Національний Інститут терапії імені Л.Т.Малої НАМН України»

3. Джерело інформації

Патент України №144533 від 12.10.2020, бюл. 19.

4. Де і коли впроваджено

ЖЛ, Квиевська Обласна клінічна лікарня імені Юрія Верненського

Загальна кількість спостережень

5. Результати застосування за період з

14 січня 2021 року по 22 липня 2021 року

кількість позитивних результатів

37 (86,0%)

кількість невизначених результатів

3 (7%)

кількість негативних результатів

3 (7%)

6. Ефективність впровадження

Звернули запропонованим авторами рекомендаціям (у 37 (86%) хворих на НАЖХП відмічено високу ймовірність збільшення жирового гепатозу та розвитку дисліпідемії. У хворих на НАЖХП відмічено статистично значущу закономірність таких симптомів порушення обміну речовини та дисліпідемії. Висновок: висновок висновок висновок (за критерієм Крассе-де-Уолліса) $H=0,66$, $p<0,01$, $CH=4,80$, $p=0,02$

7. Зауваження та пропозиції

немає

“12” 07 2021

Відповідальний за впровадження

О.О. Крив



“Затверджую”

керівник закладу, в якому проведено
впровадження
“7” 09 2021 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження
«Спосіб прогнозування розвитку неалкогольної жирової хвороби (НАЖХП) печінки на тлі ожиріння».

2. Ким і коли запропонований
Фадєєнко Г. Д., Черелюк Н.І., Гріднєв О.Є., Гальчинська В.Ю.

3. Джерело інформації
Патент України №144533 від 12.10.2020, бюл. 19.

4. Де і коли впроваджено

Х.П.І. Голтавсько Одеська клінічна
лікарня ім.В.Скороходівського

Загальна кількість спостережень

23

5. Результати застосування за період з

21.01 2021 по 7.09 2021р.

кількість позитивних результатів

19 (82,60%)

кількість негативних результатів

4 (17,4%)

кількість негативних результатів

0

6. Ефективність впровадження

82,60%

Підвищує ефективність ранньої діагностики у пацієнтів з НАЖХП на тлі ожиріння на 32%.

7. Зауваження та пропозиції

немає

“7” 09 2021р.

Відповідальний за впровадження

“Затверджую”

керівник закладу, в якому проведено
впровадження

“21” 10 2021 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження

«Спосіб прогнозування розвитку неалкогольної жирової хвороби (НАЖХП) печінки на тлі ожиріння».

2. Ким і коли запропонований

Фадєєнко Г. Д., Черелюк Н.І., Гріднєв О.Є., Гальчинська В.Ю.

3. Джерело інформації

Патент України №144533 від 12.10.2020, бюл. 19.

4. Де і коли впроваджено

ККЛ «Хмельницька обласна клінічна лікарня»

Загальна кількість спостережень

29

5. Результати застосування за період з

10.03

2021 по 21.10 2021р.

кількість позитивних результатів

24 (82,76%)

кількість негативних результатів

3 (10,34%)

кількість негативних результатів

2 (6,7%)

6. Ефективність впровадження

82,76%

Використання нововведення сприяє покращенню обстеження хворих з НАЖХП на тлі ожиріння та підвищує ефективність ранньої діагностики у пацієнтів даної групи на 40-45%.

7. Зауваження та пропозиції

немає

“21” 10 2021р.

Відповідальний за впровадження

“Затверджую”

Тендітський директор КНПОкл Івано-Франківської
керівник закладу, в якому проведено впровадження
“10” 11 2021р. *Тричук О.І.*

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження

«Спосіб прогнозування розвитку неалкогольної жирової хвороби (НАЖХП) печінки на тлі ожиріння».

2. Ким і коли запропонований

Фадєєнко Г. Д., Черелюк Н.І., Гріднев О.Є., Гальчинська В.Ю.

3. Джерело інформації

Патент України №144533 від 12.10.2020, бюл. 19.

4. Де і коли впроваджено

КНПОкл Івано-Франківської обласної ради,
гастроентерологічне відділення

Загальна кількість спостережень

36

5. Результати застосування за період з

16.06 2021 по 10.11 2021р.

кількість позитивних результатів

30 (83,3%)

кількість негативних результатів

4 (11,1%)

кількість негативних результатів

2 (5,6%)

6. Ефективність впровадження

83,3%

Використання нововведення сприяє покращенню обстеження хворих з НАЖХП на тлі ожиріння, своєчасній діагностиці та призначенню професійних втручань.

7. Зауваження та пропозиції

немає

“10” 11 2021р.

Відповідальний за впровадження

Зав. гастроентерологічним відділенням
Романів О.П.

“Затверджую”
 керівник закладу, в якому проведено
 впровадження
 “16” 11 2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження
«Спосіб прогнозування розвитку неалкогольної жирової хвороби (НАЖХП) печінки на тлі ожиріння».

2. Ким і коли запропонований
Фадєєнко Г. Д., Черелюк Н.І., Гріднев О.Є., Гальчинська В.Ю.

3. Джерело інформації
Патент України №144533 від 12.10.2020, бюл. 19.

4. Де і коли впроваджено

КНЗ Одеська обласна клінічна лікарня

Загальна кількість спостережень 37
 5. Результати застосування за період з 19.05 2021 по 16.11 2021р.

кількість позитивних результатів	34 (91,89%)
кількість невизначених результатів	3 (8,11%)
кількість негативних результатів	0

6. Ефективність впровадження 91,89%
Завдяки запропонованим авторами рекомендаціям підвищується ефективність діагностика НАЖХП на 45-50% та скорочується перебування у стаціонарі на 1-2 добу.

7. Зауваження та пропозиції немає

“16” 11 2021р.

Відповідальний за впровадження

Зав. відділенням ендокринології/гастроентерології Федоренко О.В.