Національна академія медичних наук України
ДУ «Національний інститут терапії
ім. Л.Т. Малої НАМН України»

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

Претендент на премію Президента України – молодший науковий співробітник відділу вивчення захворювань органів травлення та їх коморбідності з неінфекційними захворюваннями
Черелюк Наталія Ігорівна

Актуальність

- ✓ **Зростання захворюваності на неалкогольну жирову хворобу печінки (НАЖХП) у всьому світі, та в Україні зокрема, що спостерігається на тлі стійкої тенденції до збільшення поширеності серед населення надлишкової маси тіла та вісцерального ожиріння. (Фадєєнко Г.Д. та ін., 2021).**

- ✓ **Несприятлива епідеміологічна ситуація також обумовлює значне зростання кількості ускладнень, пов'язаних з НАЖХП, таких як печінкова недостатність, гепатоцелюлярна карцинома, та збільшення частоти госпіталізації пацієнтів даної групи й необхідності в проведенні трансплантації печінки. (Wong RJ et al.,2018, Williams R. Et al., 2019).**

- ✓ **Головним невирішеним питанням при веденні хворих на НАЖХП є діагностика фіброзу на ранніх стадіях, тому що саме стадія фіброзу є найважливішим фактором, який корелює зі смертністю у даної групи хворих (Younossi Z., et al., 2019, Loomba R et al.2020).**

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, метаболічні особливості у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги.
2. Проаналізувати особливості змін 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 та мікроРНК-34а, вчСРП та ФНП-альфа у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги та визначити їх діагностичну доцільність використання.
5. Розробити алгоритм ранньої діагностики фіброзу у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги.

Методи дослідження

Клініко-анамнестичне обстеження

Лабораторно-інструментальні методи:

Біохімічні:

- ✓ ліпідний спектр – загальний холестерин та його фракції;
- ✓ вуглеводний спектр – глікемія натще, інсулін, індекс HOMA;
- ✓ 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 скануючи система Soneus P7);
- ✓ визначення складу тіла за допомогою біоімпедансометрії (OMRON BF 511).

Молекулярно-генетичний метод:

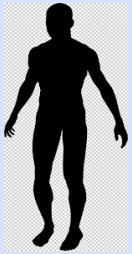
- ✓ зворотна транскрипція та полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) в режимі реального часу (qRT-PCR) зі застосуванням специфічних праймерів та зондів (визначення мікроРНК-122 та 34а);
- ✓ визначення складу КМ на рівні основних філотипів шляхом ідентифікації загальної бактеріальної ДНК і ДНК Bacteroidetes,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

Статистичні методи обробки результатів:

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

Схема дослідження
n=140

Група дослідження
n=140



Група пацієнтів на НАЖХП
n=120

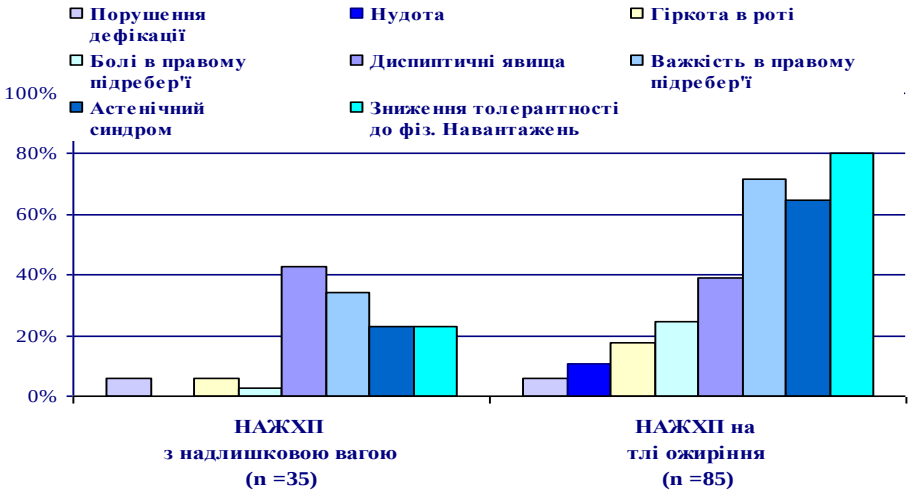
Група контролю
ІМТ 23,50 [21,35; 25,78] кг/м²
n=20

Підгрупа пацієнтів на НАЖХП та коморбідне ОЖ
ІМТ 36,50 [32,00; 40,60] кг/м²
n=85

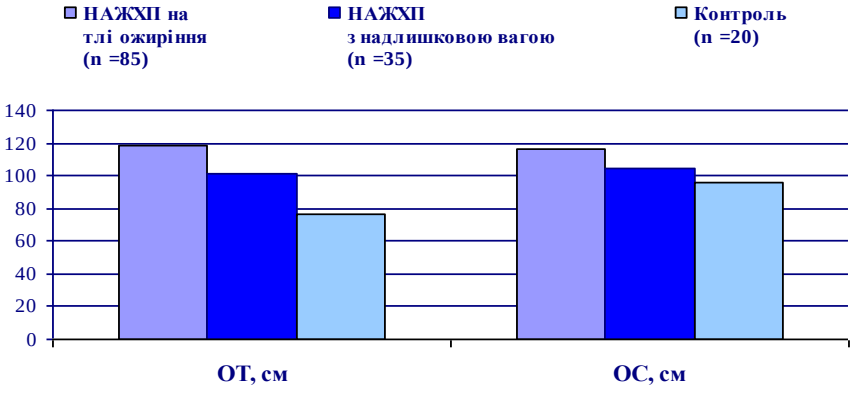
Підгрупа пацієнтів на НАЖХП та надлишкову вагу
ІМТ 28,00 [27,10; 29,35] кг/м²
n=35

Клінічний перебіг, антропометричні, метаболічні особливості у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги

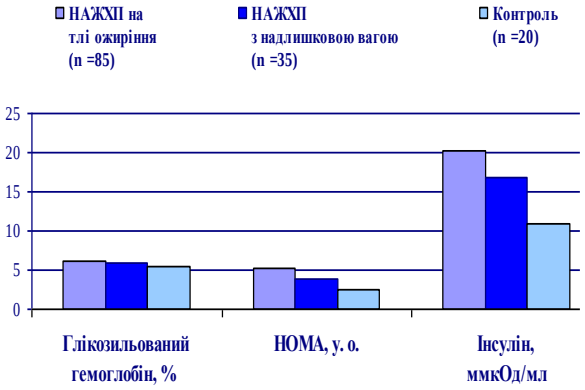
Клінічний перебіг



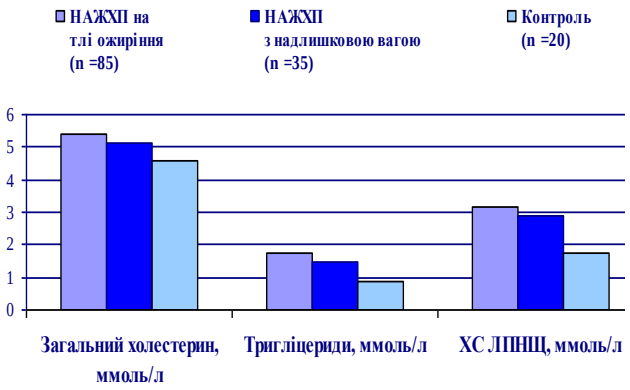
Антропометричні показники



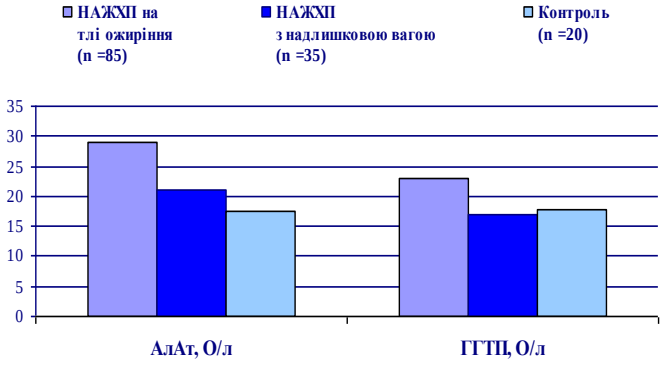
Глікімічні показники



Ліпідний обмін

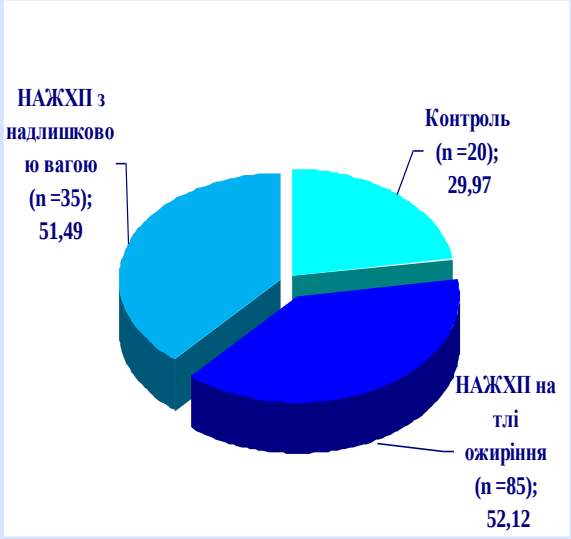


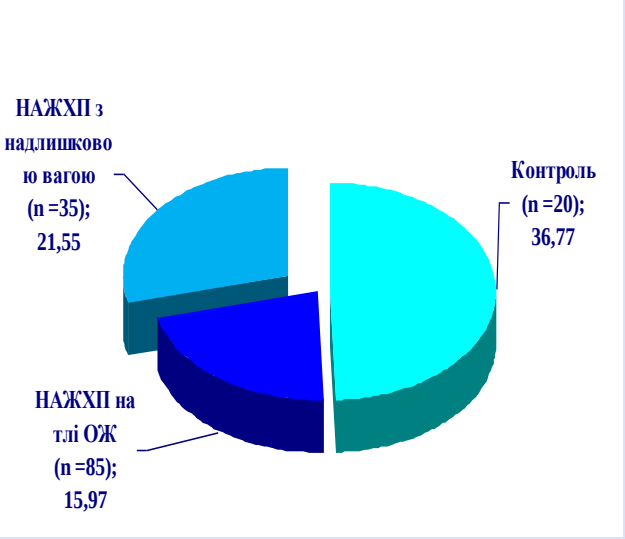
Цитолітичні показники

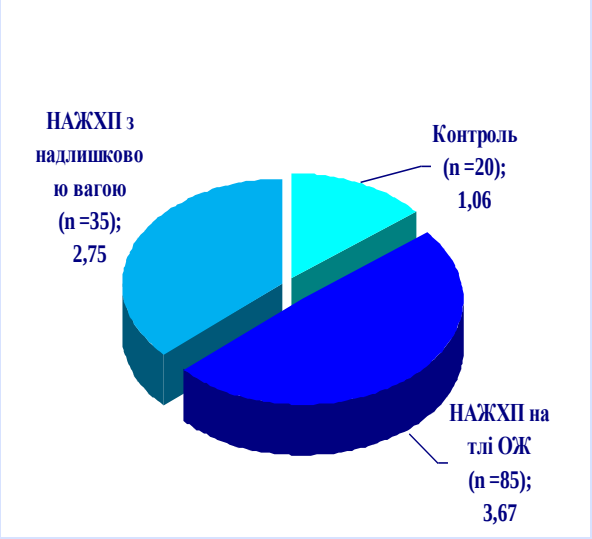


Відносний вміст *Firmicutes*, *Bacteroidetes* та їх співвідношення у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки на тлі ожиріння та надлишкової ваги

Відносний вміст *Firmicutes* у калі хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги та у контрольній групі	Відносний вміст *Bacteroidetes* у калі хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги та у контрольній групі	Співвідношення Firmicutes/Bacteroidetes у калі хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги та у контрольній групі

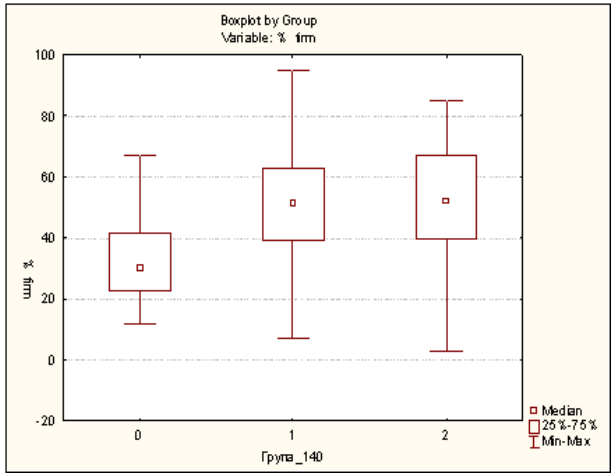




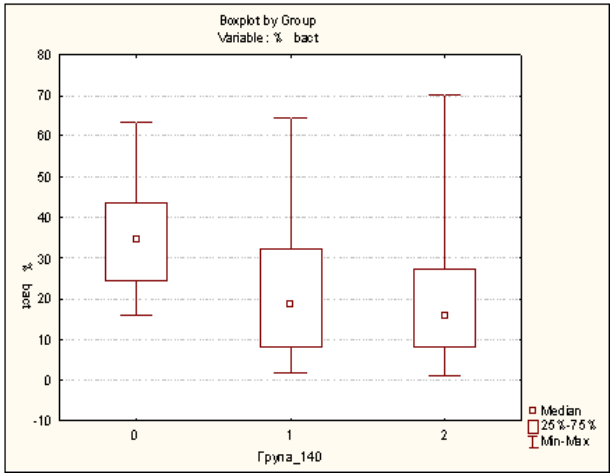


Залежність відносного вмісту основних філотипів КМ та їх співвідношення у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги

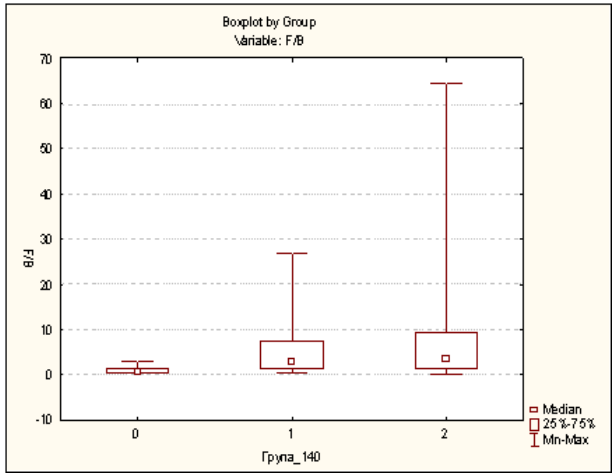
Залежність відносного вмісту Firmicutes від індексу маси тіла: (0)- група контролю, (1)- II підгрупа, (2)- I підгрупа, *firm% – Firmicutes*



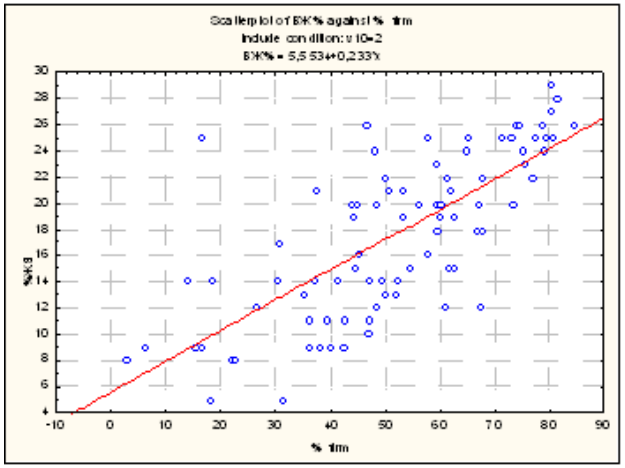
Залежність відносного вмісту Bacteroidetes від індексу маси тіла: 0)- група контролю, (1)- II підгрупа, (2)- I підгрупа, *bact%* – Bacteroidetes

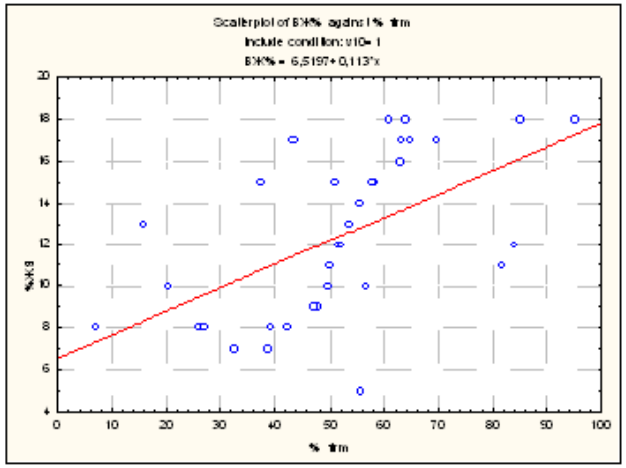


Залежність співвідношення Firmicutes/Bacteroidetes від індексу маси тіла: (0)- група контролю, (1)- II підгрупа, (2)- I підгрупа, *F/B* – співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes*

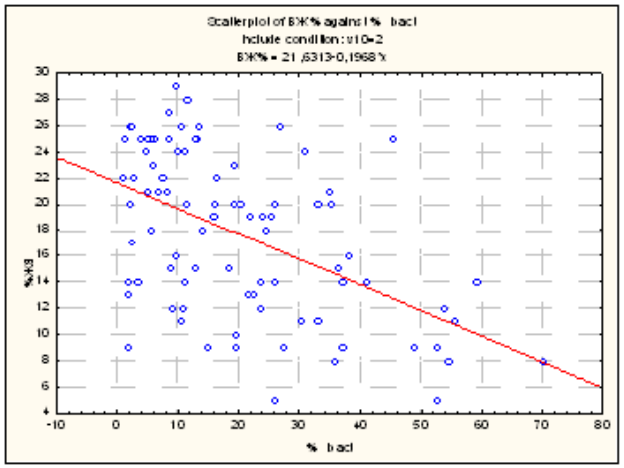


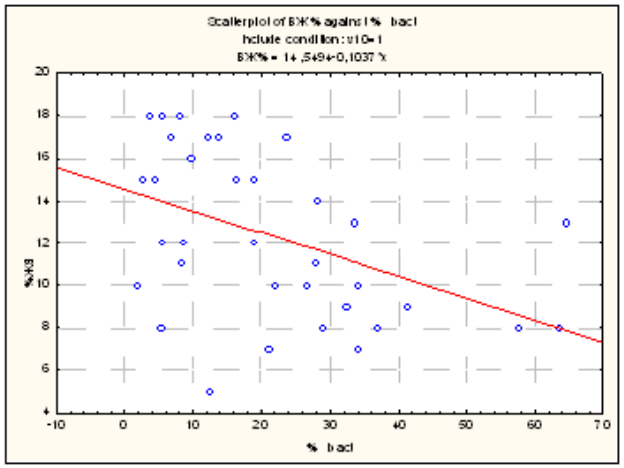
Взаємозв'язок відносного вмісту *Firmicutes* від ВЖ у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння (зліва) та у хворих на НАЖХП та надлишкову вагу (справа):
ВЖ%-вісцеральний жир, *firm%* – *Firmicutes*





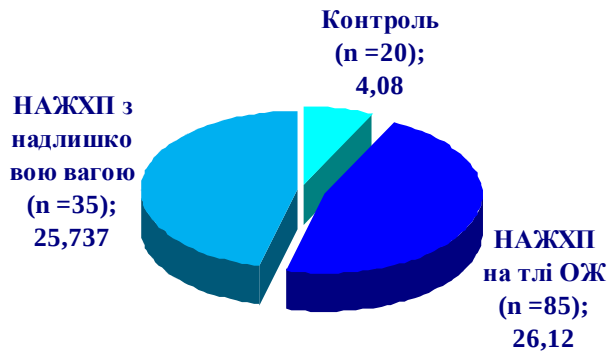
Взаємозв'язок відносного вмісту *Bacteroidetes* від ВЖ у хворих на НАЖХП та ожиріння (зліва) та у хворих на НАЖХП та надлишкову вагу (справа):
ВЖ%-вісцеральний жир, *bact%* – *Bacteroidetes*



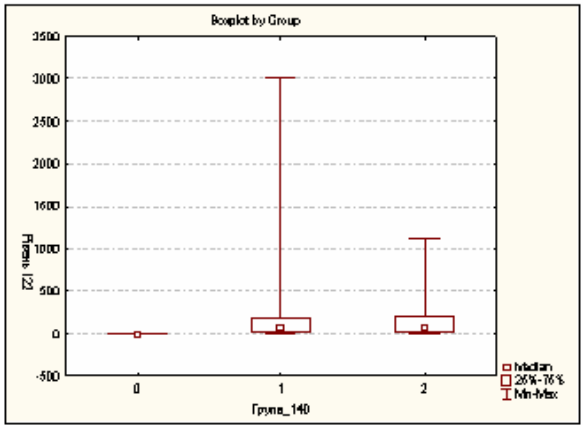


Рівень МікроРНК-122 та МікроРНК -34а у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги

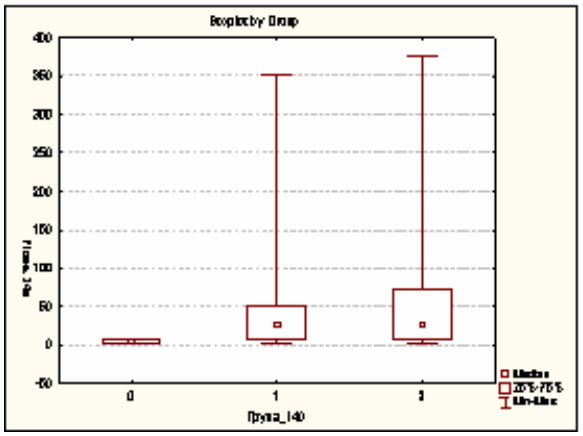
Рівень мікроРНК -122 у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишковою ваги та у контрольній групі



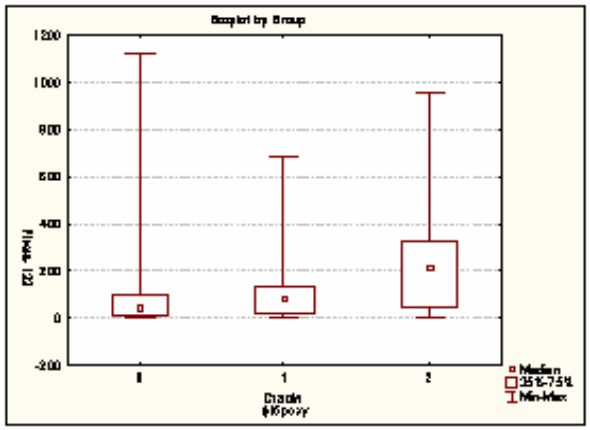
Вміст мікроРНК-34а у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги та у контрольній групі.



Залежність вмісту мікроРНК -122 від індексу маси тіла: (0)- група контролю, (1)- II підгрупа, (2)- I підгрупа

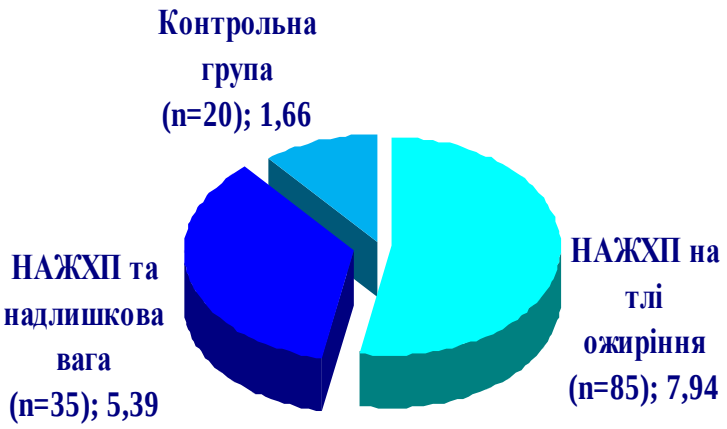


Залежність вмісту мікроРНК-34а від індексу маси тіла: (0)- група контролю, (1)- II підгрупа, (2)- I підгрупа

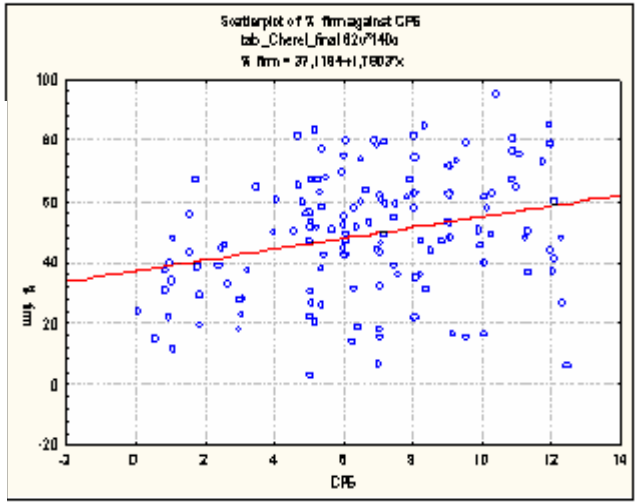


Залежність вмісту мікроРНК -122 від стадії фіброзу у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння: (0)- група контролю, (1)- II підгрупа, (2)- I підгрупа

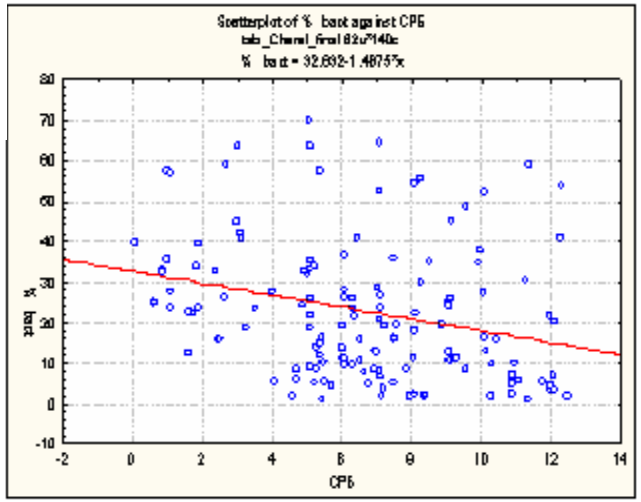
Рівень вчСРП у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишковою ваги та



Рівень вчСРП у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишковою ваги та у контрольній групі

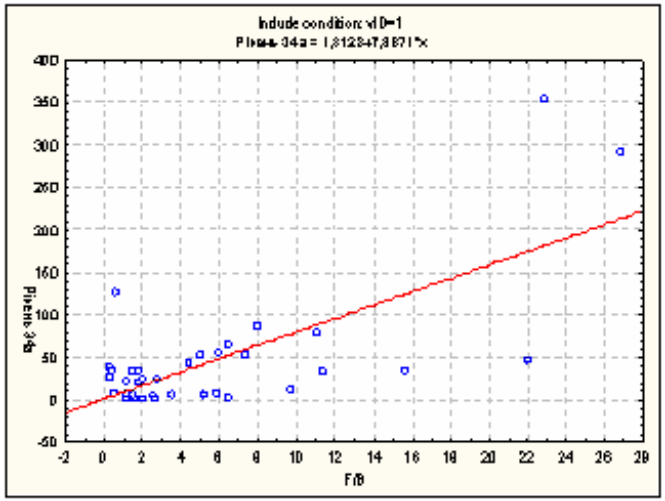


Взаємозв'язок відносного вмісту *Firmicutes* (%) у хворих на НАЖХП від концентрації вчСРП: вчСРП- високочутливий С-реактивний протеїн, *firm – Firmicutes*, %

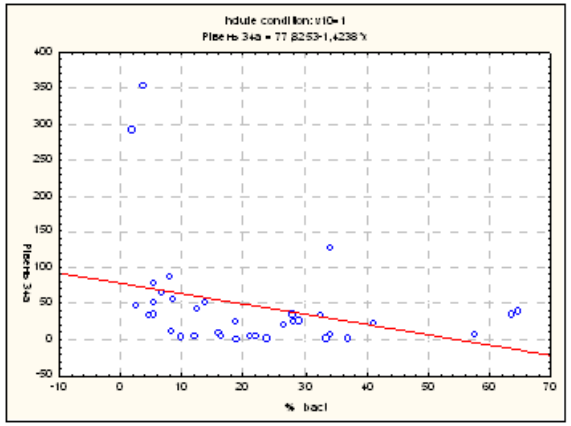


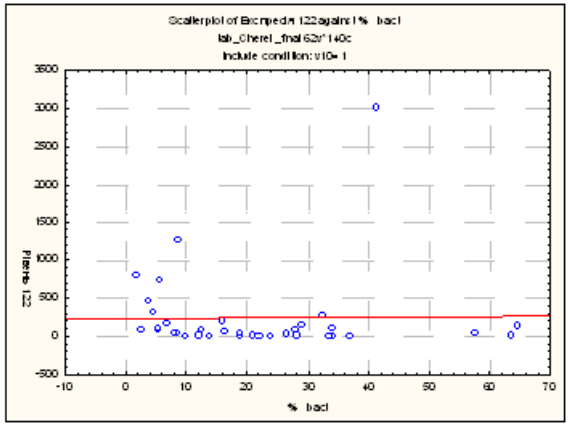
Взаємозв'язок відносного вмісту *Bacteroidetes* (%) у хворих на НАЖХП від концентрації вчСРП: вчСРП- високочутливий С-реактивний протеїн, *bact – Bacteroidetes*, %

Взаємозв’язок співвідношення основних філотипів *з* рівнем мікроРНК – 122 та мікро РНК-34а

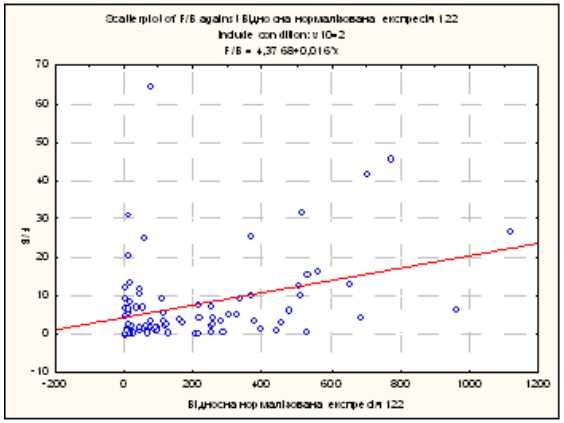


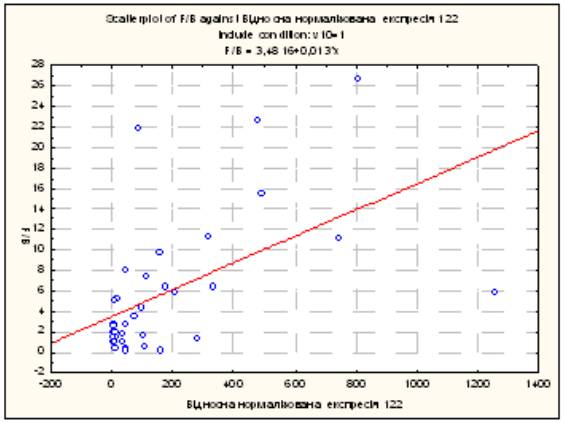
Взаємозв’язок співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes* у хворих на НАЖХП та надлишкову вагу від рівня мікроРНК –34а: *F/B* – співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes*





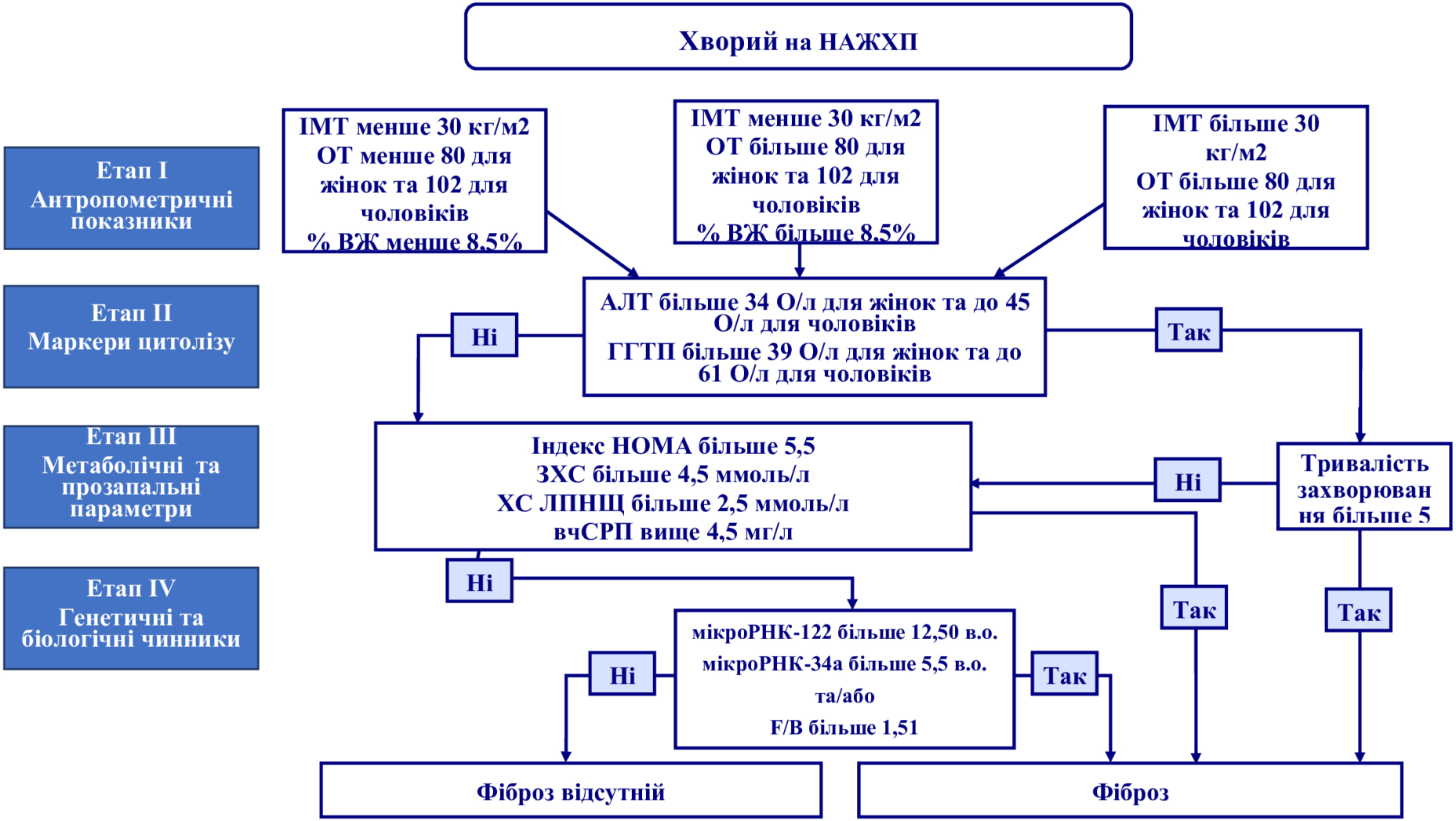
Взаємозв’язок відносного вмісту Bacteroidetes у хворих на НАЖХП та надлишкову вагу від рівня мікроРНК – 34а (зліва), мікроРНК - 122 (справа): *bact – Bacteroidetes,%*





Взаємозв’язок співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes* у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння (зліва) та надлишкову вагу від рівня мікроРНК - 122: *F/B* – співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes*

Алгоритм ранньої діагностики розвитку фіброзу у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги



Висновки

1. У хворих на НАЖХП на тлі ожиріння найбільш частими клінічними проявами є зниження толерантності до фізичних навантажень, важкість у правому підребер'ї та астенічний синдром, в II підгрупі також превалювали вищеперераховані скарги, але частота скарг була меншою. У хворих як I, так і II підгруп було виявлено підвищення антропометричних параметрів, порушення вуглеводного та ліпідного обмінів з формуванням інсулінорезистентності та дисліпідемії, відхилення функціонального стану печінки, проте інтенсивність яких була менш вираженою у підгрупі II.
2. При дослідженні відносного складу КМ виявлено статистично значуще підвищення відносного вмісту Firmicutes в досліджуваних підгрупах, яке мало прямо пропорційну залежність від ІМТ. Відносний вміст Firmicutes позитивно корелював з % ВЖ у хворих як I так і II підгрупи та негативно з % СкМ у хворих II підгрупи. Також виявлено достовірне зниження відносного вмісту Bacteroidetes: даний показник був найменшим у I підгрупі та мав зворотній опосередкований зв'язок з ІМТ. Відносний вміст Bacteroidetes мав негативний кореляційний зв'язок з % ВЖ як у хворих як I, так і II підгрупи. Виявлено статистично значуще підвищення співвідношення Firmicutes/Bacteroidetes у досліджуваних підгрупах, прямо пропорційна залежність та кореляція з % ВЖ У хворих II підгрупи.

Висновки

3. Найбільший рівень концентрації вчСРП спостерігався у хворих І підгрупи, у хворих ІІ підгрупі даний показник був дещо нижчим але обидва показники достовірно перевищували групу контролю. При визначенні концентрації ФНП-альфа не було виявлено статистично значущої різниці, а ні підгруп з групою контролю, а ні між підгрупами. Не виявлено залежності між відносним складом КМ та активністю запалення у хворих І та ІІ підгрупи. Але при аналізі відносного складу КМ у пацієнтів на НАЖХП (n=120) без розподілу на підгрупи виявлена слабка пряма кореляційна залежність між вмістом Firmicutes та прозапальними маркерами (вчСРП та ФНП-альфа) і зворотна кореляційна залежність вчСРП з відносним вмістом Bacteroidetes.
4. При проведенні кореляційного аналізу між співвідношенням основних філотипів КМ з рівнями мікроРНК для хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги було виявлено залежність рівня мікроРНК – 122 та мікроРНК – 34а від зміни відносного складу КМ, а саме для хворих як І так і ІІ підгрупи виявлено позитивну кореляцію співвідношення Firmicutes/Bacteroidetes та мікроРНК – 122, зворотній кореляційний взаємозв’язок відносного вмісту Bacteroidetes з рівнем мікроРНК – 34а, мікроРНК - 122 в плазмі крові хворих на НАЖХП та надлишкову вагу, прямий взаємозв’язок між співвідношенням Firmicutes/Bacteroidetes та рівнем мікроРНК –34а у пацієнтів ІІ підгрупи та сильну позитивну кореляцію між рівнем мікроРНК – 34а та рівнем мікроРНК – 122 у хворих І підгрупи.
5. На підставі отриманих даних створено алгоритм ранньої діагностики фіброзу у хворих на НАЖХП на тлі ожиріння та надлишкової ваги що дозволить стратифікувати хворих до групи, що потребують поглибленого обстеження та інтенсивного лікування.

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 сироватці 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.