

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ О. О. БОГОМОЛЬЦЯ

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

ПАВЛОВСЬКИЙ ЛЕОНІД ЛЕОНІДОВИЧ

УДК 616.12-008.331.1:616.36-003.826]-07:577.112.6

ДИСЕРТАЦІЯ

**ОПТИМІЗАЦІЯ ДІАГНОСТИКИ ТА ЛІКУВАННЯ У ПАЦІЄНТІВ З
НЕАЛКОГОЛЬНОЮ ЖИРОВОЮ ХВОРОБОЮ ПЕЧІНКИ В ПОЄДНАННІ З
ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2-ГО ТИПУ ЗАЛЕЖНО ВІД РІВНЯ ЦЕРАМІДІВ**

Галузь знань 22 - «Охорона здоров'я»

Спеціалізація 222 – «Медицина»

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.

_____ Л. Л. Павловський

Науковий керівник - Шипулін Вадим Петрович, доктор медичних наук, професор

Київ 2021

АНОТАЦІЯ

Павловський Л. Л. Оптимізація діагностики та лікування у пацієнтів з неалкогольною жировою хворобою печінки в поєднанні з цукровим діабетом 2-го типу залежно від рівня церамідів. - Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії PhD в галузі знань 22 «Охорона здоров'я», за спеціальністю 222 «Медицина» – Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, МОЗ України, Київ, 2021 р.

Мета дослідження - удосконалити лікування хворих з неалкогольною жировою хворобою печінки в поєднанні з цукровим діабетом 2-го типу на підставі визначення рівня церамідів у плазмі крові.

Для досягнення мети було обстежено 102 пацієнта з неалкогольною жировою хворобою печінки (НАЖХП), які були розподілені на три групи. До першої групи входили пацієнти з цукровим діабетом 2-го типу (ЦД 2-го типу) (51 пацієнт), до другої - пацієнти без ЦД 2-го типу та з індексом НОМА від 2,5 до 5,0 (51 пацієнт). У ході роботи із двох вищенаведених груп було утворено додаткову третю групу пацієнтів, які мали явища дисліпідемії (20 пацієнтів). Середній вік пацієнтів першої та другої груп – $54,3 \pm 7,2$ років, вік пацієнтів третьої групи становив $64,9 \pm 1,4$ років. У першій групі співвідношення чоловіків і жінок було 52,9 % (27) та 47,1 % (24), у другій групі 54,9 % (28) та 45,1 % (23), у групі пацієнтів з дисліпідемією 60 % (12) та 40 % (8) відповідно. До контрольної групи увійшли 20 практично здорових осіб – 55 % (11) чоловіків та 45 % (9) жінок.

Дизайн даного дослідження був схвалений комісією з питань біоетичної експертизи та етики наукових досліджень при Національному медичному університеті імені О. О. Богомольця № 116 від 29.11.2018 р.

Обсяг досліджень здійснювався згідно з метою роботи та включав збір анамнезу, фізикальне та антропометричне обстеження (вимірювання зросту, маси тіла, обчислення ІМТ, співвідношення ОТ/ОС). Крім того, визначався біохімічний аналіз крові (аланінамінотрансфераза (АЛТ) та аспартатамінотрансфераза (АСТ), білірубін, лужна фосфатаза (ЛФ), гаммаглутамілтранспептидази (ГГТП)), ліпідний профіль,

рівень глюкози плазми крові, індексу НОМА та глікованого гемоглобіну (HbA1c). За допомогою рідинної хроматографії з мас-спектрометрією було визначено фракції керамідів C16:0, C18:0, C24:0, C24:1 та їхні співвідношення C16:0/C24:0, C18:0/C24:0, C24:1/C24:0, C18:0/C16:0. Для оцінки стеатозу, активності неалкогольного стеатогепатиту (НАСГ) та фібротичних змін печінки проводились інструментальні дослідження (УЗД: стеатометрія, еластометрія).

Діагнози НАЖХП та ожиріння були підтверджені згідно з Наказом Міністерства охорони здоров'я України № 826 від 06.11.2014 р. «Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги: неалкогольний стеатогепатит» та критеріїв European Association for the Study of the Liver (EASL) і European Association for the Study of Obesity (EASO), 2016 р. Діагноз ЦД 2-го типу був підтверджений згідно з Наказом Міністерства охорони здоров'я № 1118 від 21.12.2012 р. «Уніфікований клінічний протокол первинної та вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги: цукровий діабет 2-й тип» та критеріїв European Association for the Study of Diabetes (EASD), American Diabetes Association (ADA), 2019 р.

Пацієнти були обстежені на початку дослідження, а також у динаміці через 3 та 6 місяців. Пацієнтам, які входили до першої групи (НАЖХП і ЦД 2-го типу), в якості лікування було запропоновано модифікацію способу життя (зменшення маси тіла, фізичні навантаження, зміна раціону харчування) та прийом препарату групи бігуанідів – метформіна в дозі 500 мг 2 рази на добу. Лікування пацієнтів другої групи (НАЖХП без ЦД 2-го типу) полягало лише в зміні способу життя. Також з обох груп були відібрані пацієнти, які мали лабораторні ознаки дисліпідемії. Крім зміни способу життя та прийому метформіну в дозі 500 мг 2 рази на добу, їм був рекомендований прийом статинів, а саме розувастатину в дозі 10 мг на добу.

Через 3 та 6 місяців пацієнтам був проведений лабораторний скринінг основних біохімічних показників крові з визначенням фракцій керамідів та їхніх співвідношень.

Отримані результати свідчать про роль керамідів та співвідношення їх в якості маркерів ступеня важкості та ефективності лікування пацієнтів з НАЖХП у поєднанні з ІР та ЦД 2-го типу. Під час аналізу даних було виявлено, що базальна концентрація

церамідів C16:0, C18:0, C24:1 у пацієнтів основної групи була вища, ніж у контрольній групі ($p < 0,001$). Концентрація церамідів C24:0 була нижча в основній групі при порівнянні з контрольною ($p < 0,001$). У результаті порівняння фракцій церамідів у пацієнтів з НАЖХП виявлено, що рівень церамідів C16:0, C18:0, C24:1 був достовірно збільшений в пацієнтів з ЦД 2-го типу ($p < 0,001$). У той же час цераміди C24:0 були достовірно підвищені у пацієнтів з НАЖХП без ЦД 2-го типу ($p < 0,001$). Аналіз співвідношень церамідів C16:0/C24:0, C18:0/C24:0, C24:1/C24:0, C18:0/C16:0 продемонстрував достовірне збільшення їх у пацієнтів першої групи ($p < 0,001$).

У ході дослідження було виявлено кореляційні зв'язки між церамідами C16:0, C18:0, C24:0, C24:1 з різними лабораторними та інструментальними показниками. Зокрема, при оцінці кореляції в пацієнтів першої групи було виявлено середній кореляційний зв'язок між церамідами C16:0 та C18:0 з ІМТ, $r = 0,474$, $r = 0,286$ відповідно ($p < 0,05$). Між C18:0 також спостерігався слабкий зв'язок з HbA1c, $r = 0,295$ та загальним білірубіном, $r = 0,283$ ($p < 0,05$). Крім того, фракція C18:0 мала прямий кореляційний зв'язок із стеатометрією, $r = 0,334$, ЛФ, $r = 0,468$ та зворотній з ЛПВГ, $r = -0,300$ ($p < 0,05$). Прямий середній зв'язок спостерігався між фракцією C24:1 з церамідами C18:0, $r = 0,474$, індексом НОМА, $r = 0,337$, активністю АЛТ, $r = 0,336$ та зворотній з АСТ, $r = -0,389$ ($p < 0,05$). Також у ході дослідження між церамідами C24:1 спостерігалася сильна пряма кореляція з HbA1c, $r = 0,592$, стеатометрією, $r = 0,615$, ЛПНГ, $r = 0,603$ ($p < 0,05$).

У той же час у пацієнтів другої групи було виявлено, що фракція церамідів C16:0 мала слабкий кореляційний зв'язок із фракцією церамідів C24:0, $r = 0,285$ ($p < 0,05$). Середній зв'язок було виявлено між фракцією C18:0 з результатами еластометрії, $r = 0,331$, стеатометрії, $r = 0,309$ та рівнем загального холестерину (ЗХ), $r = 0,303$ ($p < 0,05$). Було виявлено слабкий прямий зв'язок між церамідами C24:0 з фракцією C16:0, $r = 0,285$ і ЛПНГ, $r = 0,280$ ($p < 0,05$) та зворотній з HbA1c, $r = -0,294$ ($p < 0,05$). Крім того, фракція C24:1 продемонструвала зворотній кореляційний зв'язок з результатами еластометрії, $r = -0,374$, ЛПДНГ, $r = -0,352$ та активністю АСТ, $r = -0,287$ ($p < 0,05$).

У результаті дослідження в пацієнтів першої та другої груп також було виявлено кореляційні зв'язки зі співвідношеннями керамідів C16:0/C24:0, C18:0/C24:0, C24:1/C24:0, C18:0/C16:0. Так, у пацієнтів з НАЖХП і ЦД 2-го типу при дослідженні кореляційних зв'язків було виявлено, що співвідношення C16:0/C24:0 мало слабкий прямий зв'язок з фракцією C24:0, $r = 0,284$ та зворотній з ЗХ, $r = -0,343$ ($p < 0,05$). Співвідношення C18:0/24:0 слабо корелювало з C18:0, $r = 0,293$, активністю АСТ, $r = 0,283$ та помірно корелювало з ІМТ, $r = 0,304$ ($p < 0,05$). Також у ході порівняння було з'ясовано, що співвідношення керамідів C24:1/24:0 мало слабкий кореляційний зв'язок з C24:1, $r = 0,295$, HbA1c, $r = 0,284$, ТГ, $r = 0,292$, середній зв'язок з стеатометрією, $r = 0,483$, КА, $r = 0,402$, ЛПНГ, $r = 0,371$ і ЗХ, $r = 0,350$ та зворотній зв'язок з еластометрією, $r = -0,330$ та ЛФ, $r = -0,312$ ($p < 0,05$). У свою чергу співвідношення C18:0/C16:0 помірно корелювало з керамідами C18:0, $r = 0,304$, C24:0, $r = 0,310$, C24:1, $r = 0,623$ та співвідношенням C24:1/24:0, $r = 0,349$ ($p < 0,05$). Крім того, співвідношення C18:0/C16:0 мало прямий середній кореляційний зв'язок з ІМТ, $r = 0,349$, ТГ, $r = 0,357$ та сильний зв'язок з HbA1c, $r = 0,507$, індексом НОМА, $r = 0,507$, ЛПНГ, $r = 0,636$, стеатометрією, $r = 0,801$ ($p < 0,05$).

У пацієнтів другої групи було отримано такі результати: співвідношення C18:0/24:0 помірно корелювало з фракцією C24:0, $r = 0,302$ та слабо з АЛТ, $r = 0,279$ ($p < 0,05$). Співвідношення C24:1/24:0 проявляло слабкий зв'язок з ЛПНГ, $r = 0,298$, середній прямий кореляційний зв'язок з еластометрією, $r = 0,434$, стеатометрією, $r = 0,586$ і ТГ, $r = 0,394$ та зворотній зв'язок з ГГТП, $r = -0,351$ ($p < 0,05$), співвідношення C18:0/C16:0 корелювало з HbA1c, $r = 0,333$ ($p < 0,05$).

Результати кореляційного аналізу показали, що в пацієнтів основної групи виявлено зв'язки між керамідами та співвідношеннями їх з основними біохімічними показниками (АЛТ, АСТ), параметрами ліпідограми, показниками вуглеводного обміну, стеатометрією та еластометрією. Дані результати свідчать про патогенетичний зв'язок між керамідами та НАЖХП, ІР і ЦД 2-го типу.

За оцінкою біохімічних показників крові виявлено, що пацієнти першої групи мали більш виражений цитолітичний синдром із достовірним підвищенням активності АЛТ та АСТ у порівнянні з пацієнтами другої групи ($p < 0,001$). Також

пацієнти першої групи в порівнянні з пацієнтами другої групи мали достовірне підвищення показників ліпідограми, а саме: ЗХ $7,2 \pm 0,5$ проти $5,5 \pm 0,2$ ммоль/л, ЛПНГ $3,0 \pm 0,5$ проти $2,4 \pm 0,5$ ммоль/л, ТГ $2,6 \pm 0,2$ проти $1,7 \pm 0,2$ ммоль/л та КА $3,9 \pm 0,4$ проти $3,2 \pm 0,2$ у пацієнтів другої групи ($p < 0,001$). У той же час антиатерогенна фракція холестерину - ЛПВГ у пацієнтів першої групи була достовірна знижена $0,7$ (95 % ДІ $0,6 - 0,7$) проти $0,8$ (95 % ДІ $0,7 - 0,9$) ммоль/л у пацієнтів другої групи ($p < 0,001$).

При порівнянні параметрів вуглеводного обміну спостерігалися достовірні відмінності у групі пацієнтів з НАЖХП і ЦД 2-го типу в показниках глюкози крові $8,5 \pm 0,7$ проти $5,4 \pm 0,2$ ммоль/л, індексу НОМА $4,1$ (95 % ДІ $4,0 - 4,3$) проти $3,3$ (95 % ДІ $3,1 - 3,7$) та в HbA1c $7,0 \pm 0,3$ проти $5,3 \pm 0,2$ у пацієнтів без ЦД 2-го типу ($p < 0,001$).

При порівнянні результатів стеатометрії було виявлено, що в пацієнтів з НАЖХП і ЦД 2-го типу коефіцієнт затухання (КЗ) становив $2,6$ (95 % ДІ $2,59 - 2,66$) проти $2,4$ (95 % ДІ $2,38 - 2,42$) дБ/см у пацієнтів з НАЖХП без ЦД 2-го типу ($p < 0,001$). Результати стеатометрії свідчили про наявність помірного стеатозу (S2) в обох групах. Також було виявлено достовірні відмінності в пацієнтів першої групи в результатах еластометрії. Так, коефіцієнт жорсткості в них становив $7,6 \pm 0,3$ проти $7,0 \pm 0,4$ кПа у пацієнтів без ЦД 2-го типу ($p < 0,001$). Дані еластометрії засвідчили про слабкий ступінь фіброзу (F1) в обох групах.

На фоні проведеного лікування через 3 місяці в основній групі відзначалася позитивна динаміка в зміні рівнів церамідів. Зокрема, було виявлено достовірне зниження фракцій C16:0, C18:0, C24:1 у трьох групах ($p < 0,01$). Проте зниження рівня церамідів C18:0 у пацієнтів третьої групи (з дисліпідемією) при порівнянні з пацієнтами другої групи було статистично незначущим ($p > 0,05$). Також у результаті лікування у трьох групах спостерігалось достовірне підвищення концентрації церамідів C24:0 ($p < 0,01$).

У результаті аналізу співвідношень церамідів після тримісячного лікування було виявлено, що співвідношення C16:0/24:0 достовірно зменшилося у трьох групах, найбільше у пацієнтів, які приймали метформін ($p < 0,01$). Також у трьох групах після

лікування зменшилося співвідношення керамідів С18:0/24:0, особливо в пацієнтів з НАЖХП і ЦД 2-го типу ($p < 0,01$). Позитивна динаміка у трьох групах спостерігалася у вигляді зниження співвідношення керамідів С24:1/24:0 з перевагою у групі пацієнтів, які приймали метформін ($p < 0,01$). Крім того, на фоні лікування у групах пацієнтів з НАЖХП і ЦД 2-го типу та без ЦД 2-го типу спостерігалось суттєве зменшення співвідношення С18:0/С16:0 ($p < 0,01$). Покращення результатів у трьох групах пов'язане перш за все зі зниженням концентрації керамідів С16:0, С18:0, С24:1 та збільшенням фракції С24:0. Варто також зазначити, що співвідношення С18:0/С16:0, яке за даними літературних джерел пов'язане з ризиком розвитку ЦД 2-го типу, зменшилось на фоні специфічного лікування ЦД 2-го типу. Даний результат, а також позитивна кореляція керамідів С18:0, С16:0 та співвідношення С18:0/С16:0 з показниками вуглеводного обміну свідчать про можливу їхню роль у розвитку ІР та ЦД 2-го типу.

У результаті тримісячного лікування відзначалося покращення біохімічних показників крові. Так, активність АЛТ та АСТ зменшилась і становила в першій групі $41,2 \pm 5,4$ та $35 \pm 3,2$ проти $38,3 \pm 4,8$ і $32 \pm 2,7$ Од/л відповідно в пацієнтів другої групи ($p < 0,001$, $p = 0,005$). Крім того, відбулися зміни в показниках ліпидограми: ЗХ у пацієнтів з ЦД 2-го типу після лікування знизився до $6,0 \pm 0,3$, а у групі без ЦД 2-го типу до $4,9 \pm 0,2$ ($p < 0,001$). До того ж у пацієнтів відбулось достовірне зниження ЛПНГ $2,9 \pm 0,2$ у групі з ЦД 2-го типу проти $2,0 \pm 0,2$ у групі НАЖХП без ЦД 2-го типу, ТГ $2,1 \pm 0,1$ проти $1,4 \pm 0,1$ у пацієнтів другої групи ($p < 0,001$). На фоні зменшення ЗХ у пацієнтів обох груп було достовірне зменшення КА, який становив $3,0 \pm 0,1$ у групі з ЦД 2-го типу та $2,6 \pm 0,2$ у групі без ЦД 2-го типу ($p < 0,001$).

При порівнянні зміни вуглеводного обміну в обох групах було виявлено, що рівень глюкози крові у групі пацієнтів з НАЖХП і ЦД 2-го типу зменшився в порівнянні з пацієнтами другої групи і становив $6,3 \pm 0,3$ через 3 місяці і $5,8 \pm 0,3$ через 6 місяців ($p < 0,001$). Крім того, у пацієнтів першої групи в порівнянні з пацієнтами другої групи зменшився HbA1c і становив $6,1 \pm 0,5$ через 3 місяці і $5,6 \pm 0,3$ через 6 місяців ($p < 0,001$). Після проведеного лікування достовірне зниження продемонстрував індекс НОМА - $3,2$ (95 % ДІ 3,1 - 3,5) у пацієнтів з НАЖХП і ЦД 2-

го типу і 2,7 (95 % ДІ 2,4 - 3,0) у пацієнтів без ЦД 2-го типу ($p < 0,001$). Як і очікувалося, лікування шляхом модифікації способу життя та прийому метформіну у відповідній дозі дало змогу зменшити рівень глюкози крові та HbA1c у пацієнтів із ЦД 2-го типу. Проте показник та медіана індексу НОМА на фоні лікування пацієнтів другої групи залишалися вище нормативного значення. Для з'ясування причини лише часткової ефективності лікування у групі пацієнтів з НАЖХП без ЦД 2-го типу ми порівняли концентрацію церамідів до та після лікування в цій групі.

Аналіз даних виявив, що у частини пацієнтів другої групи з неефективним лікуванням був підвищений базальний рівень церамідів C16:0, C18:0, C24:1 ($p < 0,001$). Крім того, фракція C24:0 у них була нижча ніж у пацієнтів з успішним лікуванням 3,5 проти 4,2 мкмоль/л відповідно ($p < 0,001$). У зв'язку з цим можна зробити висновок, що пацієнтам, в яких базальний рівень перевищує встановлені нами порогові значення C16:0 - 0,39 мкмоль/л, C18:0 - 0,123 мкмоль/л, C24:1 - 1,25 мкмоль/л, C24:0 - 4,2 мкмоль/л ($p < 0,001$) до лікування, крім модифікації способу життя, необхідне додавання метформіну 500 мг 2 рази на добу протягом 6 місяців.

Під час аналізу показників вуглеводного обміну через 6 місяців після лікування виявлено достовірне зниження індексу НОМА в обох групах ($p < 0,001$).

При порівнянні ефективності лікування через 6 місяців було виявлено зменшення церамідів C16:0 у трьох групах ($p < 0,01$). Проте концентрація церамідів C16:0 у другій групі статистично не відрізнялася від пацієнтів першої групи ($p = 0,06$). Варто зазначити, що на фоні прийому метформіну у пацієнтів першої групи концентрація церамідів C16:0 через 6 місяців зменшилася майже вдвічі. Також у трьох групах на фоні лікування спостерігалось достовірне зниження концентрації церамідів C18:0 та C24:1 ($p < 0,01$). Найбільше зниження концентрації даних фракцій церамідів було виявлено в пацієнтів, які приймали метформін. Крім того, фракція C24:0 після шестимісячного лікування достовірно збільшилася у трьох групах ($p < 0,01$). Особливо позитивна динаміка відзначалася в пацієнтів першої групи, в яких концентрація C24:0 збільшилася в 1,2 раза у порівнянні з іншими групами.

За результатами шестимісячного лікування виявлено достовірне зменшення співвідношення C16:0/24:0 у трьох групах ($p < 0,01$). У групі пацієнтів з НАЖХП і ЦД

2-го типу, які приймали метформін, С16:0/24:0 зменшилося вдвічі порівняно з іншими пацієнтами. При порівнянні результатів пацієнтів з дисліпідемією з пацієнтами другої групи, зменшення співвідношення С18:0/24:0 у них через 6 місяців було статистично незначущим ($p > 0,05$). Проте в пацієнтів з дисліпідемією в порівнянні з пацієнтами інших груп, відзначалося достовірне зменшення С18:0/24:0 ($p < 0,05$, $p < 0,01$). При порівнянні даних було виявлено, що на фоні шестимісячного лікування співвідношення С24:1/24:0 достовірно зменшилося у трьох групах ($p < 0,01$). Найбільші зміни спостерігалися в пацієнтів з ЦД 2-го типу, в яких співвідношення С24:1/24:0 зменшилося в 1,7 раза. Аналіз результатів співвідношення С18:0/16:0 продемонстрував достовірне його збільшення в усіх групах у кінці шостого місяця лікування ($p < 0,01$). Однак відмінність співвідношення С18:0/16:0 у пацієнтів другої групи та пацієнтів першої групи не була статистично значущою ($p > 0,01$).

Ключові слова: неалкогольна жирова хвороба печінки, інсулінорезистентність, цукровий діабет 2-го типу, цераміди.

ANNOTATION

Pavlovskiy L. L. Optimization of diagnosis and treatment of patients with nonalcoholic fatty liver disease in combination with type 2 diabetes depending on the level of ceramides. Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

The Thesis submitted for a Doctor of Philosophy degree in «Health care system», department of knowledge 22, by "Medicine" specialty 222 - Bogomolets National Medical University, Ministry of public Health of Ukraine, Kyiv, 2021.

The aim of the study was to improve the treatment of patients with non-alcoholic fatty liver disease in combination with type 2 diabetes mellitus on the basis of determining the level of ceramides in blood plasma.

To achieve this goal, 102 patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) were examined and divided into three groups. The first group included patients with type 2 diabetes mellitus (type 2 diabetes) (51 patients), the second group included patients without type 2 diabetes mellitus and with a HOMA index of 2,5 to 5,0 (51 patients). During the work of the two above groups, an additional third group of patients with dyslipidemia (20 patients) was formed. The average age of patients of the first and second groups was 54.3 ± 7.2 years, the age of patients of the third group was 64.9 ± 1.4 years. In the first group, the ratio of men and women was 52,9 % (27) and 47,1 % (24), in the second group 54,9 % (28) and 45,1 % (23), in the group of patients with dyslipidemia 60% (12) and 40 % (8), respectively. The control group included 20 healthy people – 55 % (11) men and 45 % (9) women.

The design of this study was approved by the Commission on Bioethical Expertise and Ethics of Scientific Research at the National Medical University named after O.O. Bogomolets 116 dated 29.11.2018.

The scope of research was carried out in accordance with the purpose of the work and included history taking, physical and anthropometric examination (measurement of height, body weight, BMI calculation, OT/OS ratio). In addition, biochemical analysis of blood (ALT, AST, bilirubin, AF, GGTP), lipid profile, plasma glucose level, HOMA index and glycated hemoglobin (HbA1c) were determined. The fractions of ceramides C16:0, C18:0, C24:0, C24:1 and their ratios C16:0/C24:0, C18:0/C24:0, C24:1/C24:0, C18:0/C16:0 were determined by liquid chromatography with mass spectrometry. Instrumental studies

(ultrasound: steatometry, elastometry) were performed to assess steatosis, non-alcoholic steatohepatitis (NASH) activity and fibrotic changes of the liver.

The diagnoses of NAFLD and obesity were confirmed in accordance with the Order of the Ministry of Health of Ukraine № 826 of 06.11.2014 "Unified clinical protocol of primary, secondary (specialized) medical care: non-alcoholic steatohepatitis" and the criteria of the European Association for the Study of the Liver (EASL) and the European Association for the Study of Obesity (EASO), 2016. The diagnosis of type 2 diabetes was confirmed in accordance with the Order of the Ministry of Health № 1118 of 21.12.2012 "Unified clinical protocol of primary and secondary (specialized) medical care: type 2 diabetes mellitus" and the criteria of the European Association for the Study of Diabetes (EASD), American Diabetes Association (ADA), 2019.

Patients were examined at the beginning of the study, as well as in the dynamics after 3 and 6 months. Patients who were in the first group (NAFLD and type 2 diabetes), as a treatment offered a modification of lifestyle (weight loss, exercise, change in diet) and taking the drug group of biguanides - metformin at a dose of 500 mg 2 times per day. Treatment of patients in the second group (NAFLD without type 2 diabetes) consisted only in lifestyle changes. Patients with laboratory signs of dyslipidemia were also selected from both groups. In addition to lifestyle changes and taking metformin at a dose of 500 mg 2 times a day, they were recommended to take statins, namely rosuvastatin at a dose of 10 mg per day.

After 3 and 6 months, patients underwent laboratory screening of the main biochemical parameters of the blood to determine the fractions of ceramides and their ratios.

The results indicate the role of ceramides and their ratio as markers of severity and effectiveness of treatment of patients with NAFLD in combination with IR and type 2 diabetes. Analysis of the data revealed that the basal concentration of ceramides C16:0, C18:0, C24:1 in patients of the main group was higher than in the control group ($p < 0,001$). The concentration of ceramides C24:0 was lower in the main group compared with the control ($p < 0,001$). As a result of comparison of ceramide fractions in patients with NAFLD, it was found that the level of ceramides C16:0, C18:0, C24:1 was significantly increased in patients with type 2 diabetes ($p < 0,001$). At the same time, ceramides C24:0 were

significantly elevated in patients with NAFLD without type 2 diabetes ($p < 0,001$). Analysis of the ratios of ceramides C16:0/C24:0, C18:0/C24:0, C24:1/C24:0, C18:0/C16:0 showed a significant increase in patients in the first group ($p < 0,001$).

The study revealed correlations between ceramides C16:0, C18:0, C24:0, C24:1 with different laboratory and instrumental parameters. In particular, the assessment of correlation in patients of the first group revealed an average correlation between ceramides C16:0 and C18:0 with BMI, $r = 0,474$, $r = 0,286$, respectively ($p < 0,05$). Between C18:0 there was also a weak connection with HbA1c, $r = 0,295$ and total bilirubin, $r = 0,283$ ($p < 0,05$). In addition, the C18:0 fraction had a direct correlation with steatometry, $r = 0,334$, AP, $r = 0,468$ and inverse correlation with HDL, $r = -0,300$ ($p < 0,05$). A direct mean relationship was observed between the fraction C24:1 with ceramides C18:0, $r = 0,474$, HOMA index, $r = 0,337$, ALT activity, $r = 0,336$ and inverted with AST, $r = -0,389$ ($p < 0,05$). Also in the study between ceramides C24:1 there was a strong direct correlation with HbA1c, $r = 0,592$, steatometry, $r = 0,615$, LDL, $r = 0,603$ ($p < 0,05$).

At the same time, in the group of patients with NAFLD without type 2 diabetes, it was found that the fraction of ceramides C16:0 had a weak correlation with the fraction of ceramides C24:0, $r = 0,285$ ($p < 0,05$). The average relationship was found between the fraction C18:0 with the results of elastometry, $r = 0,331$, steatometry, $r = 0,309$ and the level of total cholesterol (TC), $r = 0,303$ ($p < 0,05$). A weak direct connection was found between ceramides C24:0 with fraction C16:0, $r = 0,285$ and LDL, $r = 0,280$ ($p < 0,05$) and inverted with HbA1c, $r = -0,294$ ($p < 0,05$). In addition, the C24:1 fraction showed an inverse correlation with the results of elastometry, $r = -0,374$, VLDL, $r = -0,352$ and ACT activity $r = -0,287$ ($p < 0,05$).

The study in patients of the first and second groups also revealed correlations with the ratios of ceramides C16:0/C24:0, C18:0/C24:0, C24:1/C24:0, C18:0/C16:0. Thus, in patients with NAFLD and type 2 diabetes in the study of correlations, it was found that the ratio C16:0/C24:0 had a weak direct relationship with the fraction C24:0, $r = 0,284$ and inverted with TC, $r = -0,343$ ($p < 0,05$). The ratio C18:0/24:0 was weakly correlated with C18:0, $r = 0,293$, ACT activity, $r = 0,283$ and moderately correlated with BMI, $r = 0,304$ ($p < 0,05$). Also, during the comparison it was found that the ratio of ceramides C24:1/24:0

had a weak correlation with C24:1, $r = 0,295$, HbA1c, $r = 0,284$, TG, $r = 0,292$, steatometry, $r = 0,483$, AC, $r = 0,402$, LDL, $r = 0,371$ and TC, $r = 0,350$ and inverse connection with elastometry, $r = -0,330$ and AP, $r = -0,312$ ($p < 0,05$). In turn, the ratio C18:0/C16:0 was moderately correlated with ceramides C18:0, $r = 0,304$, C24:0, $r = 0,310$, C24:1, $r = 0,623$ and the ratio C24:1/24:0, $r = 0,349$ ($p < 0,05$). In addition, the ratio C18:0/C16:0 had a direct mean correlation with BMI, $r = 0,349$, TG, $r = 0,357$ and a strong relationship with HbA1c, $r = 0,507$, HOMA index, $r = 0,507$, LDL, $r = 0,636$, steatometry, $r = 0,801$ ($p < 0,05$).

The following results were found in patients of the second group: the ratio C18:0/24:0 was moderately correlated with the fraction C24:0, $r = 0,302$ and weakly with ALT, $r = 0,279$ ($p < 0,05$). The ratio C24:1/24:0 showed a weak relationship with LDL, $r = 0,298$, the average direct correlation with elastometry, $r = 0,434$, steatometry, $r = 0,586$ and TG, $r = 0,394$ and the inverse relationship with GGTP, $r = -0,351$ ($p < 0,05$). The C18:0/C16:0 ratio correlated with HbA1c, $r = 0,333$ ($p < 0,05$).

Correlation analysis showed that patients in the main group found links between ceramides and their relationships with the main biochemical parameters (ALT, AST), lipid profile parameters, carbohydrate metabolism, steatometry and elastometry. These results indicate a pathogenetic link between ceramides and NAFLD, IR and type 2 diabetes.

When assessing the biochemical parameters of the blood, it was found that patients in the first group had a more pronounced cytolytic syndrome with a significant increase in the activity of ALT and AST compared with patients in the second group ($p < 0,001$). Also, patients of the first group in comparison with patients of the second group had a significant increase in lipid profile, namely: TC $7,2 \pm 0,5$ vs. $5,5 \pm 0,2$, LDL $3,0 \pm 0,5$ vs. $2,4 \pm 0,5$, TG $2,6 \pm 0,2$ against $1,7 \pm 0,2$ and CA $3,9 \pm 0,4$ against $3,2 \pm 0,2$ at patients of the second group ($p < 0,001$). At the same time, the antiatherogenic fraction of cholesterol - HDL in patients of the first group was significantly reduced by 0,7 (95 % CI 0,6 - 0,7) against 0,8 (95% CI 0,7 - 0,9) in patients the second group ($p < 0,001$).

When comparing the parameters of carbohydrate metabolism, there were significant differences in the group of patients with NAFLD and type 2 diabetes in blood glucose $8,5 \pm 0,7$ vs. $5,4 \pm 0,2$, HOMA index 4,1 (95 % CI 4,0 - 4,3) vs. 3,3 (95 % CI 3,1 - 3,7) and in HbA1c $7,6 \pm 0,5$ vs. $5,3 \pm 0,2$ in patients without type 2 diabetes ($p < 0,001$).

When comparing the results of steatometry, it was found that in patients with NAFLD and type 2 diabetes, the attenuation coefficient (AC) was 2,6 (95 % CI 2,59 - 2,66) against 2,4 (95 % CI 2,38 - 2,42) in patients with NAFLD without type 2 diabetes ($p < 0,001$). Steatometry results indicated the presence of moderate steatosis (S2) in both groups. There were also significant differences in patients of the first group in the results of elastometry. Thus, the coefficient of rigidity in them was $7,6 \pm 0,3$ versus $7,0 \pm 0,4$ in patients without type 2 diabetes ($p < 0,001$). Elastometry data showed a weak degree of fibrosis (F1) in both groups.

Against the background of treatment after 3 months in the main group there was a positive trend in changes in ceramide levels. In particular, there was a significant decrease in the fractions C16:0, C18:0, C24:1 in three groups ($p < 0,01$). However, the decrease in the level of ceramides C18:0 in the group of patients of the third group (with dyslipidemia) compared with patients of the second group, was statistically insignificant ($p > 0,05$). Also as a result of treatment in three groups there was a significant increase in the concentration of ceramides C24:0 ($p < 0,01$).

When analyzing ceramide ratios after three months of treatment, it was found that the ratio of C16:0/24:0 was significantly reduced in three groups, mostly in patients taking metformin ($p < 0,01$). Also in the three groups after treatment the ratio of ceramides C18:0/24:0 decreased, especially in patients with NAFLD and type 2 diabetes ($p < 0,01$). Positive dynamics in the three groups was observed in the form of a decrease in the ratio of ceramides C24:1/24:0 with an advantage in the group of patients taking metformin ($p < 0,01$). In addition, against the background of treatment in groups of patients with NAFLD with type 2 diabetes and without type 2 diabetes, there was a significant decrease in the ratio of C18:0/C16:0 ($p < 0,01$). The improvement of results in the three groups is primarily due to a decrease in the concentration of ceramides C16:0, C18:0, C24:1 and an increase in the fraction C24:0. It is also worth noting that the ratio of C18:0/C16:0, which according to the literature is associated with the risk of developing type 2 diabetes, decreased against the background of specific treatment of type 2 diabetes. This result, as well as the positive correlation of ceramides C18:0, C16:0 and the ratio of C18:0/C16:0 with indicators of

carbohydrate metabolism, indicates their possible role in the development of IR and type 2 diabetes.

As a result of three months of treatment, there was an improvement in blood biochemical parameters. Thus, the activity of ALT and AST decreased and was in the first group $41,2 \pm 5,4$ and $35 \pm 3,2$, respectively, against $38,3 \pm 4,8$ and $32 \pm 2,7$ in patients of the second group ($p < 0,001$, $p = 0,005$). In addition, there were changes in the lipid profile: TC in patients with type 2 diabetes after treatment decreased to $6,0 \pm 0,3$, and in the group without type 2 diabetes to $4,9 \pm 0,2$ ($p < 0,001$). In addition, patients had a significant decrease in LDL $2,9 \pm 0,2$ in the group with type 2 diabetes versus $2,0 \pm 0,2$ in the group of NAFLD without type 2 diabetes, TG $2,1 \pm 0,1$ against $1,4 \pm 0,1$ in patients of the second group ($p < 0,001$). Against the background of a decrease in TC in patients of both groups there was a significant decrease in CA, which was $3,0 \pm 0,1$ in the group with type 2 diabetes and $2,6 \pm 0,2$ in the group without type 2 diabetes ($p < 0,001$).

When comparing the change in carbohydrate metabolism in both groups, it was found that the level of blood glucose in the group of patients with NAFLD and type 2 diabetes decreased compared with patients in the second group and was $6,3 \pm 0,3$ after 3 months and $5,8 \pm 0,3$ after 6 months ($p < 0,001$). In addition, patients in the first group compared with patients in the second group decreased HbA1c and was $6,1 \pm 0,5$ after 3 months and $5,6 \pm 0,3$ after 6 months ($p < 0,001$). After treatment, a significant decrease was shown by the HOMA index, which was $3,2$ (95 % CI $3,1-3,5$) in patients with NAFLD and type 2 diabetes and $2,7$ (95 % CI $2,4-3,0$) in patients without type 2 diabetes ($p < 0,001$). As expected, treatment by lifestyle modification and metformin at the appropriate dose reduced blood glucose and HbA1c in patients with type 2 diabetes. However, the HOMA index and median on the background of treatment of patients in the second group remained above the norm. To determine the cause, only partial efficacy of treatment in the group of patients with NAFLD without type 2 diabetes, we compared the concentration of ceramides before and after treatment in this group.

Analysis of the data revealed that in some patients of the second group with ineffective treatment, the basal level of ceramides C16:0, C18:0, C24:1 was increased ($p < 0,001$). In addition, the C24:0 fraction was lower than in patients with successful treatment

of 3,5 versus 4,2 $\mu\text{mol/l}$, respectively ($p < 0,001$). In this regard, we can conclude that patients whose basal level exceeds our thresholds: C16:0 - 0,39 $\mu\text{mol/l}$, C18:0 - 0,123 $\mu\text{mol/l}$, C24:1 - 1,25 $\mu\text{mol/l}$, C24:0 - 4,2 $\mu\text{mol/l}$ ($p < 0,001$) before treatment, in addition to lifestyle modifications, it is necessary to add metformin 500 mg 2 times a day for 6 months.

In the analysis of carbohydrate metabolism 6 months after treatment, a significant decrease in the HOMA index in both groups ($p < 0,001$).

When comparing the effectiveness of treatment after 6 months, a decrease in ceramides C16:0 was found in three groups ($p < 0,01$). However, the concentration of ceramides C16:0 in the second group did not differ statistically from patients in the first group ($p = 0,06$). It should be noted that against the background of metformin in patients from the first group, the concentration of ceramides C16:0 after 6 months decreased almost twice. Also in three groups on the background of treatment there was a significant decrease in the concentration of ceramides C18:0 and C24:1 ($p < 0,01$). Decreased concentrations of these ceramide fractions were most common in patients taking metformin. In addition, the C24:0 fraction after six months of treatment was significantly increased in three groups ($p < 0,01$). Particularly positive dynamics was observed in patients from the first group in whom the concentration of C24:0 increased 1,2 times compared with other groups.

When analyzing the results of six months of treatment, a significant decrease in the ratio of C16:0/24:0 in three groups ($p < 0,01$). In the group of patients with NAFLD and type 2 diabetes who received metformin C16:0/24:0, it was halved compared to other patients. When comparing the results of patients with dyslipidemia with the second group, the decrease in the ratio of C18:0/24:0 in them after 6 months was statistically insignificant ($p > 0,05$). However, in patients with dyslipidemia compared with other groups, there was a significant decrease in C18:0/24:0 ($p < 0,05$, $p < 0,01$). When comparing the data, it was found that against the background of six months of treatment, the ratio of C24:1/24:0, significantly decreased in three groups ($p < 0,01$). The greatest changes were observed in patients with type 2 diabetes in whom the ratio of C24:1/24:0 decreased by 1,7 times. Analysis of the results of the ratio C18:0/16:0 showed a significant increase in all groups at the end of the sixth month of treatment ($p < 0,01$). However, the difference between

C18:0/16:0 in patients from the second group and patients from the first group was not statistically significant ($p > 0,01$).

Keywords: non-alcoholic fatty liver disease, insulin resistance, type 2 diabetes, ceramides.

Список публікацій здобувача за темою дисертації

1. Павловський Л. Л., Чернявський В. В. Церамиды как фактор риска неалкогольной жировой болезни печени// Семейна медицина - 2018. - № 3. – С. 81 - 84. *(Автором зібрано матеріал, проаналізовано літературні джерела з проблеми, виконано статистичне опрацювання даних з аналізом отриманих результатів, підготовлено статтю до друку).*

2. Павловський Л. Л., Чернявський В. В., Шипулін В. П., Тіщенко В. В, Купчик Л. М. Дослідження впливу цераміду С16 у плазмі крові на перебіг неалкогольної жирової хвороби печінки // Сучасна гастроентерологія. – 2019. - № 5. – С. 14 - 17. *(Автором зібрано матеріал, проаналізовано літературні джерела з проблеми, виконано статистичне опрацювання даних з аналізом отриманих результатів, висновки сформульовані спільно з керівником, підготовлено статтю до друку).*

3. Павловський Л. Л., Вплив застосування метформіну та зниження маси тіла на концентрацію церамідів С16:0, С18:0, С24:1 в плазмі крові в пацієнтів із неалкогольною жировою хворобою печінки в поєднанні з інсулінорезистентністю та цукровим діабетом 2 типу // Гастроентерологія. – 2020. - № 2. – С. 96 - 100, т. 54. *(Автором зібрано матеріал, проаналізовано літературні джерела з проблеми, виконано статистичне опрацювання даних з аналізом отриманих результатів, висновки сформульовані спільно з керівником, підготовлено статтю до друку).*

4. Pavlovskiy Leonid, Chernyavskiy Volodymyr, Shypulin Vadym and Tishchenko Viktoriia. Increased Level of Serum Ceramides Correlate with Liver Steatosis, Hba1c and Cholesterol in Obese Patients // Journal of Gastroenterology & Digestive Systems – 2020. - Volume 4. Issue 1. Pg 1 - 4. *(Автором зібрано матеріал, проаналізовано літературні джерела з проблеми, виконано статистичне опрацювання даних з аналізом отриманих результатів, висновки сформульовані спільно з керівником, підготовлено статтю до друку).*

Опубліковані праці апробаційного характеру

1. Павловський Л. Л. Значення церамідів в розвитку неалкогольної жирової хвороби печінки та інсулінорезистентності // Матеріали науково-практичної конференції «Сучасні досягнення науки в медичній практиці» - Київ, 1 - 3 жовтня 2019 р. *(Автором проведено відбір та обстеження хворих, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку).*

2. Leonid Pavlovskyi, Vadym Shypulin, Volodymyr Chernyavskyi, Kira Linevska. The effect of different treatment strategies in patient with nonalcoholic fatty liver disease in combination with insulin resistance and type 2 diabetes on ceramide concentration // International Scientific and Practical Conference «Public Communication in science: Philosophical, Cultural, Political, Economic and its context». – Х'юстон, США, 15 травня 2020 р. *(Автором проведено відбір та обстеження хворих, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку).*

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ	2
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	21
ВСТУП	23
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	27
1.1. Сучасні уявлення про механізми розвитку НАЖХП в поєднанні з ЦД 2-го типу	27
1.2. Поняття про цераміди та роль їх у розвитку НАЖХП та ІР	34
1.3. Сучасні методи діагностики НАЖХП	43
1.4. Сучасні проблеми лікування НАЖХП у хворих на ЦД 2-го типу	49
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	57
2.1. Характеристика груп пацієнтів	57
2.2. Методи обстеження хворих	66
2.2.1. Лабораторні методи дослідження	66
2.2.2. Інструментальні методи дослідження	68
2.3. Статистична обробка результатів дослідження	70
РОЗДІЛ 3. ОСОБЛИВОСТІ ЛАБОРАТОРНИХ ТА ІНСТРУМЕНТАЛЬНИХ ПОКАЗНИКІВ У ПАЦІЄНТІВ ПОРІВНЯЛЬНИХ ГРУП	72
РОЗДІЛ 4. КОНЦЕНТРАЦІЯ ЦЕРАМІДІВ С16:0, С18:0, С24:0, С24:1 ТА ЇХНІ СПІВВІДНОШЕННЯ В ПАЦІЄНТІВ З НАЖХП І ЦД 2-ГО ТИПУ ТА БЕЗ НЬОГО, ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК З ОСНОВНИМИ ПОКАЗНИКАМИ	77

РОЗДІЛ 5. ВПЛИВ КОМПЛЕКСНОЇ ТЕРАПІЇ НА КОНЦЕНТРАЦІЮ ЦЕРАМІДІВ C16:0, C18:0, C24:0, C24:1 ТА НА ЇХНЄ СПІВВІДНОШЕННЯ В ПАЦІЄНТІВ З НАЖХП	87
5.1. Порівняльна характеристика даних через 3 та 6 місяців після лікування	87
5.2 Прогностична роль керамідів C16:0 в підборі оптимального лікування в пацієнтів з НАЖХП без ЦД 2-готипу	107
РОЗДІЛ 6. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	111
ВИСНОВКИ	120
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	122
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	123
ДОДАТКИ	143

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АлАТ - аланінамінотрансфераза

АсАТ - аспартатамінотрансфераза

ГГТП - гамма-глутамілтранспептідаза

ГЕРХ – гастроєзофагеальна рефлюксна хвороба

ГЦК – гепатоцелюлярна карцинома

ДІ – довірчий інтервал

ЗХ – загальний холестерин

ІМТ – індекс маси тіла

ІР – інсулінорезистентність

КА – коефіцієнт атерогенності

КЗ – коефіцієнт затухання

ЛПВГ – ліпопротеїди високої густини

ЛПДНГ – ліпопротеїди дуже низької густини

ЛПНГ – ліпопротеїди низької густини

ЛФ – лужна фосфатаза

МС – метаболічний синдром

НАЖХП – неалкогольна жирова хвороба печінки

НАСГ - неалкогольний стеатогепатит

ОС – окружність стегон

ОТ – окружність талії

ТГ – тригліцериди

УЗД – ультразвукове дослідження

ЦД – цукровий діабет

ADA – Американська діабетична асоціація

EASL - Європейська асоціація з дослідження печінки

HbA1c - глікований гемоглобін

HOMA – гомеостатична модель оцінки інсулінорезистентності

PNPLA3 - patatin-like phospholipase 3

PKB/Akt - протеїнкінази B

TNF- α – інтерлейкін - фактор некрозу пухлин – альфа

ВСТУП

Актуальність теми

НАЖХП є значною проблемою в багатьох країнах світу. Поширеність захворювання в теперішній час за даними різних джерел становить близько 25% залежно від статі, віку та етнічної приналежності. З них на частку пацієнтів із нормальною масою тіла НАЖХП припадає у 16 % випадків та 76 % на пацієнтів з ожирінням. Крім цього, однією з головних проблем вважається збільшення частки хворих на ЦД. На сьогодні у світі нараховується 422 млн хворих на ЦД, а до 2025 р. кількість їх збільшиться до 552 млн [134]. В Україні ЦД посідає третє місце за поширеністю після серцево-судинних і онкологічних захворювань. За останні 10 років поширеність ЦД в Україні збільшилася в півтора рази і станом на 2016 р. у країні зареєстровано 1,2 млн хворих, що становить близько 2,9 % від усього населення (МОЗ України).

На даний час використовується багато маркерів діагностики НАЖХП, IP та ЦД 2-го типу, найчастіші з них - це визначення активності печінкових ферментів та рівня глюкози плазми крові [39, 161]. Однак іноді на ранніх стадіях захворювання ці показники можуть бути в нормі в пацієнтів, що створює проблему раннього виявлення як НАЖХП, так і ЦД 2-го типу [161]. Тому є актуальним пошук нових маркерів, які б не тільки виявляли захворювання на ранніх стадіях їхнього розвитку, але і спрогнозували б їхній подальший перебіг. Одним із таких маркерів є специфічні види жирів - цераміди. Вони беруть участь у процесах проліферації, диференціації та підтримання клітинного гомеостазу. Крім їхньої фізіологічної функції, цераміди також сприяють розвитку НАЖХП, IP та ЦД 2-го типу.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота виконана на кафедрі внутрішньої медицини № 1 Національного медичного університету імені О. О. Богомольця МОЗ України. Робота є частиною НДР "Оптимізація діагностики та лікування захворювань органів травної системи в умовах коморбідності" (№ ДР 0119U100576). Здобувачем проведено патентно-інформаційний пошук, набір тематичних хворих, аналіз отриманих результатів досліджень, статистичну обробку даних.

Здобувачем підготовлено доповіді про результати дослідження, написано та подано до друку статті та тези в матеріалах конференцій та з'їздів.

Мета дослідження: - удосконалити лікування хворих з НАЖХП в поєднанні з ЦД 2-го типу на підставі визначення рівня церамідів у плазмі крові.

Завдання дослідження:

1. Вивчити основні параметри функціональної активності печінки, ліпідного та вуглеводного профілю в пацієнтів з НАЖХП в поєднанні з ЦД 2-го типу та без ЦД 2-го типу.

2. Визначити загальний рівень церамідів у плазмі крові та співвідношення їх у пацієнтів з НАЖХП в поєднанні з ЦД 2-го типу та без ЦД 2-го типу.

3. Дослідити взаємозв'язок між рівнем церамідів плазми крові та співвідношеннями їх, з показниками АлАТ, АсАТ, ліпідним профілем (ЗХ, ЛПНГ, ЛПДНГ, ТГ, КА) індексом НОМА, рівнем глюкози плазми крові та глікованим гемоглобіном в поєднанні ЦД 2-го типу та без ЦД 2-го типу.

4. Дослідити взаємозв'язок між рівнем церамідів плазми крові та співвідношеннями їх з результатами стеатометрії у пацієнтів з НАЖХП в поєднанні ЦД 2-го типу та без ЦД 2-го типу.

5. Дослідити вплив різних стратегій лікування на загальний рівень церамідів та співвідношення їх у пацієнтів з НАЖХП в поєднанні з ЦД 2-го типу та без ЦД 2-го типу.

Об'єкт дослідження: НАЖХП та ЦД 2-го типу.

Предмет дослідження: рівень церамідів у плазмі крові, функціональна активність печінки, ліпідний профіль, вуглеводний профіль, функціональний стан та сонографічні зміни печінки у хворих на ЦД та НАЖХП.

Методи дослідження: загальноклінічні (загальний аналіз крові, глюкоза крові), біохімічні (загальний холестерин, ліпопротеїди високої щільності, ліпопротеїди низької щільності, тригліцериди, печінкові трансамінази, індекс НОМА, глікований гемоглобін) інструментальні (УЗД: стеатометрія, еластометрія, мас-спектрометрія), статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів

Розширено наукові знання стосовно ролі керамідів у розвитку НАЖХП, ІР та ЦД 2-го типу. Установлено, що концентрація керамідів залежить від ступеня важкості як НАЖХП, ІР так і ЦД 2-го типу, чим вищий ступінь, тим більша концентрація керамідів.

Уперше було доведено зв'язок між керамідами С16:0, С18:0, С24:0, С24:1 та співвідношеннями їх з основними біохімічними показниками (АЛТ, АСТ), параметрами вуглеводного обміну (глюкоза крові, індекс НОМА, глікований гемоглобін).

Уперше продемонстровано взаємозв'язок між керамідами та співвідношеннями їх з основними показниками ліпидограми (ЛПНГ, ЛПВГ, ТГ, КА).

Уперше продемонстровано взаємозв'язок між керамідами та співвідношеннями їх з КЗ при стеатометрії.

Уперше запропоновано визначення керамідів для контролю ефективності проведеного лікування. Продемонстровано вплив різних схем лікування на концентрацію керамідів. Уперше запропоновано стратегії лікування для різних груп пацієнтів залежно від концентрації керамідів.

Практичне значення одержаних результатів, впровадження їх у практику

У пацієнтів з НАЖХП доцільно рекомендувати визначення рівнів керамідів С16:0, С18:0, С24:0, С24:1 та співвідношення їх С16:0/С24:0, С18:0/С24:0, С24:1/С24:0, С18:0/С16:0 до початку лікування.

За умови, якщо базальний рівень перевищує встановлені нами порогові значення С16:0 - 0,39 мкмоль/л, С18:0 - 0,123 мкмоль/л, С24:1 - 1,25 мкмоль/л, С24:0 - 4,2 мкмоль/л до лікування, крім модифікації способу життя, пацієнтам з НАЖХП без ЦД 2-го типу необхідне додавання метформіну 500 мг 2 рази на добу протягом 6 місяців.

Для оцінки ефективності лікування хворих з НАЖХП без ЦД 2-го типу треба визначати співвідношення керамідів С18:0/С16:0 через 3 та 6 місяців.

Для оцінки ефективності лікування хворих з НАЖХП в поєднанні з ЦД 2-го типу треба визначати глюкозу крові натще, HbA1c та співвідношення керамідів

C18:0/C16:0 в якості додаткового маркера динаміки вираженості НАЖХП через 3 та 6 місяців.

Впровадження результатів дослідження в практику

Результати наукових досліджень, викладені в дисертаційній роботі, впроваджено в лікувальну роботу та навчальний процес (використано в курсі лекцій і на практичних заняттях зі студентами IV і VI курсів) на кафедрі внутрішньої медицини № 1 Національного медичного університету імені О. О. Богомольця МОЗ України, в практику терапевтичного та гастроентерологічного відділень КНП «Київська міська клінічна лікарня № 18» КМДА, ТОВ «ГАСТРОЦЕНТР», ТОВ «КДС».

Особистий внесок здобувача

Здобувачем проведений патентно-інформаційний пошук, проаналізовано наукову літературу, особисто розроблено дизайн дослідження, проведено набір тематичних хворих, забезпечене клінічне обстеження пацієнтів, аналіз лабораторних та інструментальних результатів дослідження. Самостійно виконано статистичну обробку отриманих даних, сформульовано основні положення, висновки, практичні рекомендації. Разом із співавторами було підготовлено до друку статті та тези, що відображають основні наукові положення дисертаційної роботи.

Апробація результатів дисертації

Результати дисертаційної роботи було представлено на наукових форумах: «Сучасні досягнення науки в медичній практиці» - Київ, 1 - 3 жовтня 2019 р. (усна доповідь); «Public Communication in science: Philosophical, Cultural, Political, Economic and its context» – Х'юстон, США, 15 травня 2020 р. (публікація тез); Апробацію дисертації також проведено на засіданні кафедри внутрішньої медицини №1 та фаховому семінарі Національного медичного університету імені О. О. Богомольця (2020 р).

Публікації. За темою дисертації опубліковано загалом 4 наукових статті з яких 3 у фахових наукових виданнях, що рекомендовані МОН України (1 у моноавторстві), 1 у фаховому журналі іншої держави, яка входить до Організації економічного

співробітництва та розвитку та Європейського Союзу, та 2 тези у збірках наукових праць, матеріалів і тез науково-практичних конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена українською мовою на 149 сторінках друкованого тексту і складається із вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, розділу, присвяченого аналізу й узагальненню отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій та списку використаних джерел (185). Робота ілюстрована 39 таблицями та 19 рисунками.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Сучасні уявлення про механізми розвитку НАЖХП в поєднанні з ЦД 2-го типу

НАЖХП на сьогодні вважається найчастішим хронічним захворюванням печінки в багатьох регіонах світу [176]. Це пояснюється насамперед тим, що за останні 30 років погляди щодо НАЖХП суттєво змінилися. Якщо колись це захворювання розглядали через гістологічну призму алкогольної хвороби печінки, то сьогодні НАЖХП розглядають як окрему нозологію [177, 178]. За оцінками експертів, до 2030 р. НАЖХП стане найчастішою причиною трансплантації печінки, а витрати на її лікування зростуть у 2-3 рази [38, 50].

Наразі глобальний рівень поширеності НАЖХП становить близько 25% [160, 179]. За даними мета-аналізу досліджень було з'ясовано, що найбільша поширеність НАЖХП спостерігається на Середньому Сході (31,8 %) та в Південній Америці (30,4 %), а найменша в країнах Африки (13,5 %). В Європі показник поширеності НАЖХП становить 23,7 % [176]. Захворюваність НАЖХП в загальній популяції становить від 28 до 86 пацієнтів на 1000 людей за результатами підвищених печінкових трансаміназ і/або за даними ультразвукового дослідження (УЗД) та 34 пацієнта на 1000 людей за даними протонної магнітно-резонансної спектроскопії [103]. На НАЖХП частіше страждають чоловіки. Це пов'язано з тим, що жінки під час репродуктивного періоду більш захищені від НАЖХП. Проте на фоні менопаузального періоду, протективна роль жіночих гормонів знижується й поширеність НАЖХП між чоловіками та жінками стає однаковою [168, 172, 158].

НАЖХП - це макровезикулярне накопичення крапель жиру більш ніж у 5 % гепатоцитів за даними гістологічного дослідження при умові, якщо інші фактори, які можуть впливати на печінку, виключені (віруси, алкоголь, лікарські засоби тощо).

Залежно від морфологічної картини НАЖХП включає в себе стеатоз печінки, НАСГ, фіброз та цироз печінки. З них на частку стеатозу печінки припадає 90 - 95% випадків, а на НАСГ 5 - 10%. Крім того, НАСГ у 38 % випадків призводить до фіброзу печінки, який в 30 % ускладнюється цирозом і в 1-2 % пацієнтів гепатоцелюлярною

карциномою (ГЦК) [19]. Незважаючи на те, що ризик розвитку фіброзу та цирозу печінки на фоні НАЖХП незначний, але згідно з Національним опитуванням охорони здоров'я та харчування, що проводилось з 1999 по 2002 р. і з 2009 по 2012 р. було виявлено збільшення у 2 рази розвитку НАЖХП-асоційованого фіброзу та у 2,5 рази НАСГ-асоційованого цирозу [163]. Слід відзначити, що ризик розвитку ГЦК, асоційованої з НАЖХП, також збільшився. Так, за даними дослідження, що проводилось у Великобританії із залученням 118 пацієнтів з ГЦК, було виявлено, що 35 % усіх випадків ГЦК були асоційовані з НАЖХП [33].

Порівнюючи показники смертності із загальною популяцією, треба відзначити, що смертність пацієнтів з НАЖХП збільшилась за останній час. Це пов'язано передусім з розвитком серцево-судинних ускладнень та ЦД 2-го типу, що можуть виникати на фоні НАЖХП [79].

З огляду на те, що НАЖХП розвивається на фоні порушення вуглеводного та ліпідного обмінів, можна зробити висновок, що дане захворювання є проявом так званого метаболічного синдрому (МС). Основними компонентами якого є: 1) збільшення окружності талії (ОТ) більше, ніж 94 см у чоловіків та 80 см у жінок; 2) підвищення артеріального тиску більше, ніж 130/80 мм.рт.ст., або наявна гіпертонічна хвороба; 3) підвищення рівня глюкози плазми крові натще більше, ніж 5,6 ммоль/л, або наявний ЦД 2-го типу; 4) підвищення тригліцеридів (ТГ) в плазмі крові більше, ніж 1,7 ммоль/л; 5) зниження ліпопротеїдів високої густини (ЛПВГ) менше, ніж 1,0 ммоль/л для чоловіків та 1,3 ммоль/л для жінок.

Сьогодні наявні дані свідчать, що в більш ніж 90 % пацієнтів з НАЖХП присутній щонайменше один із компонентів МС, а 55 - 60 % пацієнтів мають усі компоненти МС [50]. Результати мета-аналізу, що включав більше, ніж 8,5 млн пацієнтів із 22 країн, виявили, що 80 % пацієнтів з НАСГ мали надлишкову масу тіла, у 72 % були явища дисліпідемії, а 44 % страждали на ЦД 2-го типу [162]. За даними досліджень, підвищення рівня ліпопротеїдів низької густини (ЛПНГ) від 2,0 до 2,7 ммоль/л збільшує ризик розвитку НАЖХП з 19 до 42 % [144, 70]. Прямий зв'язок між НАЖХП та МС також був доведений у мета-аналізі за участю 411 пацієнтів, який виявив достовірний вплив гіпертонічної хвороби на фіброз печінки [138].

Вплив МС на НАЖХП оцінювався у Роттердамському популяційному дослідженні, в якому взяло участь 2811 людей, середній вік яких був 76 років. У ході дослідження був виявлений прямий зв'язок між компонентами МС та НАЖХП. Так, наприклад, збільшення ОТ більш ніж 88 см у жінок і 102 см у чоловіків підвищувало ризик НАЖХП у 4,9 раза. Збільшення рівня глюкози натще підвищувало ризик у 2,1 раза, супутня артеріальна гіпертензія у 1,8 раза, а гіпертригліцеридемія у 1,6 раза [78]. Два наступних дослідження, за участю 149 і 70 пацієнтів відповідно виявили, що ОТ, артеріальна гіпертензія, ІР та ЦД 2-го типу є предикторами розвитку НАСГ [142, 119]. Одне з досліджень було проведене Golabi і співавторами (2018), метою якого було порівняння ризику смертності пацієнтів з НАЖХП та МС з групою пацієнтів з НАЖХП без МС. У дослідженні взяло участь 3613 пацієнтів, які були розподілені на дві групи. Середній вік пацієнтів з НАЖХП та МС становив 48 років, вік когортної групи без МС був 35 років. Обидві групи були співставні за статтю. У результаті дослідження було з'ясовано, що ризик смертності протягом 8 років становив 4,7 % у групі пацієнтів з МС і 2,6 % без МС, а протягом 16 років 11,9 і 6,0 % відповідно ($p < 0,01$). Крім того, було підтверджено, що чим більш виражений МС, тим нижче рівень виживання пацієнтів з НАЖХП ($p < 0,001$) [122].

Поширеність НАЖХП зростає залежно від ІМТ. Наприклад, у пацієнтів з ІМТ менше 25 кг/м² НАЖХП розвивається у 25 %, з ІМТ 25 - 30 кг/м² у 67 %, а з ІМТ більше 30 кг/м² у 91 % випадків [179]. Прямий зв'язок між НАЖХП з масою тіла прослідковується в роботі Lonardo та співавторів (2015), результати якої виявили, що НАЖХП у пацієнтів з морбідним ожирінням (ІМТ більше 40 кг/м²) зустрічається більш ніж у 95 % випадків [96]. Нещодавній мета-аналіз досліджень підтвердив, що ожиріння може також вважатися фактором подальшого прогресування НАЖХП [100].

Наступним важливим аспектом у розвитку НАЖХП є наявність ЦД 2-го типу. За даними Міжнародної діабетичної федерації на 2019 р. встановлено близько 463 млн пацієнтів, які страждають на ЦД [134]. З них майже 90 % хворих мають ЦД 2-го типу [23]. Систематичний огляд досліджень, в яких взяло участь близько 90 тис. пацієнтів з ЦД 2-го типу, показав, що поширеність НАЖХП серед них становила майже 58 %.

Найвищий рівень спостерігався в країнах Європи (66,2 %), найнижчий рівень був зареєстрований в країнах Африки (13,2 %) [176]. Зв'язок НАЖХП з ЦД 2-го типу також прослідковується в наступному дослідженні, в якому було продемонстровано, що ризик розвитку НАЖХП в пацієнтів з ЦД 2-го типу в 5 - 9 разів вище, ніж у загальній популяції [6]. Крім того, наявність ЦД 2-го типу асоціюється з розвитком НАСГ, фіброзу печінки та ГЦК [6]. Це підтверджується результатами морфологічних досліджень, які свідчать, що ЦД 2-го типу виступає в якості незалежного предиктора гістологічного прогресування НАЖХП [106, 64, 41]. Подальші дослідження також виявили, що пацієнти з ЦД 2-го типу мали більш важкий ступінь НАЖХП в порівнянні з пацієнтами без ЦД 2-го типу. У таких пацієнтів НАСГ зустрічався у 80,2 проти 64,4 %, а фіброз у 40,3 проти 17,0 % у пацієнтів без ЦД 2-го типу [52]. У ході наступних досліджень було відзначено, що НАЖХП, діагностований за результатами УЗД, виступає як фактор розвитку ЦД 2-го типу незалежно від наявності ожиріння або МС [28, 116].

До недавнього часу існували різні припущення щодо патогенезу НАЖХП. Більшість з них зводилися до теорії «подвійного удару», згідно з якою першим етапом розвитку НАЖХП було накопичення ТГ в гепатоцитах [34]. Процес, який відбувався внаслідок впливу різних факторів, зокрема висококалорійного раціону харчування, ожиріння, ІР. У подальшому ряд сигнальних процесів, таких як активація цитокінів, мітохондріальна дисфункція, ендоплазматичний стрес, призводили до запального каскаду та прогресування НАЖХП в НАСГ з подальшим розвитком фіброзу печінки [123, 120]. Проте теорія «подвійного удару» занадто спрощувала складний каскад патогенезу НАЖХП, оскільки не враховувала синергічну взаємодію багатьох інших факторів, у тому числі генетичну схильність пацієнта. У зв'язку з цим та появою знань щодо нових патогенетичних факторів теорія «подвійного удару» трансформувалася в «мультиударну теорію» [19].

Отже, на теперішній час в основі патогенезу НАЖХП лежить передусім ІР, яка присутня в 66 - 83% пацієнтів з НАЖХП [98]. Завдяки посиленню ліпогенезу шляхом «де ново» та процесу ліполізу в жировій тканині, ІР сприяє виходу значної кількості вільних жирних кислот, що акумулюються в гепатоцитах та призводять до розвитку

стеатозу печінки. Це було підтверджено в ході дослідження випадок-контроль Rennan та співавторами (2017), яке виявило, що рівень вільних жирних кислот у плазмі крові в пацієнтів з НАЖХП був вище, ніж у групі контролю (здорові добровольці) ($p < 0,05$) [42]. Крім того, у різних дослідженнях було з'ясовано, що ліпогенез шляхом «де ново» в пацієнтів з НАЖХП збільшений у 3 рази в порівнянні з практично здоровими людьми [85, 118]. IP також шляхом ініціації дисфункції жирової тканини сприяє зменшенню продукції адипонектину та підвищенню синтезу лептину, що призводить до прогресування НАЖХП і розвитку НАСГ [20, 53]. Гормони, що синтезуються жировою тканиною у відповідь на запалення, варіабельно впливають на НАЖХП. Якщо адипонектин має антистеатозні, протизапальні та антифібротичні властивості, то лептин, навпаки, сприяє стеатозу печінки, запаленню та розвитку фіброзних змін [124]. У ході дослідження Nady (2018) були оприлюднені результати, що свідчили про зв'язок між низьким рівнем адипонектину та високим ступенем IP згідно з індексом НОМА (Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance) [42]. У той же час Polyzos і співавтори (2015) виявили, що високий рівень гормону лептину прямо пропорційно впливав на ступінь важкості НАЖХП [46].

Гіперінсулінемія активно впливає на ряд інтрагепатоцелюлярних рецепторів, що відповідають за ліпогенез, зокрема SREBP-1c (sterol response element-binding protein) та PPAR- γ (peroxisome proliferator-activated receptor). Активація цих рецепторів сприяє накопиченню ліпідів у гепатоцитах, які насамперед представлені ТГ [147]. Однак результати кількох досліджень не виявили кореляційного зв'язку між накопиченням ТГ і ступенем важкості НАЖХП. Проте ТГ можуть сприяти прогресуванню НАЖХП в НАСГ [148]. Передусім, це пов'язано з попередніми та проміжними продуктами, що утворюються в процесі метаболізму ТГ. Серед них особливу роль відіграють пальмітат, діацилгліцерол та цераміди. Наприклад, пальмітат посилює оксидативний та ендоплазматичний стреси, що призводить до ліпоаптозу [149, 150, 2]. Діацилгліцерол активує протеїнкіназу С, що сприяє IP, а цераміди впливають на процеси апоптозу та експресію рецепторів SREBP-1c [117]. Подальше накопичення ліпідів у гепатоцитах призводить до дисфункції мітохондрій та ендоплазматичного ретикулуму. Унаслідок цього збільшується продукція вільних

радикалів і посилюються процеси окислення ліпідів [91, 2]. Це призводить до пошкодження гепатоцитів та активації імунних клітин, зокрема клітин Купфера. Вони синтезують інтерлейкіни (IL-1 β , TNF- α), що сприяють подальшому цитолізу гепатоцитів і прогресуванню НАСГ [185, 29].

Однією з важливих ланок патогенезу НАСГ є апоптоз - процес, що полягає в запрограмованій клітинній смерті. Значення апоптозу полягає в регулюванні кількості клітин шляхом знищення пошкоджених, нефункціональних або потенційно небезпечних клітин для організму. У ході численних досліджень було підтверджено, що активність процесу апоптозу в пацієнтів з НАСГ підвищена [69]. Апоптоз відбувається по зовнішньому шляху, який регулюється рецепторами, що знаходяться на поверхні клітин, та внутрішньому, в основі якого лежить підвищена проникність лізосом, мітохондріальна дисфункція та ендоплазматичний стрес. До тригерів, що ініціюють апоптоз, відносяться вільні жирні кислоти та сфінголіпіди (цераміди). Вони активують проапоптичні білки (bim, bax) та сприяють активації внутрішнього шляху апоптозу.

В основі розвитку фіброгенезу лежить активація фібробластів. Основними тригерами їхньої проліферації є персистуюче запалення та проліферативні цитокіни, зокрема фактор трансформації росту - бета (TGF- β). У свою чергу, це створює умови для продукції екстрацелюлярного матрикса фібробластами та ремоделювання нормальної архітектоники паренхіми печінки [87]. На ступінь фіброзу впливає наявність супутніх захворювань. Дослідження показали, що частота випадків криптогенного цирозу більша в пацієнтів з ожирінням та ЦД 2-го типу. У своїй роботі Nakahara та співавтори (2014) у ході великого, когортного, ретроспективного дослідження виявили, що ЦД 2-го типу є фактором ризику вираженого фіброзу в пацієнтів з НАЖХП [113]. Предиктором фіброзу також є ожиріння, що підтверджено Kim та співавторами (2019) у ході проспективного, когортного дослідження за участю 40700 тис. пацієнтів з НАЖХП [174].

Наразі відомо, що ожиріння і ЦД 2-го типу вважаються карциногенними станами [49]. Так, розвиток ГЦК у чоловіків з ожирінням збільшується в 4 рази [8]. Серед механізмів розвитку ГЦК виділяють гепатоцелюлярну деструкцію, циклічну

компенсаторну регенерацію і проліферацію гепатоцитів [156]. З огляду на те, що пацієнти з НАЖХП мають ІР, а також хронічний запальний процес, це створює передумови до канцерогенезу. Відомо, що ІР і гіперінсулінемія сприяють гормональному дисбалансу, посиленню оксидативного стресу, активації сигнальних шляхів, що відповідають за процеси проліферації, міграції та апоптозу [104]. У ході дослідження за участю 77 пацієнтів з ГЦК на фоні НАЖХП було з'ясовано, що частина з них мала збільшений ІМТ та страждали на ЦД 2-го типу. Більш того, робота також підтвердила, що у 30 - 40% пацієнтів з ГЦК були мінімальні або помірні фіброзні зміни в печінці [74]. Аналогічне дослідження також підтвердило, що ГЦК на фоні НАЖХП може виникати не тільки за умови наявності фіброзу та цирозу печінки, а також за відсутності їх [173, 170].

Сьогодні серед незалежних факторів, що потенційно впливають на розвиток НАЖХП, особливу роль приділяють генетичній схильності. Уперше про це дізналися у 2008 р., коли Romeo і співавтори відзвітували про результати першого, повного геномного дослідження пацієнтів з НАЖХП (genome-wide association study-GWAS), результати якого виявили ген PNPLA3 (patatin-like phospholipase 3), який пов'язаний з порушенням гідролізу триацилгліцеролу в жировій тканині та збільшенням рівня ТГ в печінці [130]. Роль цього гена в розвитку як стеатогепатиту, так і фіброзу печінки була підтверджена в декількох крос-секційних дослідженнях. До того ж було виявлено, що поліморфізм гена PNPLA3 виступає в якості фактора розвитку ГЦК [141, 153, 95].

Генетична схильність до НАЖХП була виявлена в поліморфізмі гена TM6SF2 (transmembrane 6 superfamily member 2), який асоціюється з підвищенням трансаміназ, стеатозом та фіброзом печінки [82, 94].

Враховуючи проаналізовані дані, можна, стверджувати, що НАЖХП є мультидисциплінарною проблемою. Адже в якості важливої зв'язувальної ланки НАЖХП сприяє розвитку ускладнень з боку різних органів та систем. Попри те, що основним чинником розвитку НАЖХП виступає ІР, залишаються питання стосовно того, що виникає першочергово. У зв'язку з цим актуальним є пошук ранніх маркерів

розвитку ІР, виявлення яких дозволить попередити виникнення та подальше прогресування НАЖХП.

1.2. Поняття про цераміди та роль їх у розвитку НАЖХП та ІР

Сфінголіпіди - це найбільший клас жирів. Вони є основними компонентами клітинної мембрани та виконують одну з ключових ролей у регуляції внутрішньоклітинних сигнальних механізмів. Порушення обміну сфінголіпідів пов'язане з розвитком онкологічних [133], серцево-судинних [107] та нейро-дегенеративних захворювань [93]. Протягом останніх двох десятиліть накопичились дані щодо ролі сфінголіпідів, а саме їхнього підкласу - церамідів у розвитку НАЖХП, ІР та ЦД 2-го типу [155].

Слово цераміди (ceramide - С) походить від латинських слів «seca» - віск і «amide» - білок. Іншими словами, цераміди - це жири сімейства сфінголіпідів, що складаються з білка - сфінгозину та ненасичених, мононасичених і насичених жирних кислот. Довжина їх від 14 до 30 атомів вуглецю [111].

Цераміди складають гідрофобне ядро всього комплексу сфінголіпідів і є важливою складовою двохшарової оболонки клітин. Вони входять до складу ліпопротеїдів дуже низької, низької та високої густини і становлять приблизно 3 % від усіх сфінголіпідів плазми крові. Крім того, цераміди в якості месенджерів беруть участь у процесах проліферації, диференціації та апоптозу [56].

Продукція церамідів відбувається практично в усіх органах. Однак дослідження показали, що основним місцем утворення церамідів є печінка [117]. Цераміди утворюються шляхом «де ново», через гідроліз сфінгом'єліну та в результаті реакції відновлення (salvage pathway) [117]. Відновлення загального пулу церамідів також відбувається в клубовій та сліпій кишках за допомогою жовчних кислот та осі фарсеноїдного рецептора Х (farnesoid X receptor - FXR). Роль кишкової фракції церамідів у пошкодженні печінки та метаболічних порушеннях під час НАСГ була доведена фармакологічно. Зокрема, генетичний або медикаментозний вплив на FXR призводив до зменшення циркуляції церамідів у крові на 30 - 50% та зниження печінкової ІР [112, 67].

Синтез керамідів шляхом «де ново» починається в ендоплазматичному ретикулумі в результаті реакції конденсації пальмітоїлу-КоА і серину. Джерелами пальмітоїлу КоА є насичені (пальмітинова кислота) та ненасичені жирні кислоти (олеїнова кислота). Основний фермент, який каталізує реакцію, є серин пальмітоїл-КоА трансфераза (serine palmitoyl-CoA transferase), у результаті якої утворюється 3-кетосфінганін, який за допомогою дігідроцерамідсинтази і дегідроцераміддезатурази перетворюється на дегідросфінгозини, дегідроцераміди і кераміди [24].

У ході дослідження Chocian та співавторів (2010) було продемонстровано, що у щурів на фоні тритижневого харчування насиченими жирними кислотами на фоні збільшеної активності нейтральної сфінгомієлінази спостерігалося підвищення рівня керамідів і сфінгомієліну в гепатоцитах [25]. Дослідження Yang та співавторів (2009) показало, що супресія ферменту серин пальмітоїл-КоА трансферази за допомогою міріоцину (метаболіт, отриманий від грибків роду *Mucosossium albomyces*) призводила до зменшення кількості керамідів та ТГ в печінці. Результати роботи Kien та співавторів (2013) виявили зв'язок між підвищеним рівнем керамідів у плазмі крові та скелетних м'язах і збагаченим жирними кислотами раціоном харчування (пальмітатом і олеатом) у пацієнтів з ІР [73].

На активність ферменту серин пальмітоїл-КоА трансферази впливають бактеріальні ліпосахариди (зовнішня мембрана бактерій), кишкова мікробіота, прозапальні цитокіни (TNF- α , IL-1), а також оксидативний стрес [45]. У кількох дослідженнях було підтверджено, що хронічне запалення на фоні ожиріння асоціювалося із збільшеним рівнем керамідів у печінці. До того ж було продемонстровано зв'язок між рівнем ліпосахаридів у плазмі крові та збільшеною концентрацією внутрішньоклітинних керамідів [61, 159, 83]. Результати схожих досліджень також підтвердили зв'язок між підвищеним рівнем керамідів у плазмі крові та збільшеною активністю ферментів серин пальмітоїл-КоА трансферази і сфінгомієлінази [117].

Крім шляху «де ново», який є домінуючим, виділяють також шлях гідролізу мембранного сфінгомієліну, у результаті якого утворюється найбільша кількість клітинних керамідів за короткий проміжок часу. Реакція відбувається за допомогою

ферменту сфінгомелінази. Наразі вивчено три форми сфінгомелінази: кислотна, нейтральна та лужна. Серед факторів, що стимулюють кожну із цих форм, виділяють ультрафіолетове випромінювання, прозапальні цитокіни (TNF- α , IFN- γ), інфекційні чинники (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Rhinovirus* та ін.), реактивні окисні сполуки. Зокрема, вплив цих факторів на кислотну сфінгомеліназу призводить до її транслокації з лізосом на зовнішню поверхню клітинної мембрани, синтезу церамідів та утворення церамідних доменів на мембрані [1, 17]. За даними багатьох досліджень було підтверджено вплив цитокіну TNF- α через активацію сфінгомелінази на збільшення гідролізу сфінгомелієліну [48].

Цераміди можуть відновлюватися в результаті катаболізму складних сфінголіпідів з утворенням сфінгозину, який за допомогою шістьох ферментів церамідсинтази (CerS1 – 6) відновлюється до церамідів [26].

Сфінголіпідів головними компонентами будь-якої клітинної мембрани. Однак результати багатьох досліджень продемонстрували, що сфінголіпідам, а саме церамідам, властиві інші функції. Зокрема, існує чимало даних щодо їхньої ролі в розвитку IP [26].

Як відомо, основною функцією інсуліну є підтримання глюкозного гомеостазу в плазмі крові. Це відбувається шляхом взаємодії з інсуліновими рецепторами, більшість яких знаходиться в міоцитах, гепатоцитах та адипоцитах. У результаті активуються три сигнальні шляхи, найбільш потужний з яких є фосфатидилінозитол-3 кіназний шлях (phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K), із залученням протеїнкінази B (PKB або інша назва Akt). Надалі відбувається її транслокація до клітинного цитозолю, активуються рецептори GLUT-4, що сприяють абсорбції глюкози з плазми. Крім цього, Akt впливає на синтез глікогену, білків, а також жирних кислот шляхом активації фактора транскрипції SREBP-1c.

Перші дані щодо ролі церамідів у розвитку IP з'явилися в ході дослідження їхнього впливу на ізольовані міоцити та адипоцити. Результати дослідження підтвердили, що під впливом церамідів знижується інсулін-активований захват глюкози та синтез глікогену [48]. Застосування фармакологічних та генетичних

методів пригнічення синтезу керамідів у щурів з ожирінням призводило до покращення інсуліночутливості [26].

Розвиток ІР відбувається у зв'язку з пригніченням керамідами процесу фосфориляції РКВ через активацію протеїн фосфатази 2А (protein phosphatase 2A) і протеїн кінази С (РКС). У результаті цього процесу блокується переміщення Akt з мембрани до цитозолу і знижується експресія рецепторів GLUT-4 [175]. Дані щодо регуляції керамідами чутливості до інсуліну в скелетних м'язах та печінці були підтвержені в ході різних досліджень, в яких пригнічення синтезу керамідів призводило до підвищення процесу фосфориляції інсулінових рецепторів, Akt та білка mTOR (mammalian target of rapamycin) [62].

У роботі Holland та співавторів було продемонстровано вплив дексаметазону та інфузії насичених жирних кислот на підвищення накопичення керамідів у печінці щурів. Крім цього, лікування дексаметазоном призводило до порушення сигнального шляху Akt у м'язах та печінці. Однак після супресії синтезу керамідів міріоцином сигнальний шлях Akt відновлювався [62, 63]. Також фармакологічна і/або генетична абляція генів, що кодують ферменти серин пальмітоїл-КоА трансферазу, керамідсинтазу або дегідроцерамід десатуразу, відновлювала інсуліновий сигнальний шлях Akt/РКВ [27].

У дослідженні Konstantynowicz-Nowicka та співавторів (2015) був продемонстрований вплив керамідів на інші механізми розвитку ІР. Так, наприклад, у ході довготривалої експозиції пальмітинової кислоти на гепатоцити відбувалося збільшення синтезу транспортного білка жирних кислот (fatty-acid transport protein - FATP2) і транспортного білка керамідів (ceramide transfer protein - CERT), які в подальшому асоціювалися із збільшеною концентрацією внутрішньоклітинних керамідів [79].

Залежно від довжини жирних кислот кераміди виконують різні функції. Так, за результатами багатьох досліджень був зроблений висновок, що абляція другого та шостого ферментів керамідсинтази (каталізує перетворення сфінгозину в керамід) у щурів асоціювалися з впливом керамідів С16:0 на розвиток ІР [154, 126]. Зв'язок між керамідами С16:0 та ІР уперше був досліджений групою Brüning, яка

продемонструвала, що генетичне видалення шостого ферменту церамідсинтази (Cers6), який бере участь у реакції утворення церамідів C16:0 (приєднує ацильний ланцюг), попереджає зниження толерантності клітин до глюкози і розвиток ІР у щурів з ожирінням. У роботі Turpin та співавторів (2014) були оприлюднені результати, які свідчили, що в пацієнтів з ожирінням спостерігалось збільшення синтезу ферменту Cers6 та рівня церамідів C16:0 у жировій тканині. Крім того, у цих пацієнтів спостерігалась прямо пропорційна кореляція між ферментом Cers6 та розвитком ІР [154, 126]. У дослідженні Summers та співавторів було показано, що гаплонедостатність другого ферменту церамідсинтази призводила до одночасного зниження церамідів C24:0 і компенсаторного підвищення рівня церамідів C16:0. Дані процеси асоціювалися зі зниженою толерантністю клітин до глюкози та інсуліну [126].

Роль церамідів у розвитку НАЖХП та ІР була виявлена в ході дослідження Apostolopoulou та співавторів (2017), метою якого було виявлення зв'язку між сфінголіпідами та НАЖХП. У дослідженні взяв участь 21 пацієнт з ожирінням та ознаками ІР, які були поділені на три групи: пацієнти без НАЖХП, з НАЖХП та з НАСГ. У результаті дослідження було виявлено, що загальна кількість церамідів була вища в пацієнтів з НАСГ та НАЖХП 50 і 33 % відповідно. Серед церамідів, що були підвищені в пацієнтів з НАСГ, були дегідроцераміди, а саме фракції 16:0, 22:0 і 24:1 [7]. Крім того, за даними інших досліджень було підтверджено, що концентрація церамідів у пацієнтів з НАЖХП в печінці збільшена, а кількість їх прямо пропорційна ступеню важкості захворювання [112].

Підвищення рівнів церамідів C18:0, C20:0, C22:0 також спостерігалось в дітей та підлітків із ЦД 2-го типу в дослідженні Lopez та співавторів (2013). Крім цього, вищенаведені фракції церамідів корелювали з підвищеним рівнем глюкози крові, низьким рівнем адипонектину, збільшеним ІМТ, підвищеним індексом НОМА та рівнем ТГ ($p < 0,05$) [97].

Схоже дослідження було проведене Lemaitre та співавторами (2018). Воно показало, що у 2086 пацієнтів з НАЖХП, які не мали ЦД 2-го типу, спостерігалось збільшення концентрації церамідів C16:0, C18:0, C20:0, C22:0. Крім того, у цих

пацієнтів фракція керамідів С16:0 корелювала з підвищеною концентрацією вільного інсуліну ($p < 0,0001$) [90].

Дослідження Bryan, Bergman, Brozinick (2015) продемонструвало, що базальна концентрація керамідів С16:0, С18:0, С20:0, С24:1 була вища в пацієнтів із ЦД 2-го типу і позитивно корелювала з ІР [13]. Також у когортному, проспективному дослідженні Ma та співавторів (2015) було виявлено, що пальмітинова та стеаринова кислоти (С16:0, С18:0) асоціювалися з появою нових випадків ЦД 2-го типу [166].

У ході наступного дослідження Haus та співавторів (2009) було з'ясовано, що пацієнти з ожирінням і ЦД 2-го типу мали підвищений загальний рівень керамідів за рахунок фракцій С18:0, С20:0, С24:1, які обернено пропорційно корелювали з інсуліночутливістю ($p < 0,01$). Крім того, у пацієнтів з ЦД 2-го типу спостерігався кореляційний зв'язок між підвищеною концентрацією TNF- α в плазмі крові і збільшеним рівнем керамідів С18:1 і С18:0 ($p < 0,05$) [59].

Зв'язок між керамідами та ожирінням був продемонстрований у дослідженнях на пацієнтах з надлишковою масою тіла, в яких рівень керамідів у клітинах скелетних м'язів був значно вищий ніж у групі пацієнтів з нормальним ІМТ. Схожі результати були досягнуті при дослідженні пацієнтів із ЦД 2-го типу, в яких рівень керамідів у скелетних м'язах був вищий, ніж у пацієнтів без ЦД 2-го типу [4, 30]. У дослідженні Kolak та співавторів (2007) спостерігалось підвищення концентрації керамідів у жировій тканині в пацієнтів з НАЖХП, ніж у пацієнтів без НАЖХП [80].

Дослідження Watt та співавторів (2012) виявило, що жирова інфузія здоровим людям асоціювалася з підвищеним синтезом керамідів у печінці та секрецією їх у кровоносне русло в складі ЛПДНГ. У результаті, був зроблений висновок щодо компенсаторної ролі печінки в попередженні небезпечного впливу керамідів [164].

На особливу увагу заслуговує дослідження Luukkonen та співавторів (2016). Метою його було порівняння жирового складу печінки в пацієнтів з НАЖХП з ІР та пацієнтів з НАЖХП без ІР, але які були носіями варіанта І148М гена PNPLA3. У дослідженні взяли участь 125 пацієнтів, які були розподілені на пацієнтів з НАЖХП, які мали високий ($n = 62$) та низький індекс НОМА ($n = 63$), і пацієнтів з НАЖХП, які мали варіант 148 MM/MI ($n = 61$) та 148 II ($n = 64$) гена PNPLA3. Дослідження

жирового складу проводилося біопсією печінки. Результати обстеження виявили, що стеатоз та НАСГ спостерігалися однаковою мірою в усіх групах. Високий ступінь ІР відзначався в групі пацієнтів з НАЖХП та ІР у порівнянні з пацієнтами, які були носіями гена PNPLA3. При дослідженні складу жиру було виявлено, що у пацієнтів з високим та низьким ступенем ІР переважали насичені, мононасичені жирні кислоти, тригліцериди, дегідроцераміди (маркери синтезу церамідів «де ново») і цераміди. У той же час у пацієнтів з варіантами 148 MM/MI, 148 II гена PNPLA3 спостерігалось збільшення поліненасичених ТГ без суттєвих змін з боку інших видів ліпідів. У результаті авторами був зроблений висновок, що в пацієнтів з метаболічною формою НАЖХП ризик розвитку ЦД 2-го типу та серцево-судинних ускладнень більший ніж у пацієнтів з НАЖХП, які є носіями гена PNPLA3 [99].

Зміни рівня церамідів також відбуваються в плазмі крові. Одним із прикладів є дослідження De Mello і співавторів (2009). Метою його було порівняння в плазмі крові рівнів ІЛ-6, TNF- α , С-реактивного білка з концентрацією церамідів та діацилгліцеролу у пацієнтів із серцево-судинними захворюваннями. У ході роботи було виявлено сильний кореляційний зв'язок між рівнем ІЛ-6, концентрацією церамідів ($p < 0,001$) і діацилгліцеролу в плазмі крові ($p < 0,03$). До того ж у лінійній регресійній моделі TNF- α та цераміди мали незалежний вплив на рівень ІЛ-6 ($p < 0,001$). У зв'язку з цим авторами був зроблений висновок щодо ролі церамідів в індукції запального процесу, що спостерігається при ІР у пацієнтів із серцево-судинними захворюваннями [35].

У регуляції синтезу церамідів бере участь гормон адипонектин. Це було підтверджено в дослідженні на щурах, результати якого показали зниження загального рівня церамідів та підвищення чутливості до інсуліну на фоні внутрішньовенного введення адипонектину [63]. Серед імовірних механізмів впливів адипонектину на синтез церамідів є активація ферменту церамідази та перетворення церамідів на сфингозин-1-фосфат [117].

Існують дані щодо ролі церамідів у мітохондріальній дисфункції. До основних впливів церамідів на мітохондрії відносяться: підвищення проникливості мітохондріальної мембрани, утворення церамідних каналів та збільшення

внутрішньоклітинного цихрому С [31]. Крім того, зниження антиоксидантної системи мітохондрій може призводити до підвищення чутливості гепатоцитів до ушкоджувальної дії керамідів. Цераміди шляхом зниження пулу убіхінону також можуть безпосередньо впливати на інактивацію другого, третього та четвертого комплексів дихального ланцюга мітохондрій [62]. Це у свою чергу призводить до порушення процесів β -окислення жирних кислот, накопичення вільних радикалів та ТГ [112]. Крім керамідів на функціональний стан мітохондрій впливає кислотна сфінгомієліназа. У дослідженні Magi та співавторів (2008) показано, що у щурів під впливом TNF- α на фоні зниженої антиоксидантної системи відсутність кислотної сфінгомієлінази сприяла зменшенню продукції вільних радикалів [102].

Цераміди порушенням кальцієвого гомеостазу також впливають на ендоплазматичний ретикулум. Це призводить до апоптозу клітини, порушення утворення аутофагів та накопичення гепседину (акумуляція заліза) [112].

Варто зазначити, що крім основних мішеней (печінка, скелетні м'язи), дія керамідів розповсюджується й на інші органи. Зокрема, доведено вплив керамідів на β -клітини підшлункової залози, який полягає в ініціації клітинного апоптозу, запалення, мітохондріального, оксидативного та ендоплазматичного стресів з вивільненням адипокінів та фосфориліацією IRS (Insulin receptor substrate 1). Вплив керамідів на кожен із цих механізмів лежить в основі розвитку ЦД 2-го типу [48].

Враховуючи те, що кераміди циркулюють у складі різних фракцій ліпідів (ЛПНГ, ЛПДНГ), існують дані щодо ролі їх у розвитку атеросклерозу та його ускладнень (ерозія та розрив бляшки) [129]. У зв'язку з цим кераміди можуть розглядатися як маркери перебігу та прогресування різних серцево-судинних захворювань [107]. Цей факт був продемонстрований у когортному дослідженні — FINRISK 2002, яке тривало до 2014 р. за участю 8101 пацієнта віком від 25 до 74 років і метою якого було визначення зв'язку між різними видами керамідів та великими кардіоваскулярними катастрофами. У результаті було показано зв'язок між керамідами, зокрема фракціями С16:0 та С24:1, із підвищеною частотою появи нових кардіоваскулярних випадків [3].

Значимість керамідів у розвитку атеросклерозу підтвердила фракція С24:0. Так, дослідження Ichi та співавторів (2006) виявило, що загальний рівень керамідів, особливо С24:0, позитивно корелював з ліпідними фракціями, зокрема з ТГ ($r = 0,390$, $p < 0,01$), ЗХ ($r = 0,616$, $p < 0,01$), фосфоліпідами ($r = 0,614$, $p < 0,01$), вільними жирними кислотами ($r = 0,256$, $p < 0,01$) [65].

Існують дані щодо впливу керамідів на центральну нервову систему. Так, дослідження групи Summers повідомило, що на фоні дієти з високим вмістом жирів або через жирову інфузію кераміди можуть накопичуватися в гіпоталамусі [24]. У зв'язку з цим було запропоновано гіпотезу щодо впливу керамідів на енергетичний баланс у гіпоталамусі. Для підтвердження цього було дослідження, в якому Contreras та колеги продемонстрували, що кераміди в гіпоталамусі сприяють збільшенню маси тіла шляхом зниження термогенезу в бурій жировій тканині [32].

Маючи проліферативні та апоптичні властивості, кераміди також розглядаються в якості актуальних маркерів в онкологічній практиці. Цераміди - це потужні супресори пухлинного росту. Однак порушення регуляції їхнього синтезу та метаболізму призводить до підвищеного виживання пухлинних клітин та резистентності їх до хіміотерапевтичних препаратів [135].

Ґрунтуючись на огляді вищенаведених досліджень, стає зрозуміло, що на кераміди покладено не тільки фізіологічну роль, а й роль важливих посередників у патологічних процесах. Активне залучення їх у різних процесах захворювань, зокрема в НАЖХП, ІР та ЦД 2-го типу, дозволяє розглядати кераміди як потенційно один із головних маркерів прогнозу таких пацієнтів.

1.3. Сучасні методи діагностики НАЖХП

НАЖХП - це малосимптомне захворювання, яке зазвичай діагностується при обстеженні пацієнтів з приводу інших захворювань. Основні симптоми НАЖХП: дискомфорт у правому підребер'ї, диспептичні явища, слабкість. Проте, незважаючи на малоспецифічний перебіг, постановка діагнозу НАЖХП без труднощів. Адже існує чимало різних інвазивних та неінвазивних методів дослідження, що дає змогу виявити НАЖХП за умови виключення інших етіологічних чинників.

Серед найбільш практичних неінвазивних методів діагностики НАЖХП є біохімічне дослідження печінкових ферментів у плазмі крові. Вважається, що помірне підвищення АЛТ та АСТ до 4-5 норм без іншої етіології може бути єдиним проявом НАЖХП. Підвищення відбувається за рахунок АЛТ, тому індекс де Рітіса буде менше 1. Проте результати багатьох досліджень виявили, що підвищення печінкових трансаміназ може навіть не спостерігатися в пацієнтів з НАЖХП. Так, наприклад, АЛТ може бути в нормі в 60 % пацієнтів з НАЖХП та в 53 % пацієнтів з НАСГ або вираженим фіброзом печінки. Крім того, у 53 % пацієнтів з підвищеною активністю АЛТ можуть бути навіть відсутні гістологічні ознаки НАСГ [161]. Насамперед це пов'язано з тим, що метод визначення печінкових ферментів має низьку специфічність, тому що підвищення АЛТ та АСТ може спостерігатися і при різних позапечінкових захворюваннях.

У зв'язку з цим були запропоновані комплексні індекси та шкали для оцінки стеатозу печінки. Один з них - це індекс ожиріння печінки (Fatty Liver Index – FLI), що включає в себе такі показники, як ІМТ, ОТ, рівень ТГ та ГГТП у плазмі крові. Чутливість та специфічність цього індексу становить 87 і 64 % відповідно [10]. Перспективним індексом вважається індекс стеатозу печінки (Hepatic Steatosis Index – HSI), що складається з п'яти компонентів (АЛТ, АСТ, ІМТ, стать, ЦД 2-го типу). Чутливість та специфічність HSI 93 і 92 % відповідно за показником AUROC 0,81. Основним недоліком цих індексів є їхня неспроможність оцінити ступінь стеатозу [89, 132].

Для оцінки стеатозу печінки також застосовується «СтеатоТест» (Biopredictive, Париж, Франція). В основі цього тесту оцінка 10 біохімічних показників, а також віку, статі, маси тіла та зросту. При порівнянні з іншими класичними маркерами стетозу було виявлено, що за показником AUROC діагностична цінність «СтеатоТесту» була 0,80, у той же час цінність ГГТП була 0,66, АЛТ 0,61, УЗД 0,65 ($p < 0,0001$). До того ж результати порівняння з біопсією печінки показали, що чутливим маркером ефективності лікування вважається «СтеатоТест». Серед недоліків цього тесту є його малодоступність, а також висока вартість [110].

Основними маркерами запального процесу, що виникає під час НАСГ, є цитокератин-18, С-реактивний білок, ІЛ-6,8, TNF- α , продукти окислення ліпідів, адипокіни (лептин, адипонектин), феритин та інші [167]. Серед них найбільш вивченим вважається цитокератин-18 – філаментний білок, який є маркером апоптозу гепатоцитів (фрагмент M30) або клітинної смерті (фрагмент M65). За даними мета-аналізу 11 досліджень виявлено, що чутливість та специфічність цитокератину-18 при НАСГ становить 66 та 82 % відповідно. Однак незважаючи на низьку чутливість, дослідження цитокератину-18 у складі діагностичних панелей, таких як діагностична панель НАСГ (NASH Diagnostic Panel), підвищує шанси підтвердження діагнозу НАСГ за показником AUROC 0,81. Панель НАСГ, крім цитокератину-18, включає стать пацієнта, наявність ЦД 2-го типу, ІМТ та загальний рівень ТГ [180].

До неінвазивних методів дослідження в якості скринінгу НАСГ використовується тест «NASHTest» (Biopredictive). В його основі оцінка таких показників: вік, стать, зріст, маса тіла, рівень ТГ, холестерину, аполіпропротеїнів, гаптоглобіну, ГГТП, АЛТ, АСТ та загального білірубіну. Діагноз НАСГ виставляється за гістологічною шкалою Kleiner, а саме НАСГ, пограничний НАСГ та відсутність НАСГ [77]. Чутливість та специфічність цього тесту в ході дослідження за участю 257 пацієнтів з НАЖХП була 0,80 за показником AUROC [110].

Для ранньої діагностики фіброзу та цирозу печінки застосовують діагностичні шкали [5]. Серед них найбільш точною та загальноприйнятою є шкала фіброзу НАЖХП (NAFLD fibrosis score). До шкали входять такі показники: вік, ІМТ, ЦД 2-го типу, відношення АСТ до АЛТ, рівень тромбоцитів та альбуміну. Точність виявлення фіброзу F3 за показником AUROC становить 0,82. За даними досліджень, шкала фіброзу НАЖХП може бути використана для прогнозування печінкової декомпенсації, а також летальності пацієнтів з НАЖХП [77, 171].

В якості діагностики фіброзу печінки Європейська асоціація з дослідження печінки (European Association for the Study of the Liver - EASL) рекомендує діагностичну панель ELF (Enhanced Liver Fibrosis), в яку входять три маркера фіброзу, а саме гіалуронова кислота, проколаген 3 та інгібітор металопротеїнази-1. За даними

досліджень точність панелі у прогнозуванні вираженого фіброзу в пацієнтів з НАЖХП становила 0,93 за показником AUROC [54].

Серед індексів, що також використовуються для діагностики фіброзу, є індекс фіброзу-4 (Fibrosis-4 - FIB-4), який включає в себе вік, АСТ, АЛТ та рівень тромбоцитів. Точність індексу у виявленні фіброзу F3 за показником AUROC становить 0,83 [143].

Універсальним прийнятим маркером оцінки фіброзу печінки є «ФіброТест» (Biopredictive, Париж, Франція), який входить у групу тестів «ФіброМакс», що включає також «СтеатоТест» та «NASHTest». Тест складається з п'яти серологічних показників, а саме: білірубіну, ГГТП, аполіпропротеїну А1, альфа2-макроглобуліну та гаптоглобіну. Фіброз оцінюється від 0 до 1 за класифікацією METAVIR. Результати недавнього мета-аналізу досліджень виявили, що в пацієнтів з НАЖХП ефективність «ФіброТесту» у виявленні вираженого фіброзу за показником AUROC становила 0,84 (95 % ДІ, 0,76 - 0,92) [110].

Особливе місце в діагностиці НАЖХП займають візуалізуючі методи дослідження. До них, перш за все, відноситься УЗД, комп'ютерна томографія (КТ) або магнітно-резонансна томографія (МРТ). Серед головних переваг є їхня малоінвазивність, оцінка більшої площі паренхіми печінки, а також кількісна характеристика змін, що виникають у печінці [105].

Серед візуалізуючих методів у зв'язку з доступністю та низькою вартістю найбільш практичне місце займає УЗД. До основних сонографічних ознак НАЖХП відносять підвищення ехогенності печінки, гепатомегалію та інтраваскулярну розмитість. Чутливість та специфічність цього методу в діагностиці НАЖХП становить 79,7 і 86,2 % відповідно при умові, якщо стеатоз печінки більше 30 % [21]. Головними недоліками УЗД є суб'єктивність цього методу та відсутність чітких критеріїв оцінки ступеня стеатозу, стеатогепатиту та фіброзу печінки. Крім того, чутливість УЗД обернено пропорційна ІМТ [139, 44].

Одним із широко використовуваних різновидів УЗД для оцінки фіброзу печінки є метод транзиторної еластографії (Fibroscan), в основі якого лежить визначення ступеня жорсткості паренхіми печінки під час проходження ультразвукової хвилі.

Згідно з рекомендаціями EASL, еластографія застосовується в пацієнтів з НАЖХП як метод виявлення фіброзу та цирозу печінки. У мета-аналізі за участю 854 пацієнтів з НАСГ чутливість та специфічність еластографії у визначенні фіброзу F3 становила 82 %, а F4 92 % (за шкалою METAVIR). Проте, за умови стадії фіброзу F2, чутливість та специфічність еластографії становили лише 75 % [84]. Основними обмеженнями до використання еластографії є наявність асцити та ожиріння (ІМТ > 30). Крім того, слід враховувати такі фактори, як синдром цитолізу, позапечінковий холестаза або застійна серцева недостатність, оскільки вони підвищують жорсткість тканини печінки, тим самим призводячи до гіпердіагностики фіброзу печінки [109].

У діагностиці НАЖХП також використовується КТ. Специфічність та чутливість цього методу 100 і 82 % відповідно [88]. Однак обмежена здатність виявлення незначного або помірною стеатозу, променеве навантаження та висока вартість унеможливають використання цього методу в рутинній практиці [88].

Для кількісної та якісної оцінки НАЖХП використовують МРТ. Основними перевагами МРТ перед іншими візуалізуючими методами є його здатність визначати мінімальний ступінь стеатозу менш ніж 5,56 % з чутливістю майже 100 %, у зв'язку з чим метод є корисним не тільки для діагностики, а й для контролю за ефективністю лікування [128]. Поряд з цим МРТ володіє високою специфічністю до ТГ, які є основним гістологічним компонентом стеатозу. На відміну від КТ МРТ має мінімальну променеву експозицію, що робить цей метод безпечним для всіх груп пацієнтів.

Однією з різновидностей МРТ є магнітно-резонансна спектроскопія. Метод, який визначає протонні сигнали, що надходять з ТГ, розташованих у гепатоцитах, та дозволяє оцінити їхній кількісний склад [22]. Але, метод дороговартісний, складний у виконанні, і не всі апарати МРТ обладнані режимом спектроскопії.

До інструментальних методів дослідження НАЖХП також відноситься пункційна біопсія - метод, який дозволяє оцінити наявність та ступінь стеатозу, активність запального процесу та фіброзу печінки. Значення біопсії печінки було підтверджено в дослідженні Gaidos та співавторів (2008). У ньому було показано, що проведення біопсії на ранніх стадіях дозволяє вчасно розпочати лікування й

попередити ризик прогресування захворювання. До того ж рання біопсія асоціювалась із кращим прогнозом виживання пацієнтів з НАЖХП [47]. Результати найбільш цитованого дослідження Skelly та співавторів (2001) також обґрунтовують роль біопсії печінки. При проведенні 354 біопсій пацієнтам з необґрунтованим підвищенням трансаміназ у 66 % було виявлено НАЖХП, з яких у 50 % спостерігалися гістологічні ознаки стеатогепатиту [140].

Проте треба зазначити, що крім переваг процедура має також достатню кількість недоліків, які обмежують її використання в повсякденній практиці. Насамперед мова йде про інвазивність методу, тобто ускладнення, що можуть виникати під час або після проведення біопсії. За частотою випадків до основних постбіопсійних ускладнень відносять: больовий синдром (0,056 – 22 %), атріовенозна фістула (5,4 %), внутрішньочеревну чи внутрішньопечінкову кровотечу (до 0,7 %), біліарний перитоніт (0,03-0,22%) та інші ускладнення (до 0,01 %). Летальність становить 0,01 % [101, 114].

Принциповим моментом, що допомагає в правильній оцінці морфологічної картини, вважається розмір біоптату. Однак навіть при взятті біоптату його частка буде становити 1/50000 частини печінки, тим самим підвищуючи ризик помилки, що виникає при різних нерівномірних вогнищевих ураженнях печінки [152]. Дослідження Merriman та співавторів (2006) продемонструвало, що при проведенні біопсії печінки у 1/4 випадків було хибне виключення НАСГ, а у 1/3 випадків була неправильна оцінка активності фіброзного процесу [108].

Одним із головних недоліків біопсії вважається її залежність від досвіду та кваліфікації морфолога. У зв'язку з цим запропоновано стандартизовані гістологічні шкали для оцінки морфологічної картини. До них відноситься NAS (NAFLD Activity Score), яка оцінює стеатоз печінки, балонну дистрофію гепатоцитів та лобулярне запалення. Однак дана шкала має ряд обмежень та недоліків, тому EASL рекомендує використовувати її тільки для оцінки важкості стеатозу, а не для встановлення діагнозу НАЖХП [18]. Наразі найбільш точною та практичною вважається шкала SAF (Steatosis, Activity, Fibrosis). Вона була запропонована Bedossa та співавторами

(2012) і включає в себе оцінку активності процесу, а також стадію стеатозу та фіброзу печінки [11].

Широка розповсюдженість НАЖХП, а також обмеження, ризику та дороговартісність різних методів діагностики НАЖХП є стимулами до пошуків нових малоінвазивних методів, основними характеристиками яких повинні бути практичність, низька вартість та точність. У зв'язку з цим актуальним на сьогодні є пошук сироваткових біомаркерів.

1.4 Сучасні проблеми лікування НАЖХП у хворих на ЦД 2-го типу

Основною метою лікування НАЖХП є зменшення стеатозу та попередження прогресування захворювання. Тому при лікуванні НАЖХП треба враховувати ряд особливостей, вплив на які дозволить підвищити ефективність терапії та покращити прогноз пацієнтів. Зокрема, треба пам'ятати, що НАЖХП тісно пов'язана з ЦД 2-го типу, ожирінням та ІР. Тому лікувальні стратегії НАЖХП повинні бути взаємопов'язані та підсилювати одна одну. Крім того, треба враховувати, що НАЖХП є причиною печінкових (ГЦК, цироз печінки) та позапечінкових (серцево-судинні захворювання, ниркова недостатність) ускладнень, а отже, допомога цим пацієнтам не повинна бути відтермінована. На жаль, на сьогоднішній день не існує єдиних стандартизованих та індивідуалізованих стратегій лікування НАЖХП. Проте існують загальні підходи, дотримання яких дозволяє досягти основної мети лікування.

Особливе місце в лікуванні НАЖХП займає модифікація способу життя, що включає в себе дотримання дієти, зменшення маси тіла та фізичну активність. Недавні дослідження показали, що низькокалорійний раціон харчування та фізичні навантаження протягом 6 - 12 місяців, зменшували активність ферментів (АСТ, АЛТ, ГГТП), внутрішньопечінкову концентрацію ТГ та покращували метаболічний профіль [86]. Крім того, при проведенні біопсії печінки було відзначено покращення морфологічної картини за рахунок зменшення стеатозу, запалення та фіброзу печінки [121, 57, 37].

За рекомендаціями EASL, оптимальне зменшення маси тіла вважається 7 - 10% (рівень доказовості B1). Promrat та співавтори (2010) провели рандомізоване, контрольоване дослідження, метою якого було дослідження впливу дієти та фізичної

активності на гістологічну картину печінки в пацієнтів з НАСГ. У ході роботи було виявлено, що у 67 % пацієнтів на фоні модифікації способу життя спостерігалось покращення гістологічної картини за шкалою активності НАЖХП. При дослідженні впливу зміни способу життя на фіброз у пацієнтів з НАСГ було виявлено, що зменшення маси тіла на 10 % і більше від загальної маси тіла асоціювалося зі значною регресією фіброзу [51]. Систематичний огляд та мета-аналіз рандомізованих, контрольованих досліджень підтвердив вплив зменшення маси тіла на зниження активності АЛТ та покращення гістологічної картини печінки [81]. Проте треба зазначити, що навіть зменшення 5 % маси від загальної маси тіла призводить до нормалізації активності трансаміназ та зменшення ступеня стеатозу печінки [146].

Основними методами зниження маси тіла є дієта та фізичні навантаження. Так, при проведенні шестимісячного рандомізованого, контрольованого дослідження було виявлено, що низькокалорійна дієта та обмеження жирів у раціоні харчування призводили до зменшення кількості внутрішньопечінкових ТГ та нормалізації активності АЛТ у плазмі крові [58]. У ході наступного дослідження порівнювався вплив високовуглеводної (більше 180 г/день) і низьковуглеводної дієти (менше 60 г/день) у пацієнтів з ожирінням. У результаті було продемонстровано, що низьковуглеводна дієта в комбінації зі зниженням маси тіла призводила до зниження концентрації внутрішньопечінкових ТГ та підвищення чутливості гепатоцитів до інсуліну [76]. У дослідженні Ryan (2013) при порівнянні впливу середземноморської дієти з висококалорійною дієтою протягом 6 тижнів було виявлено підвищення чутливості клітин печінки до інсуліну на фоні середземноморської дієти [131].

За даними мережі по клінічному дослідженню НАСГ (Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network), 54 % пацієнтів з НАЖХП ведуть сидячий спосіб життя й тільки від 20 до 26 % пацієнтів займаються помірними та важкими фізичними навантаженнями [75]. Фізична активність є невід'ємною частиною метаболічного контролю й важливим етапом у лікуванні НАЖХП. За рекомендаціями EASL, фізична активність повинна включати в себе 150 - 200 хв/тиждень помірних, аеробних фізичних навантажень, таких як швидка ходьба або плавання. За результатами крос-секційних досліджень було показано взаємозв'язок між фізичною активністю та

зменшенням кількості внутрішньопечінкового жиру [51]. Пілотне дослідження за участю 19 пацієнтів з ожирінням і НАЖХП продемонструвало, що чотиритижневе аеробне тренування асоціювалося зі значним зменшенням об'єму вісцеральної жирової тканини, зниженням внутрішньопечінкових ТГ та рівня вільних жирних кислот у плазмі крові [68]. Схожі результати були продемонстровані в дослідженні, в якому було виявлено, що 16-тижневе помірної активності тренування протягом 30 - 60 хв у день 5 разів на тиждень асоціювалося зі зниженням внутрішньопечінкових ТГ на 10 % за даними магнітно-резонансної спектроскопії [145]. Надмірні фізичні навантаження зменшували вірогідність розвитку НАСГ на 35 % [51]. Силовий тренінг (resistance training) також є дуже корисним в лікуванні пацієнтів з НАЖХП. Це було продемонстровано в ході 8-тижневого дослідження, протягом якого пацієнти з НАЖХП впродовж 45 - 60 хв виконували 8 вправ тричі на тиждень. Після завершення дослідження було виявлено помірне зменшення концентрації внутрішньопечінкових ТГ та підвищення чутливості клітин до інсуліну незалежно від втрати маси тіла [55].

Вплив модифікації способу життя був також продемонстрований на церамідах. Так, у дослідженні Kasumov та співавторів (2015) було з'ясовано, що 12-тижневе тренування (5 днів на тиждень упродовж однієї години) призводило до зниження концентрації церамідів C14:0, C16:0, C18:1 і C24:0 у пацієнтів з ожирінням та ЦД 2-го типу ($p < 0,05$) [72]. Також позитивний вплив фізичного навантаження на зниження загального рівня церамідів був досягнутий у дослідженні Dubé та співавторів (2011) [36].

У ході наступного дослідження було підтверджено позитивний вплив зниження маси тіла на експресію генів, що кодують різні ферментні системи синтезу церамідів, зокрема гена серинпальмітоїлтрансферази 1 (serine palmitoyltransferase - SPTLC 1) ($p = 0,005$) [125].

Основними показаннями до медикаментозного лікування НАЖХП є прогресування НАСГ (фіброз, цироз), ранні стадії НАСГ з високим ризиком прогресування фіброзу (вік старше 50 років, ЦД 2-го типу, МС), а також НАСГ з активним некрозапальним процесом. На жаль, на даний час не існує специфічного лікування НАЖХП. У зв'язку з цим використовуються препарати для

патогенетичного лікування НАЖХП, основними властивостями яких повинні бути безпечність та переносимість [39].

З огляду на те, що в основі патофізіологічних механізмів розвитку НАЖХП лежить ІР та МС, призначають препарати, які покращують інсуліночутливість (інсулінові сенситайзери). До них, перш за все, відноситься група бігуанідів (метформін) та група тiazолідиндіонів (піоглітазон, розіглітазон).

У ході досліджень з оцінки ефекту метформіну було виявлено, що прийом препарату знижує ступінь ІР та активність печінкових ферментів (АЛТ, АСТ). Ефект препарату обумовлений зниженням процесу глікогеногенезу та пригніченням продукції ТГ. Однак за результатами рандомізованих, контрольованих досліджень прийом метформіну не покращував гістологічну картину в пацієнтів з НАЖХП (стеатоз, запалення, фіброз) [92]. Проте, маючи антидіабетичний ефект, метформін доречно застосовувати в пацієнтів як з ІР, так і з ЦД 2-го типу. За даними преклінічних досліджень, метформін продемонстрував протипухлинну дію, яка доречна на фоні ГЦК [14].

Вплив метформіну на рівень керамідів досліджувався в роботах Zabielski та співавторів (2017). У них було показано, що метформін знижував загальну концентрацію керамідів та фракцію С16:0 у печінці щурів. Крім того, автори у своєму наступному дослідженні також підтвердили вплив метформіну на зниження концентрації керамідів у клітинах скелетних м'язів [182, 183].

У ході наступного дослідження вивчення впливу метформіну на рівень керамідів було виявлено, що метформін знижував загальну концентрацію керамідів у плазмі крові в пацієнтів з ожирінням та ЦД 2-го типу з $8,06 \pm 0,2$ до $6,06 \pm 0,3$ г/дл ($p < 0,001$) [43].

Для лікування НАЖХП застосовують агоністи рецепторів PPAR (peroxisome proliferator-activated receptor) – тiazолідиндіони (глітазони). Серед яких найбільш вивченими вважаються піоглітазон та розіглітазон. Вони підвищують чутливість клітин жирової, м'язової тканини, а також гепатоцитів до інсуліну, збільшують рівень адипонектину та покращують процеси окислення жирних кислот. При проведенні Voettcher та співавторами (2012) мета-аналізу 4 рандомізованих, контрольованих

досліджень (3 з піоглітазоном та 1 з розіглітазоном) було виявлено вплив препаратів на зниження ступеня стеатозу та запалення в печінці. Проте дослідження не виявило ефекту препаратів на регресію фіброзу печінки [16]. Ефект піоглітазону досліджувався під час шестимісячного рандомізованого, плацебо-контрольованого дослідження, в якому взяло участь 55 пацієнтів з НАСГ і ЦД 2-го типу. Метою дослідження було порівняння впливу на перебіг НАЖХП і ЦД 2-го типу гіпокалорійної дієти в поєднанні з піоглітазоном (до 45 мг/день) з гіпокалорійною дієтою та плацебо. У ході дослідження було виявлено, що у пацієнтів, які приймали піоглітазон, спостерігалось зниження кількості жиру в печінці, покращення чутливості до інсуліну та нормалізація амінотрансфераз. А при проведенні біопсії печінки в пацієнтів на фоні прийому піоглітазону в порівнянні з плацебо відзначалося зменшення ступеня стеатозу та запалення. Однак прийом піоглітазону не впливав на регресію фіброзу [12]. До основних побічних дій глітазонів належить збільшення маси тіла, зниження мінералізації кісток та переломи. Недоліком препаратів є їхній нестійкий ефект, а саме погіршення гістологічної картини після відміни їх. У результаті отриманих даних щодо збільшеного ризику появи інфаркту міокарда у щурів на фоні прийому розіглатозу, було обмежено препарат у лікуванні НАЖХП [137]. Тому найбільш доступним і безпечним препаратом у лікуванні пацієнтів з НАСГ, ІР та ЦД 2-го типу із групи глітазонів вважається піоглітазон.

Піоглітазон показав свою ефективність і в зниженні концентрації керамідів. Так, у ході роботи Warshauer та співавторів (2015) було виявлено, що прийом піоглітазону призводив до зниження рівня керамідів C18:0 ($p = 0,001$), C20:0 ($p = 0,0004$), C24:1 ($p = 0,009$) у пацієнтів з МС [165].

Зважаючи на роль оксидативного стресу в розвитку НАСГ, актуальним є призначення антиоксидантних препаратів, таких як вітамін Е (токоферол). У дослідженні PIVENS (Pioglitazone, Vitamin E, or Placebo for Nonalcoholic Steatohepatitis) було продемонстровано, що прийом вітаміну Е в дозі 800 МО/день протягом 96 тижнів зменшував ступінь стеатозу, лобулярне запалення в печінці та прискорював регресію НАСГ у 36 % пацієнтів в порівнянні з плацебо. Однак тривалий прийом токоферолу асоціювався з побічними діями. Так, за даними

досліджень, вітамін Е підвищував загальну смертність, ризик геморагічного інсульту та раку передміхурової залози у чоловіків віком старше 50 років.

Для лікування НАСГ застосовують цитопротекторні препарати, враховуючи їхню роль у попередженні апоптозу та пригніченні запального каскаду. До цієї групи відносяться урсодеоксихолієва кислота (УДХК) та пентоксифілін. Значення УДХК у лікуванні НАСГ було продемонстровано в кількох рандомізованих, контрольованих дослідженнях, що виявили її ефект в покращенні біохімічних показників без впливу на гістологічну картину в цілому.

Крім УДХК в лікуванні НАСГ застосовують пентоксифілін. Препарат має протизапальні властивості та зменшує синтез TNF- α і вільних радикалів. У ході дослідження Zein та співавторів (2011), в якому взяло участь 55 пацієнтів, які приймали пентоксифілін, було виявлено покращення морфологічної картини НАСГ за шкалою NAS (1,6 раза) в порівнянні з плацебо (0,1). Ступінь фіброзу на фоні прийому пентоксифіліну та плацебо зменшився на 35 і 13 % відповідно [184]. Також при проведенні рандомізованого, контрольованого дослідження за участю 30 пацієнтів з НАСГ було відзначено зменшення стеатозу печінки та балонної дистрофії гепатоцитів на фоні 12-місячного прийому пентоксифіліну. Однак ефект при порівнянні з плацебо був незначний. Незважаючи на безпечність препарату і толерантність пацієнтів до пентоксифіліну, для впровадження препарату в якості основної стратегії лікування НАЖХП необхідні подальші дослідження [157].

Перспективним препаратом у лікуванні НАЖХП є обетихолева кислота – агоніст фарсеноїдного X рецептора. У дослідженні FLINT (The Farnesoid X Receptor (FXR) Ligand Obeticholic Acid in NASH Treatment Trial), на стадії Ib, 72-тижневий прийом обетихолевої кислоти пацієнтами з НАСГ покращував гістологічну картину НАСГ та зменшував фіброз печінки [115, 181]. Обнадійливі результати щодо покращення гістологічної картини в пацієнтів з НАСГ без погіршення фіброзу показав агоніст PPAR- α/δ - елафібранор. Препарат зменшує кардіометаболічний ризик та добре переноситься пацієнтами [127].

Таким чином, незважаючи на великий обсяг літературних даних щодо механізмів розвитку та прогресування НАЖХП, остаточної крапки в лікуванні

НАЖХП ще не поставлено. Детальне вивчення ролі церамідів у прогресуванні НАЖХП та у розвитку ІР і ЦД 2-го типу становить науковий інтерес і є актуальною проблемою в гастроентерології.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Характеристика груп пацієнтів

Дана наукова робота виконана на базі кафедри внутрішньої медицини № 1 Національного медичного університету імені О. О. Богомольця в умовах гастроентерологічного та терапевтичного відділень у період 2018 - 2020 рр. Упродовж цього періоду було обстежено 102 пацієнта з НАЖХП, які були поділені на три групи. До першої групи входили пацієнти з ЦД 2-го типу (51 пацієнт), до другої групи - пацієнти без ЦД 2-го типу з індексом НОМА від 2,5 до 5,0 (51 пацієнт). У ході роботи з двох вищенаведених груп була утворена додаткова третя група, в яку входили пацієнти з дисліпідемією (20 пацієнтів). До контрольної групи ввійшли 20 практично здорових осіб з відсутністю будь-яких скарг і патологічних змін при опитуванні та фізикальному обстеженні. Показники лабораторних та інструментальних методів дослідження відповідали середнім цифрам, характерним для здорових людей.

Обстеження були виконані згідно з міжнародними стандартами, дослідження було схвалено комісією з питань біоетичної експертизи та етики наукових досліджень при Національному медичному університеті імені О. О. Богомольця № 116 від 29.11.2018 р. та відповідало Гельсінській декларації Всесвітньої медичної асоціації "Етичні принципи медичних досліджень за участю людини у якості об'єкта дослідження" 1964 р. (перегляд 2008 р). Усі пацієнти були проінформовані про мету та завдання дослідження, а також можливість будь-коли припинити участь у дослідженні. Згода хворих на участь у дослідженні була підтверджена підписанням відповідного документа.

Діагнози НАЖХП та ожиріння були підтверджені згідно з Наказом Міністерства охорони здоров'я України № 826 від 06.11.2014 р. «Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги: неалкогольний стеатогепатит» та критеріїв European Association for the Study of the Liver (EASL) і European Association for the Study of Obesity (EASO), 2016 р. Діагноз ЦД 2-го типу був підтверджений згідно з Наказом Міністерства охорони здоров'я № 1118 від 21.12.2012 р. «Уніфікований клінічний протокол первинної та вторинної (спеціалізованої)

медичної допомоги при цукровому діабеті 2-го типу» та критеріїв European Association for the Study of Diabetes (EASD), ADA, 2019 р.

Наявність НАЖХП визначали на підставі анамнезу, клінічних ознак, підвищеного рівня біохімічних маркерів функції печінки (АсАТ, АЛАТ) та інструментальних досліджень (УЗД: стеатометрія – збільшення коефіцієнта затухання). Для виключення вживання алкоголю використовувалися спеціальні опитувальники. GAGE-опитувальник, за яким наявність 2 та більше балів указували на вживання алкоголю [66]; опитувальник AUDIT, за яким наявність 8 та більше балів для чоловіків до 60 років та 4 і більше балів для жінок та чоловіків після 60 років указували на позитивний результат [66]. Ультразвуковими критеріями НАЖХП, досліджуваними на апараті Ultrason soneus P7 (Україна, 2016) з конвексним датчиком 1–6 МГц, були: дистальне затухання ехосигналу; дифузна гіперехогенність паренхіми печінки, збільшення ехогенності печінки в порівнянні з нирками; нечіткість судинного малюнка.

Для досягнення мети було обстежено 102 пацієнта з НАЖХП, які були поділені на три групи. До першої групи входили пацієнти з НАЖХП та ЦД 2-го типу. Група складалася з 51 пацієнта: 27 чоловіків і 24 жінки. До критерію включення в дослідження входили:

1. Пацієнти з НАЖХП, які мали ЦД 2-го типу.
2. Пацієнти з уперше виявленим ЦД 2-го типу при умові, глюкози натще $\geq 7,0$ ммоль/л, рівень глюкози $> 11,1$ ммоль/л після тесту з навантаженням глюкози, рівень HbA1C $\geq 6,5$ %.

До другої групи входили пацієнти з НАЖХП без ЦД 2-го типу. Група складалася з 51 пацієнта: з 28 чоловіків і 23 жінки. До критерію включення в дослідження входили:

1. Пацієнти з НАЖХП, індекс НОМА від 2,5 до 5,0; рівень глюкози $\leq 5,6$ ммоль/л; рівень HbA1c $< 6,5$ %.
2. Пацієнти з порушенням глікемії натще - $\leq 7,8$ ммоль/л після глюкозотолерантного тесту.

3. Пацієнти з порушенням толерантності до глюкози – 7,8 - 11,0 ммоль/л після глюкозо-толерантного тесту.
4. Пацієнти з ІМТ від 25,0 до 40.

До третьої групи входили пацієнти з дисліпідемією, в яких були показання для призначення статинів (SCORE та за таблицею «Intervention strategies as a function of total CV risk and LDL-C level») [40]. Група складалася з 20 пацієнтів: 12 чоловіків і 8 жінок. Критеріями включення до цієї групи були:

1. Рівень ЗХ > 5,2 ммоль/л.
2. Рівень ЛПВГ < 1,03 ммоль/л для чоловіків, < 1,27 для жінок.
3. Рівень ТГ > 1,7 ммоль/л для жінок та чоловіків.
4. Рівень ЛПНГ > 2,5 ммоль/л.

До критерію виключення з дослідження належали:

1. Вірусні, паразитарні, бактеріальні, токсичні гепатити.
2. Метаболічні захворювання печінки.
3. Пацієнти, які вживали алкоголь (>1 стандартної дози).
4. Пацієнти, з ЦД 1-го типу.
5. Пацієнти, з індивідуальною чутливістю до метформіну, розувастатину.
6. Морбідне ожиріння (ІМТ більше 40).
7. Пацієнти із захворюваннями щитовидної залози.
8. Вагітність.
9. Прийом медикаментів для зниження маси.
10. Психічні проблеми.
11. Хронічні захворювання шлунково-кишкового тракту (ШКТ) з порушенням функції всмоктування.
12. Гострі та хронічні запальні процеси, дифузні захворювання сполучної тканини.
13. Онкологічні захворювання.
14. Логістичні проблеми (далеке проживання пацієнта).

Пацієнти, які входили до основних груп (НАЖХП з ЦД 2-го типу та без ЦД 2-го типу), були обстежені на початку дослідження, а також у динаміці через 3 та 6 місяців. Пацієнти першої групи крім модифікації способу життя в якості лікування

додатково приймали метформін у дозі 500 мг 2 рази на добу. Хворим, які входили до другої групи в якості лікування було запропоновано модифікацію способу життя, а саме: поступове зниження маси тіла (від 7 до 10 % маси тіла) протягом 6 місяців; помірні, дозовані, аеробні фізичні навантаження (150 - 200 хв/тиждень 3 - 5 разів на тиждень); зміна раціону харчування (відповідно до рекомендацій лікування НАЖХП та ЦД 2-го типу) [40].

З обох груп були відібрані пацієнти, які мали лабораторні ознаки дисліпідемії. Крім зміни способу життя та прийому метформіну їм був рекомендований прийом статинів, а саме розувастатин у дозі 10 мг на добу. Дизайн дослідження був погоджений Комісією з питань біоетичної експертизи та етики наукових досліджень при Національному медичному університеті імені О. О. Богомольця № 116 від 29.11.2018 р. (рис 2.1.1)

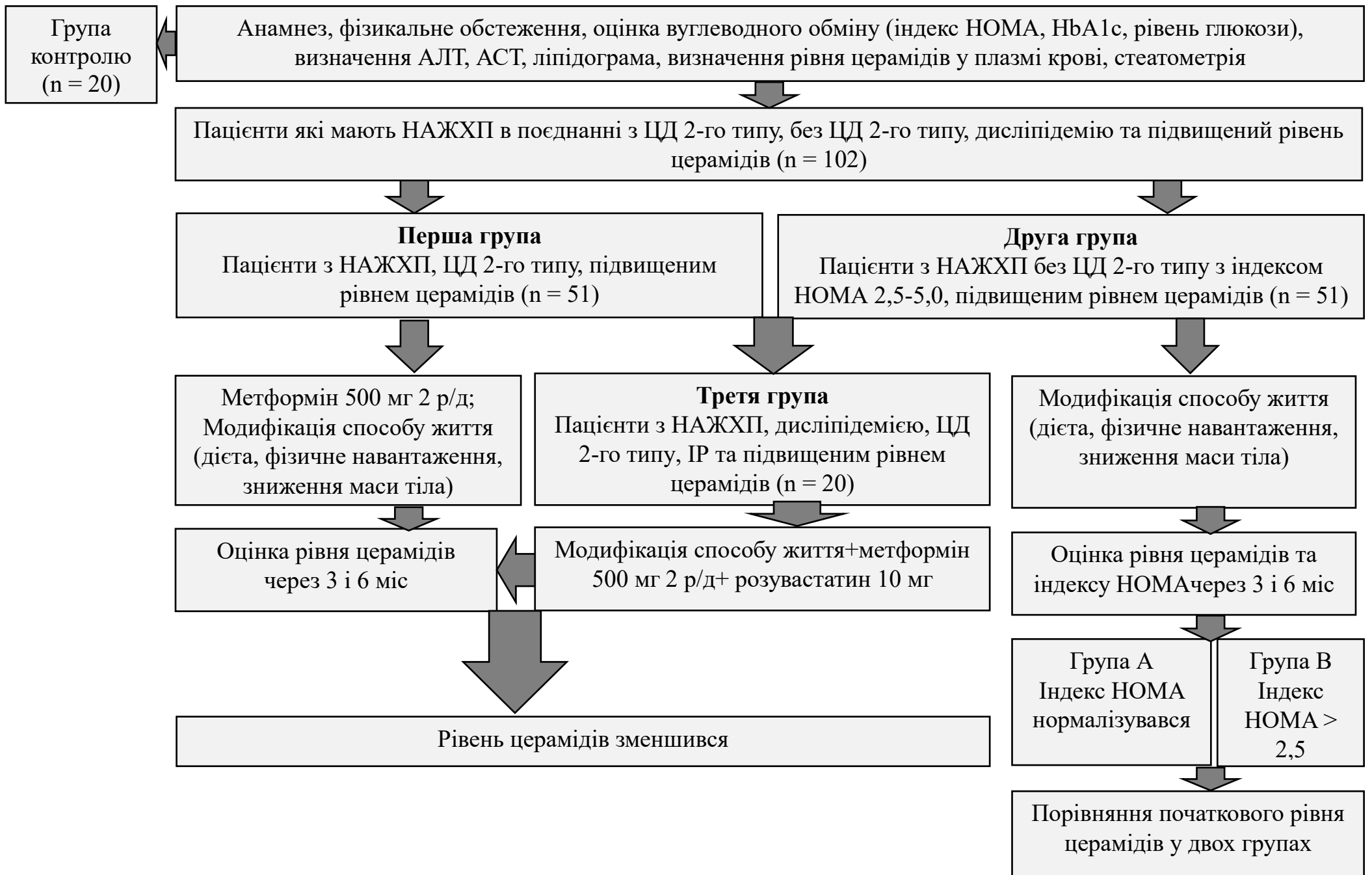


Рисунок 2.1.1. Дизайн дослідження

Серед пацієнтів, які взяли участь у дослідженні, кількість чоловіків становила 54 % (55), жінок 46 % (47). Статистично значущих відмінностей по гендерному розподілу не отримано (Chi square – $p > 0,05$).

У першій групі співвідношення чоловіків і жінок було 52,9 % (27) та 47,1 % (24), у другій групі 54,9 % (28) та 45,1 % (23), у групі пацієнтів з дисліпідемією 60 % (12) та 40 % (8) відповідно. Середній вік пацієнтів першої та другої групи – $54,3 \pm 7,2$ років. Середній вік пацієнтів третьої групи - $64,9 \pm 1,4$ років. У дослідженні брали участь пацієнти віком від 38 до 66 років, середній вік – $54,3 \pm 7,2$ років. У групі контролю чоловіків було 55 % (11), жінок – 45 % (9) (табл. 2.1.1 та рис. 2.1.2, 2.1.3).

Пацієнти були розподілені згідно з класифікацією вікових періодів життя людини ВООЗ.

Таблиця 2.1.1. Розподіл хворих за віком та статтю

Вік, роки	Усього (n = 102)		Перша група n = 51		Друга група n = 51	
			чоловіки	жінки	чоловіки	жінки
	n	%	n		n	
Усього	102	100,0	27	24	28	23
Молодий 25 - 44	9	8,82	2	2	3	2
Середній 45 - 59	69	67,64	18	18	18	16
Похилий 60 - 70	24	23,52	7	4	7	5

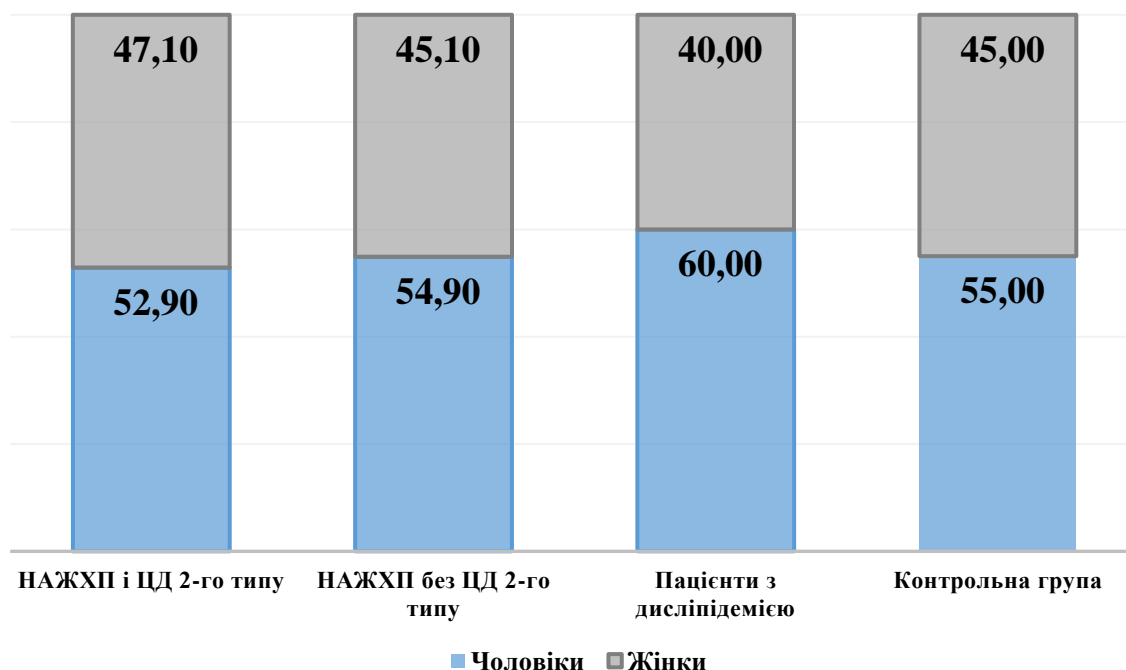


Рисунок 2.1.2. Гендерний розподіл у різних групах (%)

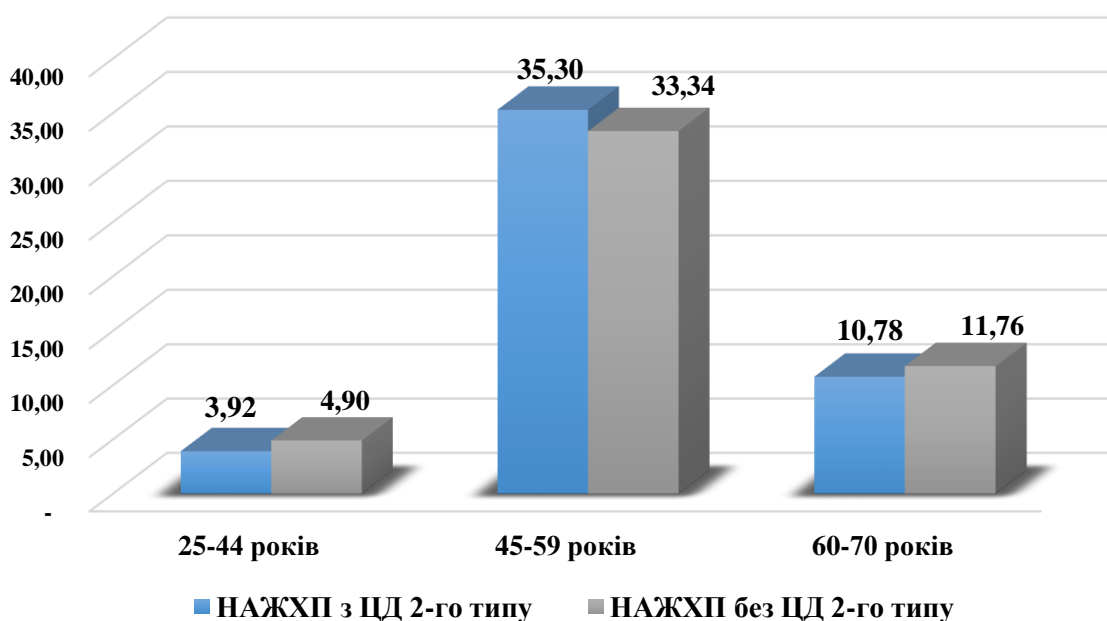


Рисунок 2.1.3 Розподіл хворих за віком (%)

У групі пацієнтів з НАЖХП і ЦД 2-го типу 4 хворих (3,9 %) мали вік від 25 до 44 років, від 45 до 59 років – 36 хворих (35,4 %) і від 60 - 70 років було 11 (10,7 %) хворих. В другій групі 5 хворих (4,9 %) мали вік від 25 до 44 років, від 45 до 59 років – 34 хворих (33,4 %) і від 60 - 70 років було 12 хворих (11,7

%). Більшість пацієнтів належали до найбільш працездатної категорії, а саме до середнього віку, що підкреслювало високу соціально-економічну значимість проблеми.

Розподіл пацієнтів за тривалістю захворювання на НАЖХП наведені на рисунку 2.1.4.

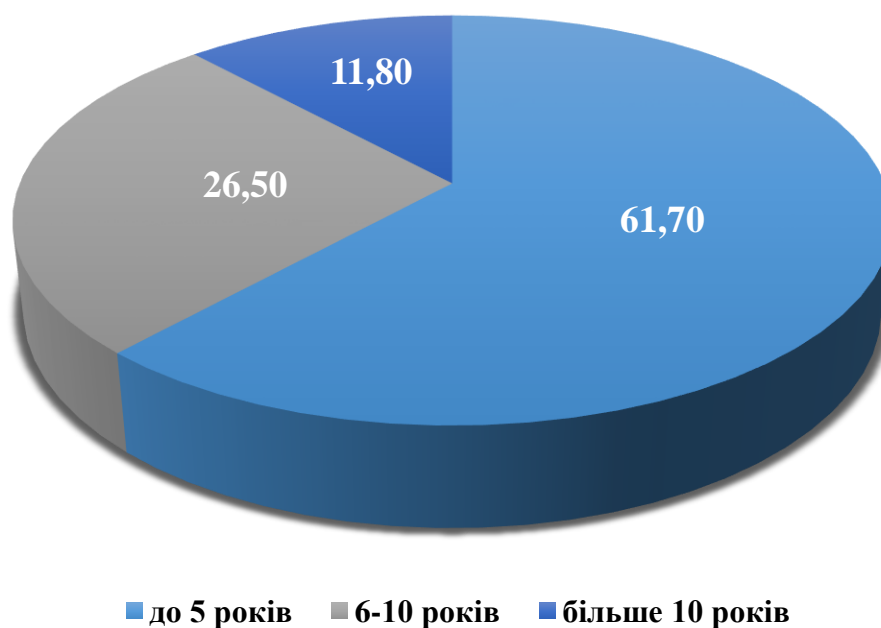


Рисунок 2.1.4. Розподіл пацієнтів з НАЖХП за тривалістю захворювання (%)

При порівнянні тривалості НАЖХП у пацієнтів основної групи було виявлено, що переважна частина пацієнтів 61,7 % (63) мали захворюваність до 5 років, 26,5 % (27) пацієнтів мали анамнез захворювання 6-10 років і 11,8 % (12) пацієнтів мали стаж захворюваності більше 10 років.

При порівнянні основних груп із групою контролю за антропометричними параметрами було виявлено достовірні відмінності за показниками маси тіла, ІМТ та співвідношенням ОТ/ОС, що говорить про переважання надлишку маси тіла та ожиріння в групі з поєднаною патологією (табл. 2.1.2, рис. 2.1.5).

Таблиця 2.1.2. Розподіл хворих за антропометричними показниками

Показник	Перша група	Друга група	Контрольна група
Маса тіла, кг	95,4 ± 2,1*	86 ± 2,2*	62,7 ± 1,5
Зріст, м	1,71 ± 0,08	1,72 ± 0,06	1,72 ± 0,06
ІМТ (маса тіла/зріст, м ²)	33,0 ± 3,0*	29,0 ± 1,5*	21,2 ± 1,9
ОТ/ОС	1,22 ± 0,05*	1,12 ± 0,03*	0,87 ± 0,2

*p < 0,05 – різниця щодо показників контрольної групи є статистично значущою.

При порівнянні груп за антропометричними параметрами було виявлене достовірні відмінності за показниками маси тіла, ІМТ, ОТ/ОС із вірогідним переважанням абдомінального ожиріння в групі з поєднаною патологією.

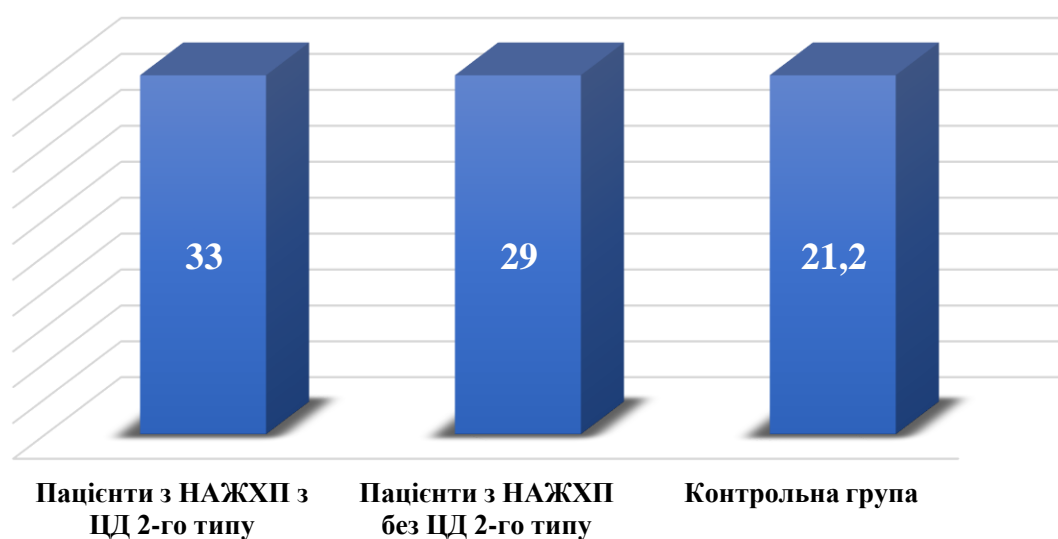


Рисунок 2.1.5. Середні значення ІМТ (кг/м²) в основних групах та в контрольній

У пацієнтів першої групи середній ІМТ становив 33,0, що відповідало ожирінню 1-го ступеня, а у пацієнтів другої групи - 29,0, що відповідало надлишку маси тіла.

Розподіл пацієнтів основної групи залежно від наявності супутньої патології наведено в табл. 2.1.3 та на рис 2.1.6.

Таблиця 2.1.3. Розподіл кількості хворих за супутньою патологією

Супутнє захворювання	Перша група (n = 51)	Друга група (n = 51)
	Кількість	
Хронічний панкреатит	31	28
Жовчнокам'яна хвороба	10	15
Пептична виразка ДПК та шлунку	6	7
ГЕРХ	5	8
Гіпертонічна хвороба:	31	20
1 ступінь	25	15
2 ступінь	6	5

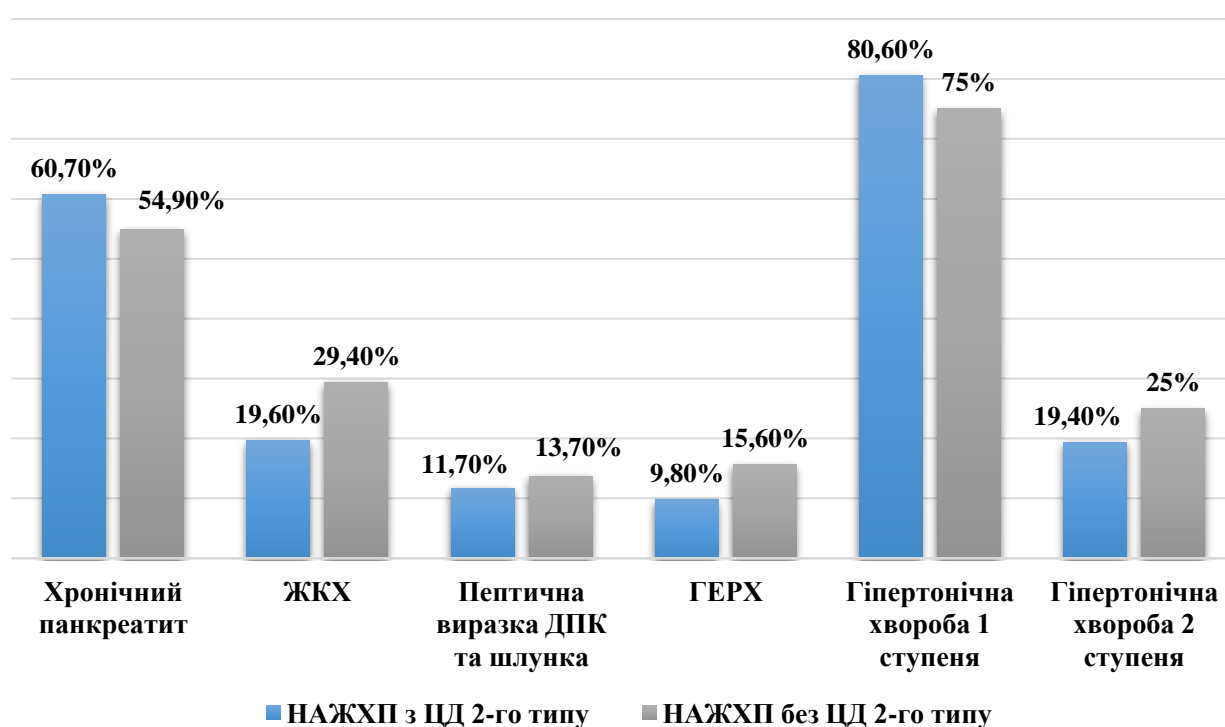


Рисунок 2.1.6. Розподіл кількості хворих за супутньою патологією (%)

Переважає більшість супутніх захворювань у пацієнтів обох груп була представлена захворюваннями ШКТ, зокрема: хронічним панкреатитом, жовчнокам'яною хворобою, пептичною виразкою ДПК та шлунку, а також ГЕРХ. Крім того, значний відсоток пацієнтів в обох групах мав супутню

серцево-судинну патологію у вигляді гіпертонічної хвороби. У першій групі 80 % (25) пацієнтів мали гіпертонічну хворобу 1 стадії і 19,4% (6) мали 2 стадію, у той же час 75% (15) пацієнтів з другої групи мали гіпертонічну хворобу 1 стадії, решта 25 % (5) мали 2 стадію.

Детальний розподіл скарг пацієнтів представлено на рис 2.1.7.

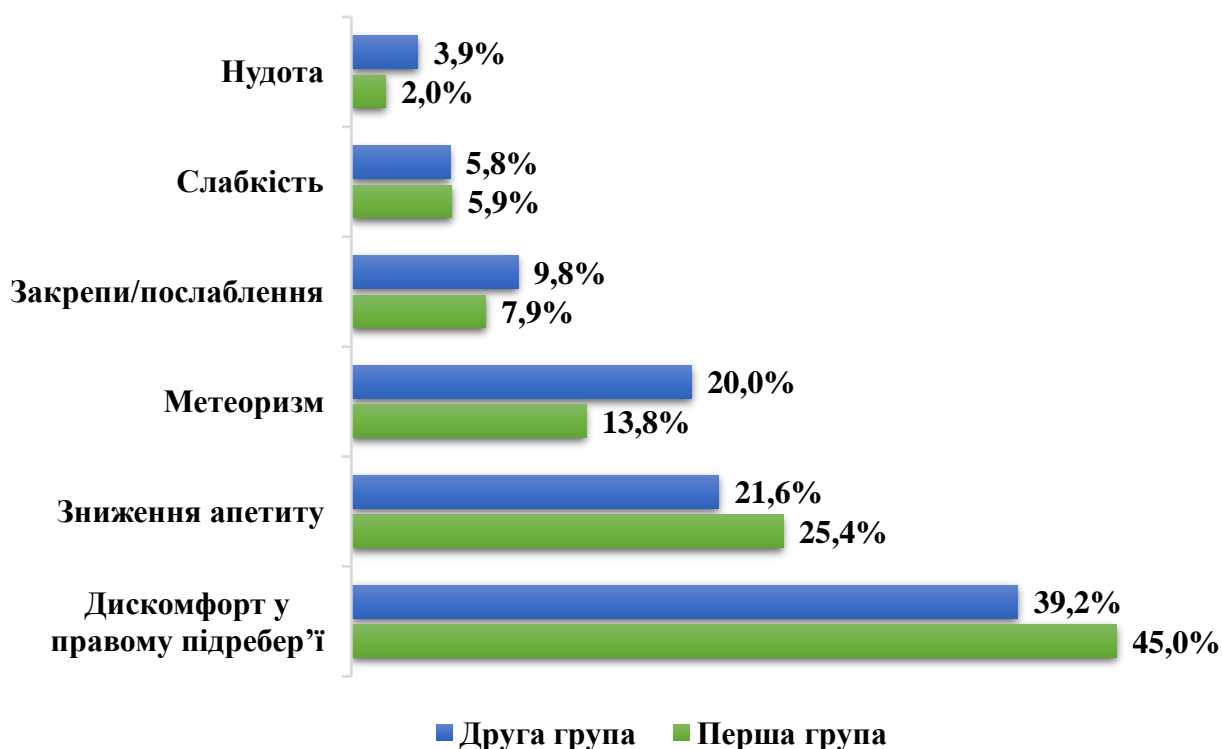


Рисунок 2.1.7. Розподіл хворих за їхніми скаргами (%)

При порівняльній характеристиці пацієнтів було виявлено, що основною скаргою в обох групах був дискомфорт у правому підребер'ї 45 (23) та 39 % (20) відповідно. На другому місці серед скарг було зниження апетиту, що у першій групі зустрічалося у 25,4 (13) проти 21,6 % (11) у пацієнтів другої групи. Крім того, у пацієнтів без ЦД 2-го типу метеоризм зустрічався частіше: у 20 (10) проти 13,8 % (7) у пацієнтів з ЦД 2-го типу. Також у пацієнтів з другої групи частіше зустрічалися розлади дефекації (закрепи/послаблення) 9,8 (5) проти 7,9 % (4) у пацієнтів першої групи. Скарга на слабкість зустрічалася

майже з однаковою частотою в обох групах 5,9 (3) і 5,8 % (3) відповідно. Найрідшим симптомом в обох групах було відчуття нудоти, яке з переважанням у пацієнтів з другої групи зустрічалося у 3,9 (2) і 2,0 % (1) випадків.

Розподіл пацієнтів першої групи залежно від рівня HbA1c представлений на рис 2.1.8.

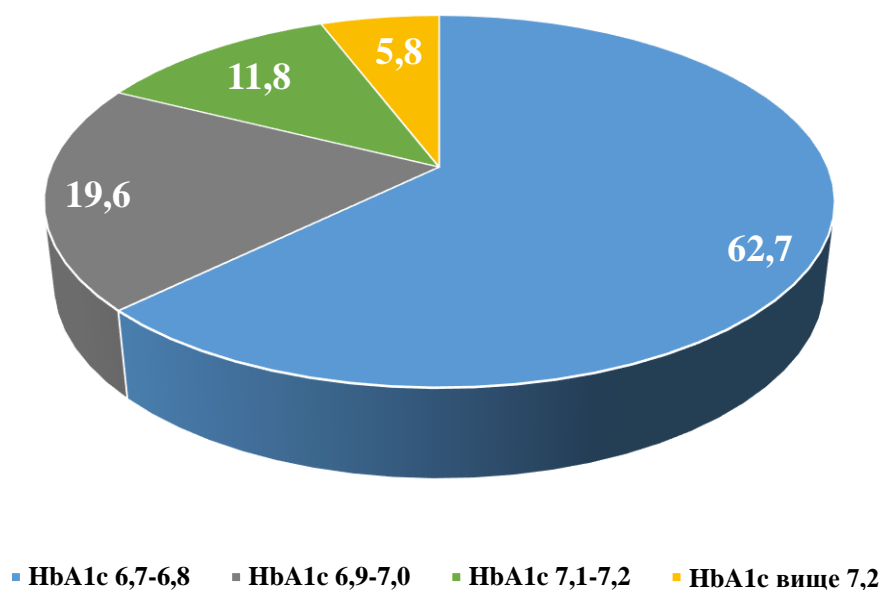
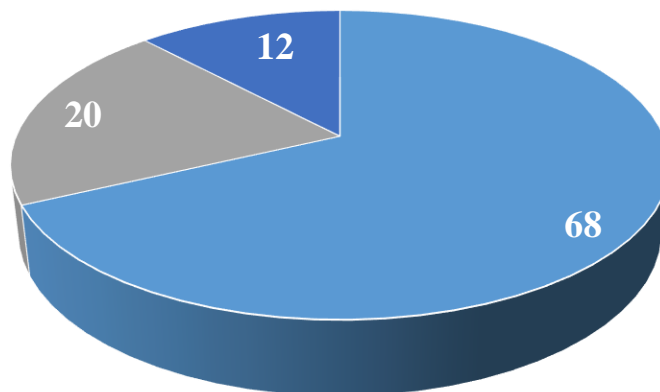


Рисунок 2.1.8. Розподіл пацієнтів з НАЖХП та ЦД 2-го типу залежно від рівня HbA1c (%)

В результаті розподілу пацієнтів першої групи, було виявлено, що переважна більшість з них 62,7 % (32) мали HbA1c в межах від 6,7 до 6,8, 19,6 % (10) мали HbA1c від 6,9 до 7,0, 11,8 % (6) 7,1 - 7,2 і лише 5,8 % пацієнтів (3) мали рівень HbA1c вище 7,2. Аналізуючи дані, можна зробити висновок, що більшість пацієнтів першої групи залежно від HbA1c мали компенсований ЦД 2-го типу.

Розподіл пацієнтів з НАЖХП та без ЦД 2-го типу залежно від порушення вуглеводного обміну наведений на рис 2.1.9.



- IP
- Порушення глікемії натще
- Порушення толерантності до глюкози

Рисунок 2.1.9. Розподіл пацієнтів другої групи залежно від порушення вуглеводного обміну (%)

Згідно розподілу переважна більшість пацієнтів з НАЖХП без ЦД 2-го типу мали порушення у вигляді IP 35 (68%) на другому місці були пацієнти з порушенням глікемії натще 10 (20%), решта мали порушення толерантності до глюкози 6 (12%).

2.2. Методи обстеження хворих

2.2.1. Лабораторні методи дослідження

Обстеження пацієнтів проводилось у перші дні знаходження та перебування в стаціонарі до визначення тактики лікування. Обсяг досліджень здійснювався згідно з метою роботи та включав збір анамнезу, фізикальне обстеження, лабораторні та інструментальні методи дослідження. Крім того, пацієнтам проводилося антропометричне обстеження, яке включало вимірювання зросту, маси тіла і ІМТ, що розраховується за формулою Кетле

$$\text{ІМТ} = \text{маса тіла (кг}^2\text{)}/\text{зріст (м}^2\text{)}. \quad (2.1)$$

Значення ІМТ 25 - 30 кг/м² вважалося надлишковою масою тіла, 30 - 34,9 кг/м² - ожирінням I ступеня, 35 - 39,9 кг/м² – ожирінням II ступеня. Також

визначався ОТ, ОС та співвідношення ОТ/ОС. Критеріями абдомінального ожиріння вважалось – ОТ у чоловіків більше 94 см, а у жінок більше 80 см та ОТ/ОС більше 0,90 для чоловіків і більше 0,85 для жінок [39].

До лабораторних показників, що оцінювалися, належали: загальний аналіз крові, сечі, визначення рівня глюкози в сироватці крові, дослідження загального білка, загального білірубину та його фракцій, активність амінотрансфераз, ГГТП, ЛФ, дослідження на вірусні гепатити (ПЛР НВV, НСV), рівень ЗХ, ТГ, ЛПНГ, ЛПВГ, ЛПДНГ, коефіцієнт КА, сечовина, креатинін.

Загальний рівень ЛПДНГ визначався за формулою

$$\text{ЛПДНГ} = \text{ТГ}/2,2 \text{ (ммоль/л)}. \quad (2.2)$$

Рівень ЛПНГ визначався за формулою Фрідвальда

$$\text{ЛПНГ} = \text{ЗХ} - \text{ТГ}/2,2 - \text{ЛПВГ} \text{ (ммоль/л)}. \quad (2.3)$$

Для оцінки КА використовувалася формула

$$\text{КА} = (\text{ЗХ} - \text{ЛПВГ})/\text{ЛПВГ}. \quad (2.4)$$

$\text{КА} < 3$ – норма.

Для оцінки порушення вуглеводного обміну оцінювалися наступні показники: рівень глюкози натще та після глюкозотолерантного тесту, вільний інсулін, глікований гемоглобін та індекс НОМА, який був використаний в якості відображення ступеня ІР й розраховувався за формулою

$$\text{НОМА-IR} = \text{інсулін} \cdot \text{глюкоза}/22,5. \quad (2.5)$$

Наявність ІР констатувалось, коли індекс НОМА-IR був більше 2,5.

Визначення толерантності до глюкози провидили в 2 етапи згідно з рекомендаціям ADA, 2019 р. Першим етапом було визначення рівня цукру крові натще глюкозооксидазним ферментативним методом використовуючи капілярну кров з пальця, після чого пацієнт випивав 75 г сухої глюкози, розчиненої в 250 мл питної води. Другий етап даного тесту полягав у визначенні рівня цукру крові через 120 хв після навантаженням глюкозою.

Наявність порушення глікемії натще вважалось при рівні глюкози плазми крові $\leq 7,8$ ммоль/л, а порушенням толерантності до глюкози – $7,8 - 11,0$ ммоль/л після глюкозо-толерантного тесту.

Для оцінки HbA1c використовувалися одиниці NGSP (%), що вираховувалися за формулою

$$\text{NGSP} = 0,915 \cdot \text{IFCC (ммоль/моль)} + 2,15. \quad (2.6)$$

Наявність ЦД 2-го типу констатовалось за рекомендаціями ADA, коли HbA1c $\geq 6,5$.

2.2.2. Інструментальні методи дослідження

Для діагностики НАЖХП був використаний метод УЗД зі стеатометрією та еластометрією. Дослідження виконувалось у горизонтальному положенні пацієнта натще апаратом *Ultrasign soneus P7* (Україна, 2016 р) з конвексним датчиком 1–6 МГц, що включало в себе: В режим, еластографію, стеатометрію. До УЗД ознак НАЖХП відносилися: збільшення індексу згасання, в основі якого ослаблення УЗ-сигналу внаслідок накопичення ліпідів у печінці, та збільшення гепаторенального індексу, а саме підвищення ехогенності паренхіми печінки в порівнянні з кірковою речовиною нирки. Крім того, були використані критерії Ballestri (2012), що включали наявність основного критерію - збільшення гепаторенального індексу (середнє – 2 бали, сильне – 3 бали) та одного додаткового критерію (1 бал): зниження звукопровідності, розмиття судин, утруднена візуалізація стінки жовчного міхура, діафрагми та ділянок незміненої паренхіми. Діагноз НАЖХП виставлявся при наявності більше 2 балів [9].

Для визначення стадії стеатозу печінки методом стеатометрії використовувалася шкала затухання УЗ, запропонована Sasso та співавторами, яка корелювала з морфологічною шкалою жирової інфільтрації NAS [136]:

1) S0 відповідає нормі (частка гепатоцитів із жиром становить від 0 до 5 %): КЗ від 1,0 до 2,19 дБ/см;

2) S1 відповідає легкому ступеню стеатозу (частка гепатоцитів із жиром становить 6 – 33 %): КЗ від 2,20 до 2,29 дБ/см;

3) S2 відповідає помірному ступеню стеатозу (частка гепатоцитів із жиром становить 34 – 66 %): КЗ від 2,30 до 2,90 дБ/см;

4) S3 відповідає тяжкому ступеню стеатозу (частка гепатоцитів із жиром становить > 66 %): > КЗ 2,90 дБ/см.

Для визначення фіброзу печінки був використаний УЗ-режим еластографії. Проводили 10 повних вимірювань, медіана їх використовувалась в якості остаточного показника жорсткості печінки. Ступінь фіброзу печінки визначався в коефіцієнті жорсткості (кПа) за шкалою METAVIR: F0 - 3,9 - 5,5 кПа, F1 4,8 - 8,0 кПа, F2 - 6,3 - 10,7 кПа, F3 - 8,1 - 13,5 кПа, F4 - 18,5 - 30,7 кПа. За норму вважались вимірювання печінки в діапазоні від 1,5 до 3,5 кПа.

Визначення керамідів проводилося у співробітництві з Польською лабораторією (Polish Center for Technology Development, PORT) згідно з європейськими стандартами (PN-EN ISO/IEC 17025:2018-02), номер акредитації АВ 1661. Мас-спектрометрія проводилась на основі дослідницького методу PB-MS-01. При визначенні рівня керамідів плазми крові, використовувався метод рідинної хроматографії з мас-спектрометрією (Shimadzu Nexera X2 UNPLC, Shimadzu LCMS-8045 mass spectrometer). Визначення рівня керамідів C16:0, C18:0, C24:0, C24:1 проводилось за методикою Kasumov, Bligh, Dyer [71, 15]. Для оцінки рівня керамідів використовувалися чисті стандарти ендогенних керамідів (C14, C16, C18, C18:1, C20, C24, C24:1) та штучні стандарти керамідів (C17 і C25). Церамід C17 був використаний як внутрішній стандарт для визначення керамідів C16, C18, а концентрація C24:1 була визначена за допомогою стандарту C25. Основний розчин керамідів 1 мг/мл був приготовлений у хлороформі. Після розведення з етанолом був приготовлений робочий розчин для C14, C16, C18, C18:1, C20, C24 і C24:1 в об'ємі 714 нг/мл на кожний вид. Для сепарації керамідів з робочого розчину був використаний метод високоякісної рідинної хроматографії (Waters HPLC 2690 Separation Module, Waters Corp., Milford,

MA) через колону Xperchrom 100 C8 (2.1·150 mm, 5 μ m, P.J. Cobert Associates, St. Louis, MO). Після цього колона була введена в мікромасовий чотириполюсний мас-спектрометр (Quattro Ultima, Waters Inc., Beverly, MA). Аналіз відбувався з використанням позитивного електророзпилювального режиму. Оцінка кількості керамідів виконувалася за допомогою калібрувальних кривих, пікових інтегровальних зон для кожної фракції керамідів та внутрішніх стандартів [71]. Визначення співвідношень керамідів C16:0/C24:0, C18:0/C24:0, C24:1/C24:0, C18:0/C16:0 здійснювалось за допомогою ріддиної хроматографії з мас-спектрометриєю.

2.3. Статистична обробка результатів дослідження

Статистичну обробку результатів було виконано за допомогою комп'ютерних програм "Excel 2010" (Microsoft), MedStat версія 5.2., EZR версія 3.4.1. (R Foundation Statistical Computing) Кількісні змінні описували такими параметрами: медіаною (Me), 25-м і 75-м процентілями (Me Q1; Q3) та середнім арифметичним значенням (M) із стандартним відхиленням середнього (\pm SD). Для визначення характеру розподілу отриманих даних використовували критерій Шапіро - Уїлка. Для визначення достовірності відмінностей при порівнянні двох незалежних вибірок використовували критерій Манна - Уїтні (U), а залежних - критерій Вілкоксона (W). Частоту ознак у групах порівнювали за допомогою критерію χ^2 . Для визначення залежності між змінними проводили кореляційний аналіз із розрахунком коефіцієнта рангової кореляції Спірмена. При побудові прогностичних імовірних моделей використовували логістичний регресійний аналіз (ROC аналіз). За допомогою ROC аналізу було кількісно визначено площу під ROC-кривою показником AUC (area under ROC curve) Вірогідним для всіх використовуваних процедур статистичного аналізу вважали рівень значущості $p < 0,05$. Для визначення сили кореляції залежно від значення коефіцієнта кореляції (r) застосовувалася така класифікація: $\leq 0,3$ слабка кореляція; $0,3 - 0,5$ помірна кореляція; $\geq 0,5$ сильна кореляція.

Результати дослідження, подані у цьому розділі, опубліковані у наступних працях:

1. Павловський Л. Л., Чернявський В. В., Шипулін В. П., Тіщенко В. В., Купчик Л. М. Дослідження впливу цераміду С16 у плазмі крові на перебіг неалкогольної жирової хвороби печінки // Сучасна гастроентерологія – 2019. - № 5. – С. 14-17. *(Автором зібрано матеріал, проаналізовано літературні джерела з проблеми, виконано статистичне опрацювання даних з аналізом отриманих результатів, висновки сформульовані спільно з керівником, підготовлено статтю до друку).*

2. Павловський Л. Л., Вплив застосування метформіну та зниження маси тіла на концентрацію церамідів С16:0, С18:0, С24:1 в плазмі крові в пацієнтів із неалкогольною жировою хворобою печінки в поєднанні з інсулінорезистентністю та цукровим діабетом 2 типу // Гастроентерологія. – 2020. - № 2. – С. 96 - 100, т. 54. *(Автором зібрано матеріал, проаналізовано літературні джерела з проблеми, виконано статистичне опрацювання даних з аналізом отриманих результатів, висновки сформульовані спільно з керівником, підготовлено статтю до друку).*

3. Pavlovskiy Leonid, Chernyavskiy Volodymyr, Shypulin Vadym and Tishchenko Viktoriia. Increased Level of Serum Ceramides Correlate with Liver Steatosis, Hba1c and Cholesterol in Obese Patients // Journal of Gastroenterology & Digestive Systems – 2020. - Volume 4. Issue 1. Pg 1 - 4. *(Автором зібрано матеріал, проаналізовано літературні джерела з проблеми, виконано статистичне опрацювання даних з аналізом отриманих результатів, висновки сформульовані спільно з керівником, підготовлено статтю до друку).*

РОЗДІЛ 3

ОСОБЛИВОСТІ ЛАБОРАТОРНИХ ТА ІНСТРУМЕНТАЛЬНИХ ПОКАЗНИКІВ У ПАЦІЄНТІВ ПОРІВНЯЛЬНИХ ГРУП

У цьому розділі наведено результати обстеження пацієнтів з НАЖХП, отримані в ході проведення лабораторно-інструментальних досліджень.

При проведенні біохімічного аналізу крові в пацієнтів з НАЖХП і ЦД 2-го типу та без ЦД 2-го типу в порівнянні з контрольною групою було виявлено зміни, наведені в табл. 3.1.1.

Таблиця 3.1.1. Порівняльна характеристика біохімічних параметрів (M ± SD)

Показник	Основна група n = 102	Контрольна група n = 20	p
АЛТ, Од/л	61 ± 9	25 ± 6	<0,001
АСТ, Од/л	50,1 ± 6	23 ± 8	<0,001
ГГТП, Од/л	59 ± 11	35 ± 12	<0,001
ЛФ, Од/л	80 ± 12	45 ± 10	<0,001
Тимолова проба Од	4,0 ± 0,9	2,1 ± 0,8	<0,001
Білірубін загальний, мкмоль/л	13,3 ± 2	10,2 ± 2,1	<0,001

При порівнянні біохімічних показників було виявлено, що в пацієнтів з НАЖХП спостерігався синдром цитолізу з мінімальним підвищенням активності АЛТ 61 ± 9 та АСТ 50,1 ± 6 Од/л проти 25 ± 6 і 23 ± 8 Од/л у групі контролю (p < 0,001). Усі інші показники не перевищували загальноприйняту норму, але достовірно відрізнялися між групами.

Крім біохімічних параметрів функції печінки також виявлено зміни в пацієнтів з НАЖХП в загальному ліпідному спектрі (табл. 3.1.2).

Таблиця 3.1.2. Порівняльна характеристика ліпідного обміну (M ± SD)

Показник	Основна група n = 102	Контрольна група n = 20	p
ЗХ, ммоль/л	6,3 ± 0,2	4,2 ± 0,5	<0,001
ЛПНГ, ммоль/л	2,7 ± 0,6	1,2 ± 0,4	<0,001
ТГ, ммоль/л	2,1 ± 0,5	1,1 ± 0,3	<0,001
ЛПВГ, ммоль/л	0,8 ± 0,1	1,3 ± 0,2	<0,001
ЛПДНГ, ммоль/л	0,8 ± 0,1	0,5 ± 0,8	<0,001
КА	3,6 ± 0,5	2,2 ± 0,4	<0,001

При порівнянні показників ліпідного обміну виявлено достовірне підвищення ЗХ, ЛПНГ, ЛПДНГ та КА в пацієнтів з НАЖХП у порівнянні з контрольною групою ($p < 0,001$). Крім того, у пацієнтів з НАЖХП спостерігалось зменшення рівня ЛПВГ у порівнянні з контрольною групою ($p < 0,001$). Дані зміни в ліпідному профілі, на нашу думку, пов'язані з тим, що в пацієнтів з НАЖХП на перший план виступає ІР, що сприяє дисліпідемії з переважанням атерогенних ліпідних фракцій.

Кількісні показники вуглеводного обміну основних та контрольної групи наведено в табл. 3.1.3.

Таблиця 3.1.3. Порівняльна характеристика вуглеводного обміну

Показник	Перша група n = 51	Друга група n = 51	Контрольна група n = 20	p
Глюкоза крові, ммоль/л	8,5 ± 0,7	5,4 ± 0,2	4,8 ± 0,3	<0,001
Індекс НОМА	4,1 (4,0; 4,3)	3,3 (3,1; 3,7)	1,8 ± 0,1	<0,001
НbA1c, %	7,0 ± 0,3	5,3 ± 0,2	4,1 ± 0,6	<0,001

Примітка. Дані в таблиці представлено у вигляді M ± SD або медіани (1 квартиль та 3 квартиль).

При порівнянні показників вуглеводного обміну виявлено достовірне підвищення в пацієнтів з НАЖХП рівня глюкози крові, індексу НОМА та HbA1c у порівнянні з групою контролю ($p < 0,001$). Зміни вуглеводного обміну в пацієнтів з НАЖХП пов'язані з IP. Крім того при порівнянні основних груп між собою, виявлено достовірні відмінності у пацієнтів першої групи в показниках глюкози крові $8,5 \pm 0,7$ проти $5,4 \pm 0,2$ ммоль/л, індексу НОМА 4,1 (4; 4,3) проти 3,3 (3,1; 3,7) та в HbA1c $7,0 \pm 0,3$ проти $5,3 \pm 0,2$ у пацієнтів другої групи ($p < 0,001$). Дані зміни можуть свідчити, про те, що у пацієнтів з ЦД 2-го типу більш виражена IP ніж у пацієнтів без ЦД 2-го типу.

Крім того, було проведено порівняльну характеристику пацієнтів з НАЖХП обох груп за основними біохімічними показниками та параметрами ліпідного обміну (табл. 3.1.4., 3.1.5).

Таблиця 3.1.4. Порівняльна характеристика біохімічних параметрів ($M \pm SD$)

Показник	Перша група n = 51	Друга група n = 51	p
АЛТ, Од/л	$62 \pm 9,5$	$60 \pm 9,2$	0,22
АСТ, Од/л	$49,1 \pm 5,3$	$51,2 \pm 7$	0,09
ГГТП, Од/л	66 ± 7	53 ± 11	<0,001
ЛФ, Од/л	76 ± 12	84 ± 10	<0,001
Тимолова проба, Од	$4,7 \pm 0,6$	$3,5 \pm 0,9$	<0,001
Білірубін загальний, мкмоль/л	14 ± 2	13 ± 2	0,15

При порівнянні біохімічних показників відмінність у підвищенні активності АЛТ та АСТ в обох групах була статистично незначущою ($p = 0,22$ та $p = 0,09$). Інші біохімічні параметри в обох групах перебували в межах норми.

Таблиця 3.1.5. Порівняльна характеристика ліпідного обміну

Показник	Перша група n = 51	Друга група n = 51	p
ЗХ, ммоль/л	7,2 ± 0,5	5,5 ± 0,2	<0,001
ЛПНГ, ммоль/л	3,0 ± 0,5	2,4 ± 0,5	<0,001
ТГ, ммоль/л	2,6 ± 0,2	1,7 ± 0,2	<0,001
ЛПВГ, ммоль/л	0,7 (0,6; 0,7)	0,8 (0,7; 0,9)	<0,001
ЛПДНГ, ммоль/л	0,83 ± 0,08	0,7 ± 0,1	<0,001
КА	3,9 ± 0,4	3,2 ± 0,2	<0,001

Примітка. Дані в таблиці представлено у вигляді $M \pm SD$ або медіани (1-й квантиль та 3-й квантиль).

При порівнянні показників ліпідного обміну було виявлено достовірні відмінності в ЗХ у пацієнтів першої групи $5,8 \pm 0,2$ проти $5,5 \pm 0,2$ ммоль/л у пацієнтів другої групи ($p < 0,001$). Також у пацієнтів з ЦД 2-го типу спостерігалися достовірні відмінності в рівнях ЛПНГ $3,0 \pm 0,5$ проти $2,4 \pm 0,5$ ммоль/л, ТГ $2,6 \pm 0,2$ проти $1,7 \pm 0,2$ ммоль/л та в КА $3,9 \pm 0,4$ проти $3,2 \pm 0,2$ в пацієнтів другої групи ($p < 0,001$). Інші показники ЛПВГ та ЛПДНГ в обох групах були в межах норми. Дані зміни пов'язані з тим, що в пацієнтів на фоні ІР підвищується процес ліполізу в адипоцитах, що сприяє підвищенню концентрації вільних жирних кислот в плазмі крові. Їхній надлишок призводить до накопичення їх у гепатоцитах з розвитком стеатозу печінки та виділенням у кровоносне русло в складі ЛПНГ, ЛПДНГ та ТГ.

Ультразвукові відмінності пацієнтів обох груп наведено в табл. 3.1.6.

Таблиця 3.1.6. Результати стеатометрії та еластометрії

Показник	Перша група n = 51	Друга група n = 51	p
Стеатометрія КЗ, дБ/см	2,6 (2,59; 2,66)	2,4 (2,38; 2,42)	<0,001
Еластометрія, кПа	7,6 ± 0,3	7,0 ± 0,4	<0,001

Примітка. Дані в таблиці представлено у вигляді $M \pm SD$ або медіани (1-й квантиль та 3-й квантиль).

При порівняльній характеристиці результатів стеатометрії було виявлено, що в пацієнтів першої групи КЗ становив 2,6 (2,59; 2,66) проти 2,4 (2,38; 2,42) дБ/см у пацієнтів другої групи ($p < 0,001$). Результати стеатометрії свідчили про наявність помірного стеатозу (S2) в обох групах. Також виявлено достовірні відмінності при проведенні еластометрії. Так, у пацієнтів першої групи коефіцієнт жорсткості становив $7,6 \pm 0,3$ проти $7,0 \pm 0,4$ кПа в пацієнтів другої групи ($p < 0,001$), що відповідало слабкому ступеню фіброзу (F1). Збільшення КЗ та жорсткості в пацієнтів першої групи обумовлено насамперед за рахунок збільшеним депонуванням ТГ в гепатоцитах на фоні стеатозу печінки та стеатогепатиту.

РОЗДІЛ 4

КОНЦЕНТРАЦІЯ ЦЕРАМІДІВ С16:0, С18:0, С24:0, С24:1 ТА ЇХНІ СПІВВІДНОШЕННЯ У ПАЦІЄНТІВ З НАЖХП І ЦД 2-ГО ТИПУ ТА БЕЗ НЬОГО, ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК З ОСНОВНИМИ ПОКАЗНИКАМИ

Також ми визначили та порівняли загальну концентрацію керамідів в основній та контрольній групах (табл. 4.1).

Таблиця 4.1. Порівняльна характеристика керамідів С16:0, С18:0, С24:0 та С24:1 між основною та контрольною групами (M ± SD)

Церемід мкмоль/л	Основна група n = 102	Контрольна група n = 20	p
С16:0	0,48 ± 0,1	0,13 ± 0,03	<0,001
С18:0	0,14 ± 0,06	0,03 ± 0,01	<0,001
С24:0	2,5 ± 1,3	4,6 ± 0,1	<0,001
С24:1	1,4 ± 0,1	0,05 ± 0,02	<0,001

При порівнянні концентрації керамідів в основній та контрольній групах, виявлено достовірне збільшення С16:0, С18:0, С24:1 у пацієнтів з НАЖХП (p < 0,001). Також у пацієнтів з НАЖХП концентрація керамідів С24:0 була достовірно зменшена, ніж у контрольній групі (p < 0,001).

Кількісні характеристики різних фракцій керамідів в основних групах представлено в табл. 4.2.

Таблиця 4.2. Порівняльна характеристика фракцій керамідів С16:0, С18:0, С24:0, С24:1 у пацієнтів з НАЖХП

Церемід мкмоль/л	Перша група n = 51	Друга група n = 51	p
С16:0	0,55 ± 0,1	0,42 ± 0,04	<0,001
С18:0	0,14 (0,14 ; 0,15)	0,12 (0,12; 0,13)	<0,001
С24:0	1,2 (1,15; 1,32)	3,8 (3,54; 4,21)	<0,001
С24:1	1,5 ± 0,1	1,3 ± 0,06	<0,001

Примітка. Дані в таблиці представлено у вигляді $M \pm SD$ або медіани (1-й квантиль та 3-й квантиль).

При порівнянні концентрації керамідів в обох групах виявлено, що концентрація керамідів C16:0, C18:0, C24:1 була достовірно підвищена в пацієнтів першої групи в порівнянні з пацієнтами другої групи ($p < 0,001$). Збільшення концентрації керамідів C16:0, C18:0, C24:1 у пацієнтів першої групи пов'язане за участю даних фракцій у розвитку ЦД 2-го типу [24].

При порівнянні концентрації керамідів C24:0 було виявлено достовірне підвищення цієї фракції в пацієнтів другої групи ($p < 0,001$). Хоча дана фракція не розглядається окремо в якості незалежного маркера прогнозу, проте відношення керамідів C16:0, C18:0 або C24:1 до фракції керамідів C24:0 розглядається як важливий предиктор розвитку як ЦД 2-го типу, так і серцево-судинних захворювань [151]. Крім того, кераміди C24:0 належить до так званої кардіопротективної фракції, зниження якої підвищує ризик серцево-судинних катастроф [169].

Порівняльну характеристику співвідношень керамідів між основною та контрольною групами представлено в табл. 4.3.

Таблиця 4.3. Характеристика співвідношень керамідів в основній та контрольній групі ($M \pm SD$)

Співвідношення фракцій керамідів	Основна група n = 102	Контрольна група n = 20	p
C16:0/24:0	0,24 ± 0,1	0,02 ± 0,03	<0,001
C18:0/24:0	0,07 ± 0,04	0,006 ± 0,002	<0,001
C24:1/24:0	0,78 ± 0,4	0,01 ± 0,02	<0,001
C18:0/C16:0	0,26 ± 0,01	0,23 ± 0,08	<0,001

При порівнянні співвідношень керамідів в основній та контрольній групах виявлено їхнє достовірне збільшення в групі пацієнтів з НАЖХП ($p < 0,001$). Дані зміни пояснюються тим, що в пацієнтів основної групи в порівнянні з практично здоровими добровольцями був підвищений базальний

рівень всіх фракцій керамідів. Крім того, такі зміни обумовлені наявністю в пацієнтів основної групи МС, а отже, і ризику серцево-судинних катастроф.

У таблиці 4.4. представлено кількісні зміни співвідношень керамідів у пацієнтів з НАЖХП і ЦД 2-го типу та без ЦД 2-го типу.

Таблиця 4.4. Порівняльна характеристика керамідних співвідношень

Співвідношення фракцій керамідів	Перша група n = 51	Друга група n = 51	p
C16:0/24:0	0,4 (0,4; 0,42)	0,1 (0,09; 0,1)	<0,001
C18:0/24:0	0,11 ± 0,01	0,03 ± 0,005	<0,001
C24:1/24:0	1.2 (1.1; 1.3)	0,36 (0,32; 0,39)	<0,001
C18:0/C16:0	0,26 ± 0,008	0,27 ± 0,01	<0,001.

Примітка. Дані в таблиці представлені у вигляді $M \pm SD$ або медіани (1-й квантиль та 3-й квантиль).

При порівнянні різних співвідношень керамідів було виявлено достовірне їхнє збільшення у пацієнтів першої групи ($p < 0,001$).

Аналіз взаємозв'язків між різними фракціями керамідів та антропометричними, лабораторними, інструментальними показниками виявив ступені кореляції (табл. 4.5).

Таблиця 4.5. Кореляційні зв'язки між концентрацією керамідів C16:0, C18:0, C24:1, C24:0 і різними показниками в пацієнтів другої групи

Показник	C16:0	C18:0	C24:0	C24:1
Стеатометрія, дБ/см	-	$r = 0,309^*$	-	-
Еластометрія, кПа	-	$r = 0,331^*$	-	$r = -0,374^*$
C16:0, мкмоль/л	-	-	$r = 0,285^*$	-
C18:0, мкмоль/л	-	-	-	-
C24:0, мкмоль/л	$r = 0,285^*$	-	-	-
HbA1c, %	-	-	$r = -0,294^*$	-
ЛПНГ, ммоль/л	-	-	$r = 0,280^*$	-
ЛПДНГ, ммоль/л	-	-	-	$r = -0,352^*$

ЗХ, ммоль/л	-	$r = 0,303^*$	-	-
АСТ, Од/л	-	-	-	$r = -0,287^*$

* - $p < 0,05$ – статистично значущі відмінності.

При оцінці кореляції у пацієнтів другої групи було виявлено, що фракція церамідів С16:0 мала слабкий кореляційний зв'язок із фракцією церамідів С24:0, який був $r = 0,285$ ($p < 0,05$). Середній зв'язок виявлено між фракцією С18:0 з результатами еластометрії, $r = 0,331$, стеатометрії, $r = 0,309$ та рівнем ЗХ, $r = 0,303$ ($p < 0,05$). Було виявлено слабкий прямий зв'язок між церамідами С24:0 з фракцією С16:0, $r = 0,285$, ЛПНГ, $r = 0,280$ ($p < 0,05$) та зворотній з НbA1c, $r = -0,294$ ($p < 0,05$). Крім того, фракція С24:1 продемонструвала зворотній кореляційний зв'язок з еластометрією, $r = -0,374$, ЛПДНГ, $r = -0,352$ та активністю АСТ, $r = -0,287$ ($p < 0,05$).

Кореляційний зв'язок між фракціями церамідів С16:0, С18:0, С24:1, С24:0 та антропометричними і лабораторними параметрами в пацієнтів першої групи в табл. 4.6.

Таблиця 4.6. Кореляційні зв'язки між концентрацією церамідів С16:0, С18:0, С24:1, С24:0 і різними показниками у пацієнтів першої групи

Показник	С16:0	С18:0	С24:0	С24:1
ІМТ	$r = 0,474^*$	$r = 0,286^*$	-	-
Стеатометрія, дБ/см	-	$r = 0,334^*$	-	$r = 0,615^*$
С18:0, мкмоль/л	-	-	-	$r = 0,474^*$
С24:1, мкмоль/л	-	$r = 0,474^*$		
НbA1c, %	-	$r = 0,295^*$	-	$r = 0,592^*$
ЛПВГ, ммоль/л	-	$r = -0,300^*$	-	-
ЛПНГ, ммоль/л	-	-	-	$r = 0,603^*$
КА	-	-	-	$r = 0,284^*$
Індекс НОМА	-	-		$r = 0,337^*$
АЛТ, Од/л	-	-	-	$r = 0,336^*$
АСТ, Од/л	-	-	-	$r = -0,389^*$

Показник	C16:0	C18:0	C24:0	C24:1
Загальний білірубін, мкмоль/л	-	r = 0,283*	-	-
ЛФ Од/л	-	r=0,468*	-	-

* - $p < 0,05$ – статистично значущі відмінності.

При оцінці отриманих результатів було виявлено середній кореляційний зв'язок між церамідами C16:0 і C18:0 та ІМТ, $r = 0,474$, $r = 0,286$ відповідно ($p < 0,05$). Між C18:0 також спостерігався слабкий зв'язок з HbA1c, $r = 0,295$, загальним білірубіном, $r = 0,283$ ($p < 0,05$). Крім того, фракція C18:0 мала як прямий кореляційний зв'язок із стеатометрією, $r = 0,334$, ЛФ, $r = 0,468$, HbA1c, $r = 0,295$, так і зворотній з ЛПВГ, $r = -0,300$ ($p < 0,05$). Прямий середній зв'язок спостерігався між фракцією C24:1 з церамідами C18:0, $r = 0,474$, індексом НОМА, $r = 0,337$, активністю АЛТ, $r = 0,336$ та зворотній з АСТ, $r = -0,389$ ($p < 0,05$). Також у ході дослідження між церамідами C24:1 спостерігалася сильна пряма кореляція з HbA1c, $r = 0,592$, стеатометрією, $r = 0,615$, ЛПНГ, $r = 0,603$ ($p < 0,05$).

Кореляційні зв'язки між співвідношеннями церамідів і лабораторними та інструментальними показниками наведено в табл. 4.7.

Таблиця 4.7. Кореляційні зв'язки між співвідношеннями церамідів і різними показниками у пацієнтів другої групи

Показник	C16:0/C24:0	C18:0/24:0	C24:1/24:0	C18:0/C16:0
Стеатометрія, дБ/см	-		r = 0,586*	-
Еластометрія, кПа	-	-	r = 0,434*	-
C24:0, мкмоль/л	-	r = 0,302*	-	-
C24:1/24:0	-	-	-	-
C18:0/C16:0	-	-	-	-
HbA1c, %		-		r = 0,333*
АЛТ, Од/л	-	r = 0,279*	-	-
ГГТП, Од/л	-	-	r = -0,351*	-
ЛПНГ, ммоль/л			r = 0,298*	

ТГ, ммоль/л	-	-	$r = 0,394^*$	-
-------------	---	---	---------------	---

* - $p < 0,05$ – статистично значущі відмінності.

Під час аналізу кореляційних зв'язків було виявлено такі зміни. Співвідношення С18:0/24:0 помірно корелювало з фракцією С24:0, $r = 0,302$ та слабо корелювало з АЛТ, $r = 0,279$ ($p < 0,05$). Співвідношення С24:1/24:0 проявляло середній прямий кореляційний зв'язок з еластометрією, $r = 0,434$, стеатометрією, $r = 0,586$, ТГ, $r = 0,394$ та зворотній зв'язок з ГГТП, $r = -0,351$ ($p < 0,05$). Також С24:1/24:0 мала слабкий зв'язок з ЛПНГ, $r = 0,298$, ($p < 0,05$). Співвідношення С18:0/С16:0 корелювало з HbA1c, $r = 0,333$ ($p < 0,05$).

Кореляційні зв'язки між співвідношеннями керамідів і лабораторними, інструментальними показниками у пацієнтів першої групи наведено в табл. 4.8.

Таблиця 4.8. Кореляційні зв'язки між співвідношеннями керамідів і різними показниками в пацієнтів першої групи

Показники	С16:0/С24:0	С18:0/24:0	С24:1/24:0	С18:0/С16:0
ІМТ, кг/м ²	-	$r = 0,304^*$	-	$r = 0,349^*$
Стеатометрія, дБ/см	-	-	$r = 0,483^*$	$r = 0,801^*$
Еластометрія, кПа	-	-	$r = -0,330^*$	-
С18:0, мкмоль/л	-	$r = 0,293^*$	-	$r = 0,304^*$
С24:0, мкмоль/л	$r = 0,281^*$	-	-	$r = 0,310^*$
С24:1, мкмоль/л	-	-	$r = 0,295^*$	$r = 0,623^*$
С24:1/24:0	-	-	-	$r = 0,349^*$
С18:0/С16:0	-	-	$r = 0,349^*$	-
HbA1c, %	-	-	$r = 0,284^*$	$r = 0,507^*$
Індекс НОМА	-	-	-	$r = 0,507^*$
ЛПНГ, ммоль/л	-	-	$r = 0,371^*$	$r = 0,636^*$
КА	-	-	$r = 0,402^*$	-
ЗХ, ммоль/л	$r = -0,343^*$	-	$r = 0,350^*$	-
ТГ, ммоль/л	-	-	$r = 0,283^*$	$r = 0,357^*$

Показники	C16:0/C24:0	C18:0/24:0	C24:1/24:0	C18:0/C16:0
АСТ, Од/л	-	$r = 0,283^*$	-	-
ЛФ, Од/л	-	-	$r = -0,312^*$	-

* - $p < 0,05$ – статистично значущі відмінності.

У ході дослідження кореляційних зв'язків було виявлено, що співвідношення C16:0/C24:0 мало слабкий прямий зв'язок із фракцією C24:0, $r = 0,284$ та зворотній із ЗХ, $r = -0,343$ ($p < 0,05$). Співвідношення C18:0/24:0 слабо корелювало з C18:0, $r = 0,293$, АСТ, $r = 0,283$ та помірно корелювало з ІМТ, $r = 0,304$ ($p < 0,05$). Також у ході порівняння було з'ясовано, що співвідношення церамідів C24:1/24:0 мало слабкий кореляційний зв'язок з C24:1, $r = 0,295$, НbA1c, $r = 0,284$, ТГ, $r = 0,292$, середній зв'язок із стеатометрією, $r = 0,483$, КА, $r = 0,402$, ЛПНГ, $r = 0,371$ і ЗХ, $r = 0,350$ та зворотній зв'язок з еластометрією, $r = -0,330$ і ЛФ, $r = -0,312$ ($p < 0,05$). У свою чергу співвідношення C18:0/C16:0 помірно корелювало з церамідами C18:0, $r = 0,304$, C24:0, $r = 0,310$, C24:1, $r = 0,623$ та із співвідношенням C24:1/24:0, $r = 0,349$ ($p < 0,05$). Крім того, співвідношення C18:0/C16:0 мало прямий кореляційний зв'язок з ІМТ, $r = 0,349$, лабораторними показниками НbA1c, $r = 0,507$, індексом НОМА, $r = 0,507$, ЛПНГ, $r = 0,636$, ТГ, $r = 0,357$ та стеатометрією, $r = 0,801$ ($p < 0,05$).

У результаті проведення кореляційного аналізу нами було знайдено прямі взаємозв'язки між окремими фракціями церамідів та співвідношеннями їх з показниками ліпидограми. З огляду на отримані результати для визначення можливого впливу статинів на рівень церамідів та на співвідношення їх нами було прийняте рішення щодо утворення додаткової третьої групи.

До третьої групи пацієнтів (з дисліпідемією) ввійшли 12 чоловіків і 8 жінок. Середній вік пацієнтів - $64,9 \pm 1,4$ років. Усі пацієнти мали супутню гіпертонічну хворобу із середнім артеріальним тиском $155 \pm 10/90 \pm 5$ мм.рт.ст., що відповідало першому ступеню гіпертонічної хвороби. Рівень ЗХ у пацієнтів з дисліпідемією був $5,7 \pm 0,2$ ммоль/л, ЛПНГ $2,97 \pm 0,2$ ммоль/л,

ЛПВГ $0,75 \pm 0,02$ ммоль/л, ЛПДНГ $0,77 \pm 0,02$ ммоль/л, ТГ $2,2 \pm 0,1$ ммоль/л,
КА становив $3,5 \pm 0,2$.

РОЗДІЛ 5
ВПЛИВ КОМПЛЕКСНОЇ ТЕРАПІЇ НА КОНЦЕНТРАЦІЮ
ЦЕРАМІДІВ C16:0, C18:0, C24:0, C24:1 ТА НА ЇХНЄ
СПІВВІДНОШЕННЯ В ПАЦІЄНТІВ З НАЖХП

5.1. Порівняльна характеристика даних через 3 та 6 місяців після лікування

У складі комплексної терапії пацієнтам першої групи було рекомендовано модифікацію способу життя та прийом препарату групи бігуанідів – метформін у дозі 500 мг 2 рази на добу. У свою чергу пацієнтам другої групи було рекомендовано лікування у вигляді модифікації способу життя, що включало в себе зниження маси тіла, фізичне навантаження та нормалізацію раціону харчування. Третя група пацієнтів на додаток до модифікації способу життя та прийому метформіну 500 мг 2 рази на добу приймала розувастатин у дозі 10 мг на добу. Аналіз біохімічних показників крові та керамідів проводився на початку дослідження, через 3 та 6 місяців.

Порівняльну характеристику результатів концентрації керамідів C16:0, C18:0, C24:1, C24:0 у трьох групах пацієнтів через 3 місяці після лікування представлено в табл. 5.1.1-5.1.4.

Таблиця 5.1.1. Концентрація C16:0 у пацієнтів через 3 місяці після лікування (M ± SD)

Група	До лікування	Через 3 місяця	p до лікування	p через 3 місяці
Перша	0,55 ± 0,1	0,42 ± 0,05	p _{1,2,3} <0,01	p _{1,2,3} <0,01
Друга	0,42 ± 0,04	0,28 ± 0,05	p _{1,2,3} <0,01	p _{1,2,3} <0,01
Третя	0,47 ± 0,01	0,31 ± 0,01	p _{1,2,3} <0,01	p _{1,2,3} <0,01

Примітка. p₁ - відмінність рівнів керамідів між групою третьою та другою групою; p₂ - відмінність рівнів керамідів між третьою та першою групою; p₃ - відмінність рівнів керамідів між першою та другою групою.

При порівнянні ефективності проведеного лікування було виявлено достовірне зниження концентрації керамідів C16:0 у трьох групах (p_{1,2,3} < 0,01).

Таблиця 5.1.2. Концентрація С18:0 у пацієнтів через 3 місяці після лікування Ме (1-й квантиль і 3-й квантиль)

Група	До лікування	Через 3 місяці	р до лікування	р через 3 місяці
Перша	0,14 (0,14; 0,15)	0,085 (0,078; 0,091)	$p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,01$ $p_3 < 0,01$	$p_{1,2,3} < 0,01$
Друга	0,12 (0,12; 0,13)	0,067 (0,062; 0,073)	$p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,01$ $p_3 < 0,01$	$p_{1,2,3} < 0,01$
Третя	0,13 (0,13; 0,13)	0,087 (0,085; 0,089)	$p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,01$	$p_{1,2,3} < 0,01$

Примітка. p_1 - відмінність рівнів церамідів між групою третьою та другою групою; p_2 - відмінність рівнів церамідів між третьою та першою групою; p_3 - відмінність рівнів церамідів між першою та другою групою.

При аналізі результатів лікування було виявлено, що концентрація церамідів С18:0 була достовірно знижена у трьох групах ($p_{1,2,3} < 0,01$). Проте при порівнянні пацієнтів з дисліпідемією та пацієнтів другої групи зниження концентрації церамідів С18:0 було статистично незначущим ($p_2 > 0,05$).

Таблиця 5.1.3. Концентрація С24:1 у пацієнтів через 3 місяці після лікування ($M \pm SD$)

Група	До лікування	Через 3 місяці	р до лікування	р через 3 місяці
Перша	$1,5 \pm 0,1$	$1,33 \pm 0,02$	$p_{1,2,3} < 0,01$	$p_{1,2,3} < 0,01$
Друга	$1,3 \pm 0,06$	$1,2 \pm 0,06$	$p_{1,2,3} < 0,01$	$p_{1,2,3} < 0,01$
Третя	$1,41 \pm 0,02$	$1,3 \pm 0,02$	$p_{1,2,3} < 0,01$	$p_{1,2,3} < 0,01$

Примітка. p_1 - відмінність рівнів церамідів між групою третьою та другою групою; p_2 - відмінність рівнів церамідів між третьою та першою групою; p_3 - відмінність рівнів церамідів між першою та другою групою.

Фракція керамідів C24:1 після лікування була достовірно зменшена у трьох групах ($p_{1,2,3} < 0,01$).

Таблиця 5.1.4. Концентрація C24:0 у пацієнтів через 3 місяці після лікування (M ± SD)

Група	До лікування	Через 3 місяця	p до лікування	p через 3 місяця
Перша	1,2 ± 0,19	1,9 ± 0,3	$p_{1,2,3} < 0,01$	$p_{1,2,3} < 0,01$
Друга	3,8 ± 0,5	4,2 ± 0,2	$p_{1,2,3} < 0,01$	$p_{1,2,3} < 0,01$
Третя	2,49 ± 0,07	3,0 ± 0,14	$p_{1,2,3} < 0,01$	$p_{1,2,3} < 0,01$

Примітка. p_1 - відмінність рівнів керамідів між групою третьою та другою групою; p_2 - відмінність рівнів керамідів між третьою та першою групою; p_3 - відмінність рівнів керамідів між першою та другою групою.

Концентрація керамідів C24:0 достовірно підвищилася після лікування у трьох групах ($p_{1,2,3} < 0,01$).

Порівняльну характеристику результатів співвідношення C16:0/24:0, C18:0/24:0, C24:1/24:0, C18:0/16:0 у трьох групах пацієнтів після лікування представлено в табл. 5.1.5-5.1.8.

Таблиця 5.1.5. Співвідношення C16:0/24:0 у пацієнтів через 3 місяці після лікування Me (1-й кватиль і 3-й кватиль)

Група	До лікування	Через 3 місяці	p до лікування	p через 3 місяці
Перша	0,40 (0,4; 0,42)	0,20 (0,2; 0,22)	$p_{1,2,3} < 0,01$	$p_{1,2,3} < 0,01$
Друга	0,10 (0,09; 0,1)	0,06 (0,05; 0,06)	$p_{1,2,3} < 0,01$	$p_{1,2,3} < 0,01$
Третя	0,19 (0,18; 0,2)	0,10 (0,1; 0,12)	$p_{1,2,3} < 0,01$	$p_{1,2,3} < 0,01$

Примітка. p_1 - відмінність рівнів керамідів між групою третьою та другою групою; p_2 - відмінність рівнів керамідів між третьою та першою групою; p_3 - відмінність рівнів керамідів між першою та другою групою.

При аналізі співвідношень церамідів після тримісячного лікування було виявлено, що C16:0/24:0 достовірно зменшилось у трьох групах, найбільше (у 2 рази) у пацієнтів, які приймали метформін ($p < 0,01$).

Таблиця 5.1.6. Співвідношення C18:0/24:0 у пацієнтів через 3 місяці після лікування ($M \pm SD$)

Група	До лікування	Через 3 місяці	p до лікування	p через 3 місяці
Перша	0,11 \pm 0,01	0,03 \pm 0,07	$p_{1,2,3} < 0,01$	$p_{1,2,3} < 0,01$
Друга	0,03 \pm 0,005	0,01 \pm 0,05	$p_{1,2,3} < 0,01$	$p_{1,2,3} < 0,01$
Третя	0,05 \pm 0,008	0,03 \pm 0,008	$p_{1,2,3} < 0,01$	$p_{1,2,3} < 0,01$

Примітка. p_1 - відмінність рівнів церамідів між групою третьою та другою групою; p_2 - відмінність рівнів церамідів між третьою та першою групою; p_3 - відмінність рівнів церамідів між першою та другою групою.

На фоні лікування у трьох групах співвідношення церамідів C18:0/24:0 достовірно зменшилося ($p < 0,01$). У пацієнтів першої групи співвідношення церамідів C18:0/24:0 у порівнянні з іншими групами зменшилось в 3,6 рази.

Таблиця 5.1.7. Співвідношення C24:1/24:0 у пацієнтів через 3 місяці після лікування Me (1-й квантиль і 3-й квантиль)

Група	До лікування	Через 3 місяці	p до лікування	p через 3 місяці
Перша	1.2 (1.1; 1.3)	0,7 (0,6; 0,7)	$p_{1,2,3} < 0,01$	$p_{1,2,3} < 0,01$
Друга	0,36 (0,32; 0,39)	0,28 (0,27; 0,28)	$p_{1,2,3} < 0,01$	$p_{1,2,3} < 0,01$
Третя	0,58 (0,56; 0,59)	0,43 (0,42; 0,43)	$p_{1,2,3} < 0,01$	$p_{1,2,3} < 0,01$

Примітка. p_1 - відмінність рівнів церамідів між групою третьою та другою групою; p_2 - відмінність рівнів церамідів між третьою та першою групою; p_3 - відмінність рівнів церамідів між першою та другою групою.

Достовірне зменшення співвідношення C24:1/24:0 було зафіксовано в пацієнтів трьох груп ($p < 0,01$). Особливо позитивна динаміка спостерігалася в пацієнтів з НАЖХП та ЦД 2-го типу, які приймали метформін та в яких C24:1/24:0 зменшилося в 1,7 рази.

Таблиця 5.1.8. Співвідношення C18:0/16:0 у пацієнтів через 3 місяці після лікування (M ± SD)

Група	До лікування	Через 3 місяці	p до лікування	p через 3 місяці
Перша	0,26 ± 0,008	0,20 ± 0,01	$p_{1,2,3} < 0,01$	$p_{1,2,3} < 0,01$
Друга	0,27 ± 0,01	0,23 ± 0,006	$p_{1,2,3} < 0,01$	$p_{1,2,3} < 0,01$
Третя	0,27 ± 0,009	0,27 ± 0,01	$p_{1,2,3} < 0,01$	$p_{1,2,3} < 0,01$

Примітка. p_1 - відмінність рівнів керамідів між групою третьою та другою групою; p_2 - відмінність рівнів керамідів між третьою та першою групою; p_3 - відмінність рівнів керамідів між першою та другою групою.

Варто також зазначити, що співвідношення C18:0/C16:0, яке за даними літератури пов'язане з ризиком розвитку ЦД 2-го типу, зменшилось на фоні специфічного лікування ЦД 2-го типу, без суттєвої динаміки на фоні статинів. Даний результат, а також позитивна кореляція керамідів C18:0, C16:0 та співвідношення їх з показниками вуглеводного обміну підтверджує роль керамідів C16:0 та C18:0 у розвитку IP та ЦД 2-го типу.

Зміни біохімічних та вуглеводних параметрів крові в пацієнтів після проведеного тримісячного лікування наведено в табл. 5.1.9 та 5.1.10.

Таблиця 5.1.9. Порівняльна характеристика біохімічного складу крові у пацієнтів після тримісячного лікування (M ± SD)

Показник	Перша група (n = 51)		Друга група (n = 51)		p
	до лікування	після лікування	до лікування	після лікування	
Маса тіла, кг	95,4 ± 2,1	86 ± 2,0	86 ± 2,2	76,1 ± 2,0	<0,001
ІМТ, кг/м ²	33,0 ± 3,0	29,5 ± 1,5	29,0 ± 1,5	26 ± 1,0	<0,001
АЛТ, Од/л	62 ± 9,5	41,2 ± 5,4	60 ± 9,2	38,3 ± 4,8	0,005
АСТ, Од/л	49,1 ± 5,3	35 ± 3,2	51,2 ± 7,0	32 ± 2,7	<0,001
ЗХ, ммоль/л	7,2 ± 0,5	6,0 ± 0,3	5,5 ± 0,2	4,9 ± 0,2	<0,001
ЛПНГ, ммоль/л	3,75 ± 0,3	2,9 ± 0,2	2,97 ± 0,4	2,0 ± 0,2	<0,001
ТГ, ммоль/л	2,6 ± 0,2	2,1 ± 0,1	1,7 ± 0,2	1,4 ± 0,1	<0,001
КА	3,9 ± 0,4	3,0 ± 0,1	3,2 ± 0,2	2,6 ± 0,2	<0,001

Примітка. p < 0,001 – достовірна різниця між показниками обох груп після лікування.

За результатами нашого лікування було відзначено, що на фоні нашого лікування маса тіла та ІМТ зменшились в обох групах 86 ± 2,0 та 76,1 ± 2,0 відповідно при порівнянні з показниками, які були до лікування. У результаті було досягнуто першочергової мети у зменшенні маси тіла до 10 %. Крім того, на фоні проведеного лікування нами було відзначено покращення біохімічних показників в обох групах. Так, активність АЛТ та АСТ зменшилась і становила у пацієнтів першої групи 41,2 ± 5,4 та 35 ± 3,2 Од/л проти 38,3±4,8 і 32±2,7 Од/л у пацієнтів другої групи (p = 0,005, p < 0,001). Також після тримісячного лікування відбулися зміни в ліпідогамі. ЗХ в пацієнтів із ЦД 2-го знизився і становив 6,0 ± 0,3 проти 4,9 ± 0,2 ммоль/л у пацієнтів без ЦД 2-го типу (p < 0,001). Крім цього, відбулось достовірне зниження ЛПНГ 2,0 ± 0,2 ммоль/л у другій групі проти 2,9±0,2 ммоль/л у пацієнтів першої групи (p < 0,001). Також, було виявлено достовірне зниження рівня ТГ як у пацієнтів першої групи 2,1 ± 0,1 ммоль/л, так і в пацієнтів другої групи 1,4 ± 0,1 ммоль/л (p < 0,001). На фоні зменшення ЗХ у пацієнтів обох груп було достовірне

зменшення КА, який становив $3,0 \pm 0,1$ ммоль/л у групі з ЦД 2-го типу та $2,6 \pm 0,2$ ммоль/л в пацієнтів без ЦД 2-го типу ($p < 0,001$). Дані зміни, на нашу думку, пов'язані з повним дотриманням комплаєнсу між пацієнтом і лікарем, а також з ефективним підбором лікувальної стратегії.

Таблиця 5.1.10. Порівняльна характеристика показників вуглеводного обміну у пацієнтів після тримісячного лікування

Показник	Перша група n = 51		Друга група n = 51		p
	до лікування	після лікування	до лікування	після лікування	
Глюкоза крові, ммоль/л	$8,5 \pm 0,7$	$6,3 \pm 0,3$	$5,4 \pm 0,2$	$5,0 \pm 0,2$	$p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Індекс НОМА	4,1 (4; 4,3)	3,2 (3,1; 3,5)	3,3 (3,1; 3,7)	2,7 (2,4; 3)	$p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
HbA1c, %	$7,0 \pm 0,3$	$6,1 \pm 0,5$	$5,3 \pm 0,2$	$5,1 \pm 0,1$	$p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$

Примітка. 1) p_1 – до лікування; p_2 – після лікування; 2) дані в таблиці представлено у вигляді $M \pm SD$ або медіани (1-й квантиль та 3-й квантиль);

Порівнюючи зміни вуглеводного обміну в обох групах, було виявлено, що рівні глюкози крові та HbA1c достовірно зменшилися в першій групі та становили $6,3 \pm 0,3$ та $6,1 \pm 0,5$ відповідно ($p < 0,001$). Після проведеного тримісячного лікування достовірно зниження продемонстрував індекс НОМА 3,2 (3,1; 3,5) у пацієнтів першої групи та 2,7 (2,4; 3,0) у пацієнтів другої групи ($p < 0,001$). Як і очікувалося, лікування шляхом модифікації способу життя та прийому метформіну у відповідній дозі дозволили зменшити показники вуглеводного обміну в обох групах. Однак показник та медіана індексу НОМА у групі пацієнтів без ЦД 2-го типу залишалися вище нормативного значення. Для з'ясування причини, чому лікування у групі пацієнтів з НАЖХП без ЦД 2-го типу було малоефективне, ми порівняли в них концентрацію церамідів до та після лікування (табл. 5.1.11).

Таблиця 5.1.11 Порівняльна характеристика керамідів у пацієнтів другої групи до та після лікування через 3 місяці

Церамід, мкмоль/л	Пацієнти з НОМА <2,5 (n = 28)		Пацієнти з НОМА >2,5 (n = 23)		р після лікування
	до лікування	після лікування	до лікування	після лікування	
C16:0	0,39 (0,37; 0,41)	0,24(0,22; 0,27)	0,45 (0,45; 0,48)	0,32 (0,31; 0,35)	<0,001
C18:0	0,123 (0,12; 0,125)	0,06 (0,058; 0,065)	0,132 (0,13; 0,136)	0,073 (0,071; 0,08)	<0,001
C24:0	4,2 (3,9; 4,4)	4,4 (4,3; 4,5)	3,5 (3,1; 3,6)	4,1(4,1; 4,2)	<0,001
C24:1	1,25 ± 0,03	1,19 (1,17; 1,19)	1,35 ± 0,02	1,24 (1,22; 1,25)	<0,001

Примітка. Дані в таблиці представлено у вигляді $M \pm SD$ або медіани (1-й квантиль та 3-й квантиль).

При аналізі даних виявлено, що у частини пацієнтів без ЦД 2-го типу та з неефективним лікуванням був підвищений базальний рівень керамідів C16:0, C18:0, C24:1 ($p < 0,001$). Крім того, фракція C24:0 у них була нижча, ніж у групі пацієнтів з успішним лікуванням 3,5 проти 4,2 мкмоль/л відповідно ($p < 0,001$). У зв'язку з цим можна зробити висновок, що пацієнти з НАЖХП без ЦД 2-го типу, базальний рівень керамідів яких підвищений, крім модифікації способу життя, потребують додавання фармакологічних препаратів (метформіну).

Через 6 місяців після лікування було порівняно концентрації керамідів у трьох групах.

Порівняльна характеристика результатів концентрації керамідів C16:0 у трьох групах пацієнтів через 3 та 6 місяців після лікування наведено в табл. 5.1.12 та на рис. 5.1.1.

Таблиця 5.1.12. Концентрація С16:0 у трьох групах через 3 і 6 місяців після лікування (М ± SD)

Група	Через 3 місяці	Через 6 місяців	p, через 6 місяців
Перша	0,42 ± 0,05	0,24 ± 0,02	p ₂ < 0,01, p ₃ = 0,06
Друга	0,28 ± 0,05	0,19 ± 0,01	p ₁ < 0,01, p ₃ = 0,06
Третя	0,31 ± 0,01	0,24 ± 0,01	p ₁ < 0,01, p ₂ < 0,01

Примітка. p₁ - відмінність рівнів керамідів між групою третьою та другою групою; p₂ - відмінність рівнів керамідів між третьою та першою групою; p₃ - відмінність рівнів керамідів між першою та другою групою.

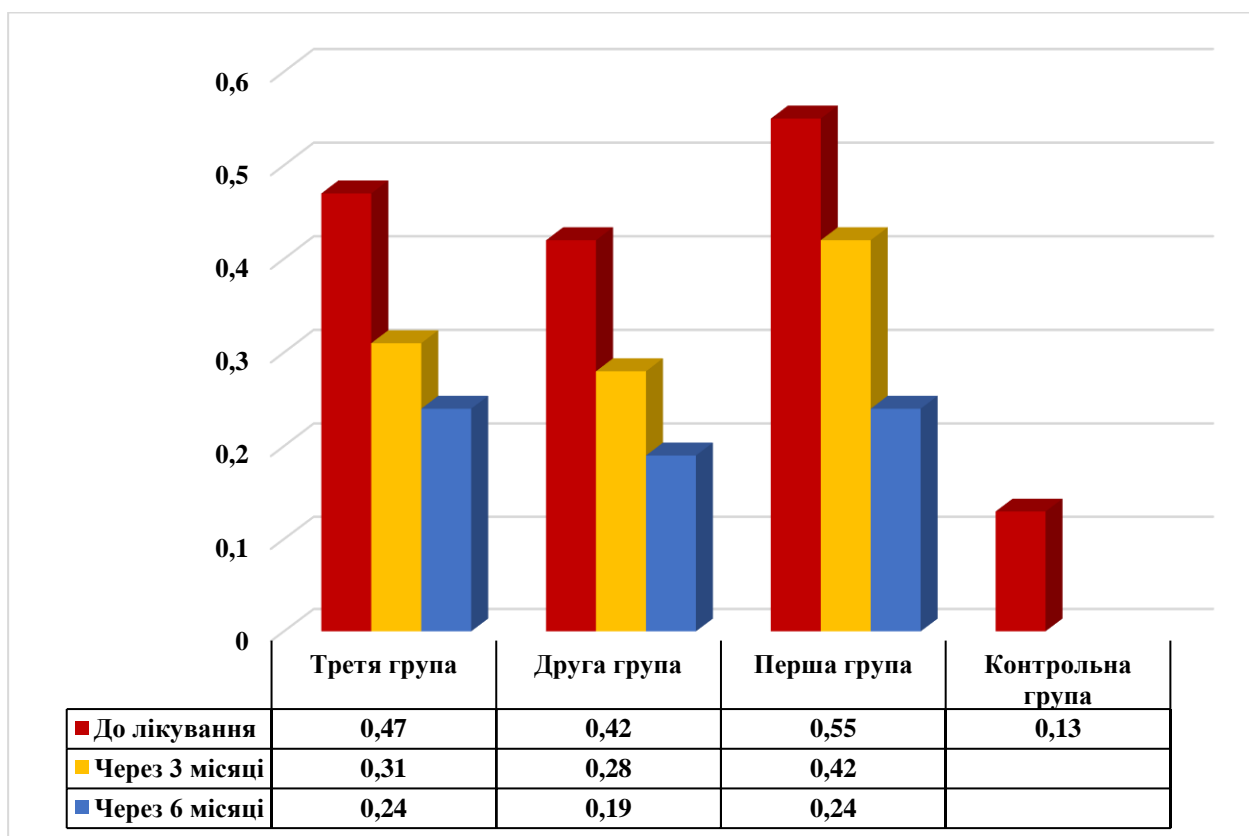


Рисунок 5.1.1. Концентрація керамідів С16:0 у різних групах пацієнтів до та після лікування через 3 та 6 місяців

При порівнянні ефективності лікування через 6 місяців було виявлено зменшення керамідів С16:0 у трьох групах. Проте концентрація керамідів С16:0 у пацієнтів другої групи статистично не відрізнялася від концентрації в пацієнтів першої групи (p₃ = 0,06). Варто зазначити, що на фоні прийому

метформіну в пацієнтів першої групи концентрація керамідів С16:0 через 6 місяців зменшилася майже вдвічі.

Порівняльну характеристику результатів концентрації керамідів С18:0 у трьох групах пацієнтів через 3 та 6 місяців після лікування наведено в табл. 5.1.13 та на рис. 5.1.2.

Таблиця 5.1.13 Концентрація С18:0 у трьох групах пацієнтів через 3 і 6 місяців після лікування Ме (1-й кватиль, 3-й кватиль)

Група	Через 3 місяці	Через 6 місяців	p, через 6 місяців
Перша	0,085 (0,078; 0,091)	0,072 (0,072; 0,075)	$p_{1,2,3} < 0,01$
Друга	0,067 (0,062; 0,073)	0,056 (0,054; 0,058)	$p_{1,2,3} < 0,01$
Третя	0,087 (0,085; 0,089)	0,079 (0,075; 0,08)	$p_{1,2,3} < 0,01$

Примітка. p_1 - відмінність рівнів керамідів між групою третьою та другою групою; p_2 - відмінність рівнів керамідів між третьою та першою групою; p_3 - відмінність рівнів керамідів між першою та другою групою.

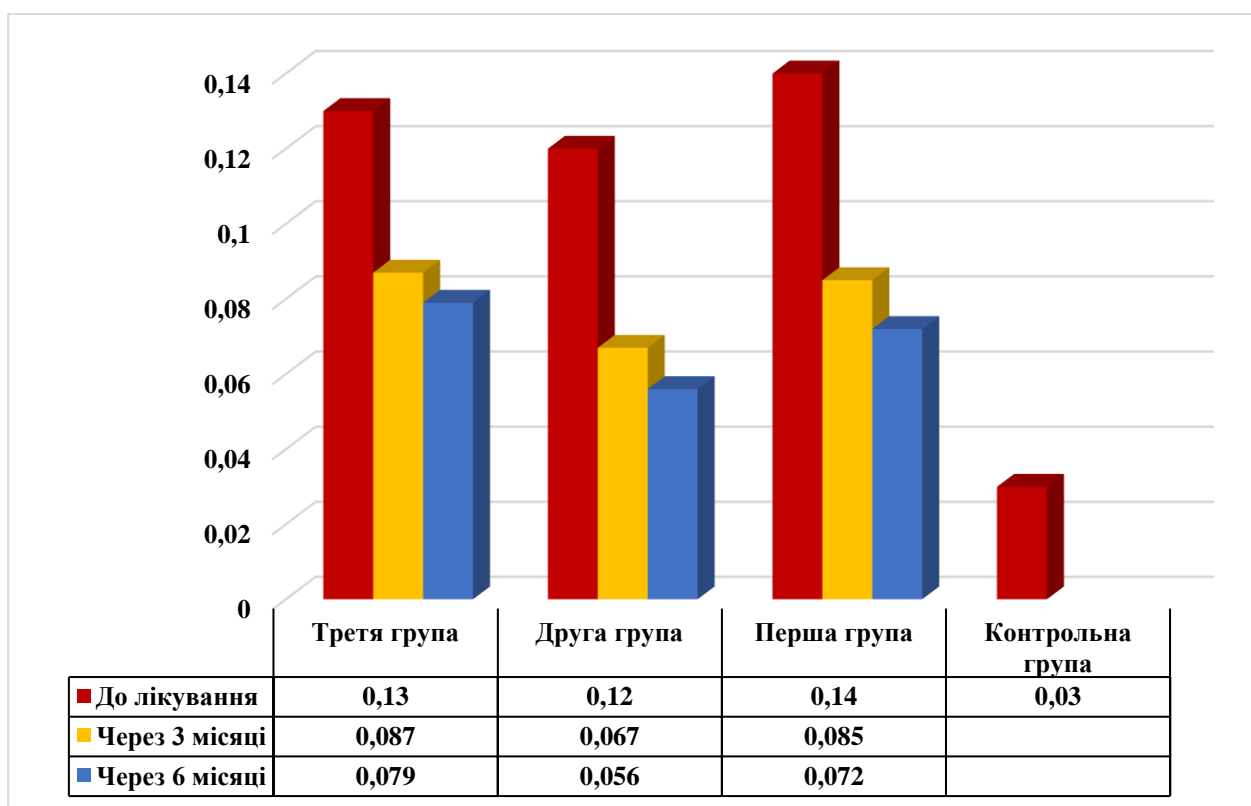


Рисунок 5.1.2. Концентрація керамідів С18:0 у різних групах пацієнтів до та після лікування через 3 та 6 місяців

Достовірно зменшення концентрації C24:1 спостерігалось в пацієнтів трьох груп ($p_{1,2,3} < 0,01$).

Порівняльну характеристику результатів концентрації керамідів C24:1 у трьох групах пацієнтів через 3 та 6 місяців після лікування наведено в табл. 5.1.14 та на рис. 5.1.3.

Таблиця 5.1.14. Концентрація C24:1 у трьох групах пацієнтів через 3 і 6 місяців після лікування ($M \pm SD$)

Група	Через 3 місяці	Через 6 місяців	p, через 6 місяців
Перша	1,33 \pm 0,02	1,2 \pm 0,02	$p_{1,2,3} < 0,01$
Друга	1,2 \pm 0,06	1,14 \pm 0,01	$p_{1,2,3} < 0,01$
Третя	1,3 \pm 0,02	1,23 \pm 0,01	$p_{1,2,3} < 0,01$

Примітка. p_1 - відмінність рівнів керамідів між групою третьою та другою групою; p_2 - відмінність рівнів керамідів між третьою та першою групою; p_3 - відмінність рівнів керамідів між першою та другою групою.

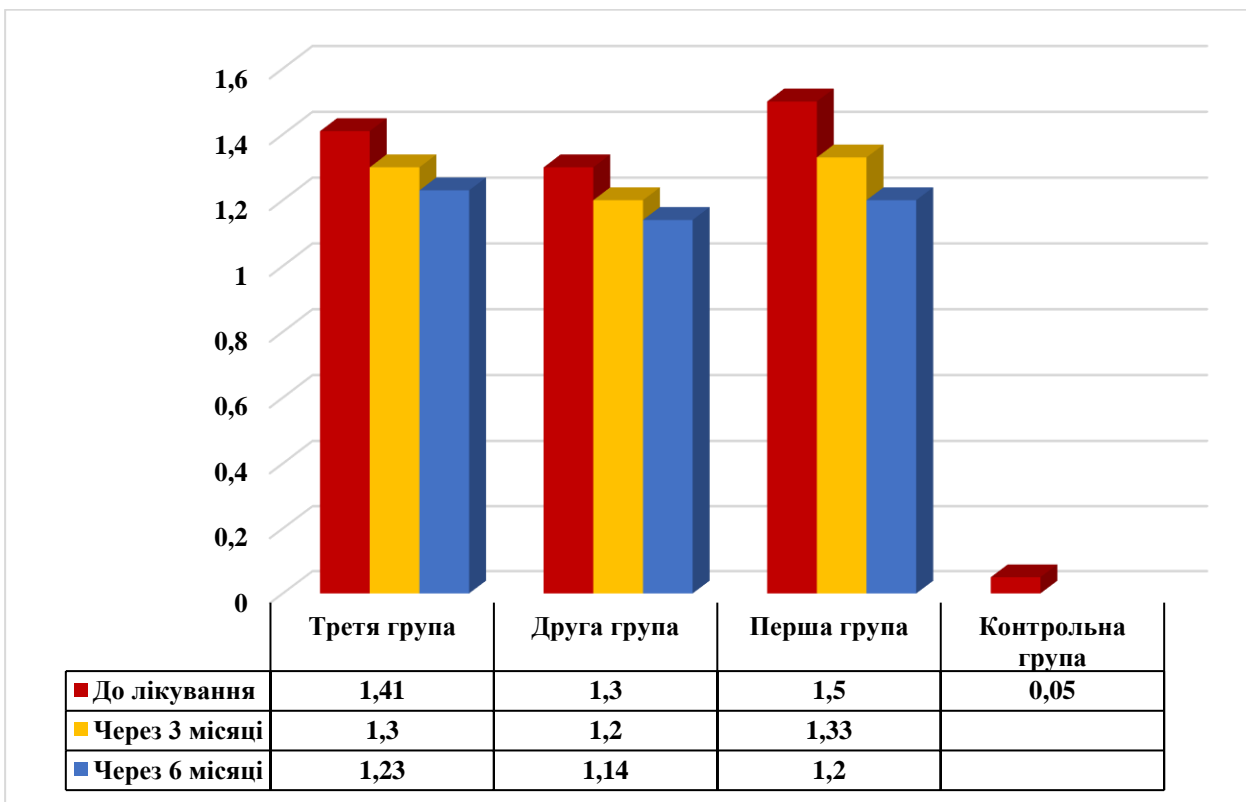


Рисунок 5.1.3. Концентрація керамідів C24:1 у різних групах пацієнтів до та після лікування через 3 та 6 місяців

Порівняльну характеристику результатів концентрації керамідів С24:0 у трьох групах пацієнтів через 3 та 6 місяців після лікування наведено в табл. 5.1.15 та на рис. 5.1.4.

Таблиця 5.1.15. Концентрація С24:0 у трьох групах пацієнтів через 3 і 6 місяців після лікування (М ± SD)

Група	Через 3 місяця	Через 6 місяців	р, через 6 місяців
Перша	1,9 ± 0,3	2,35 ± 0,08	$p_{1,2,3} < 0,01$
Друга	4,2 ± 0,2	4,32 ± 0,03	$p_{1,2,3} < 0,01$
Третя	3,0 ± 0,14	3,22 ± 0,08	$p_{1,2,3} < 0,01$

Примітка. p_1 - відмінність рівнів керамідів між групою третьою та другою групою; p_2 - відмінність рівнів керамідів між третьою та першою групою; p_3 - відмінність рівнів керамідів між першою та другою групою.

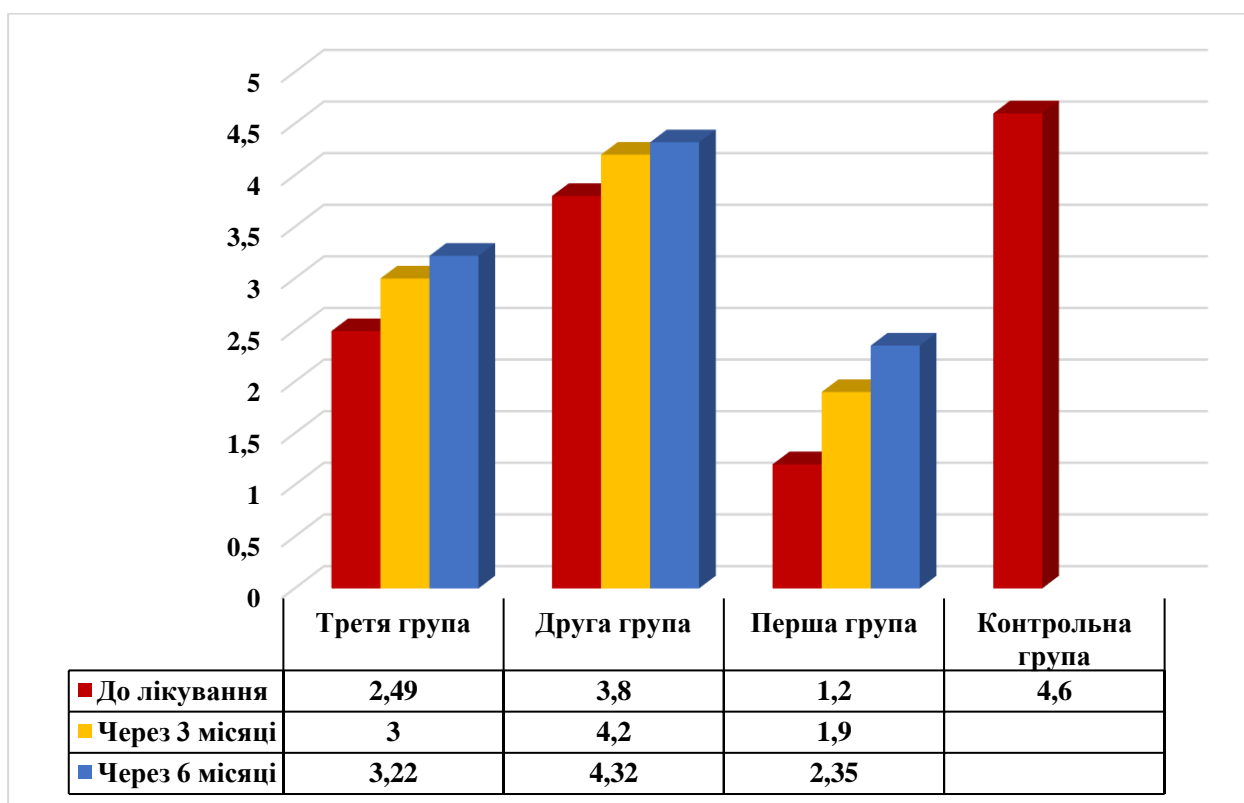


Рисунок 5.1.4 Концентрація керамідів С24:0 у різних групах пацієнтів до та після лікування через 3 та 6 місяців

Концентрація фракції С24:0 після шестимісячного лікування достовірно збільшилася у трьох групах ($p_{1,2,3} < 0,01$). Особливо позитивна динаміка

відзначалася в пацієнтів першої групи, в яких концентрація С24:0 збільшилася в 1,2 раза в порівнянні з пацієнтами інших груп.

Порівняльну характеристику результатів концентрації керамідів С16:0/24:0 у трьох групах пацієнтів через 3 та 6 місяців після лікування наведено в табл. 5.1.16 та на рис. 5.1.5.

Таблиця 5.1.16. Співвідношення С16:0/24:0 у трьох групах пацієнтів через 3 і 6 місяців після лікування Ме (1-й квантиль, 3-й квантиль)

Група	Через 3 місяці	Через 6 місяців	р, через 3 місяці	р, через 6 місяців
Перша	0,20 (0,2; 0,22)	0,1 (0,09; 0,1)	$p_{1,2,3} < 0,01$	$p_{1,2,3} < 0,01$
Друга	0,06 (0,05; 0,06)	0,04 (0,03; 0,04)	$p_{1,2,3} < 0,01$	$p_{1,2,3} < 0,01$
Третя	0,10 (0,1; 0,12)	0,07 (0,07; 0,0075)	$p_{1,2,3} < 0,01$	$p_{1,2,3} < 0,01$

Примітка. p_1 - відмінність рівнів керамідів між групою третьою та другою групою; p_2 - відмінність рівнів керамідів між третьою та першою групою; p_3 - відмінність рівнів керамідів між першою та другою групою.

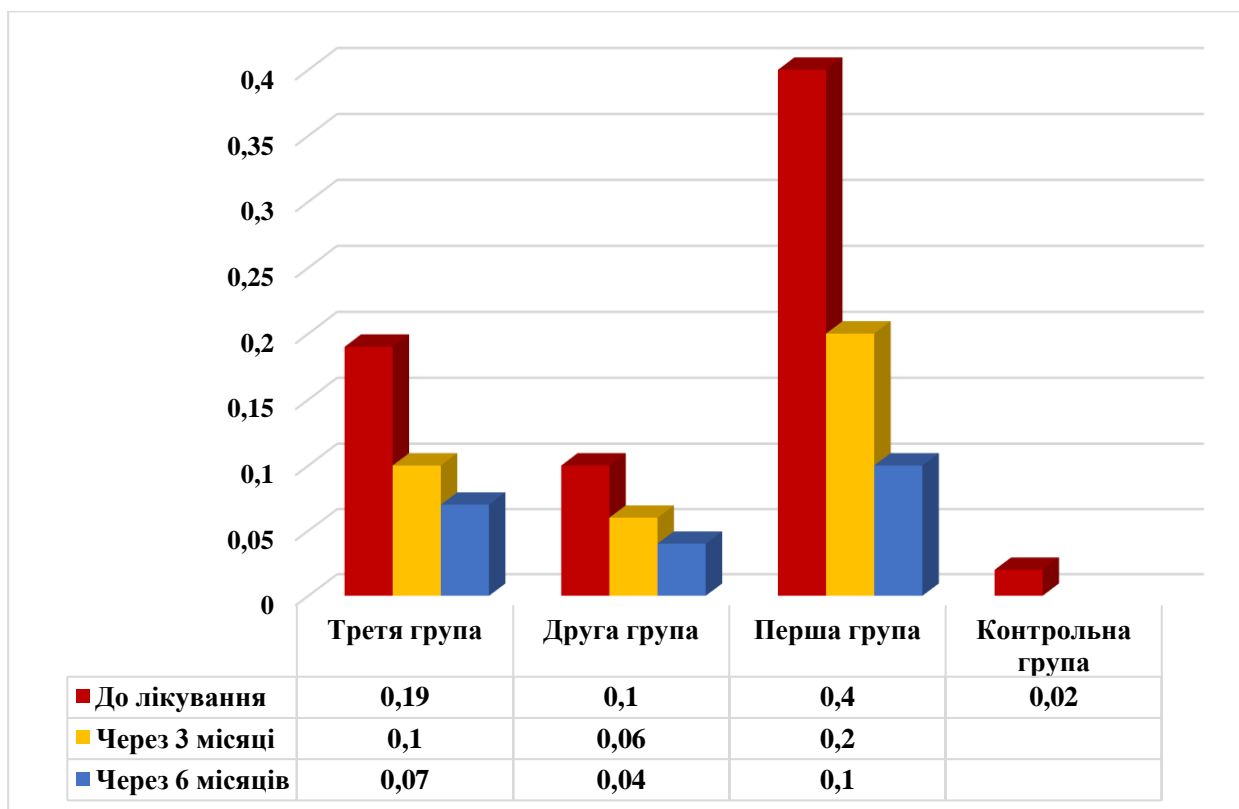


Рисунок 5.1.5. Співвідношення керамідів С16:0/24:0 у різних групах пацієнтів до та після лікування через 3 та 6 місяців

У результаті аналізу результатів шестимісячного лікування виявлено достовірне зменшення співвідношення С16:0/24:0 у трьох групах ($p_{1,2,3} < 0,01$). У пацієнтів першої групи, які приймали метформін, С16:0/24:0 зменшилося вдвічі порівняно з пацієнтами інших груп.

Порівняльну характеристику результатів концентрації керамідів С18:0/24:0 у трьох групах пацієнтів через 3 та 6 місяців після лікування наведено в табл. 5.1.17 та на рис. 5.1.6.

Таблиця 5.1.17. Співвідношення С18:0/24:0 у різних груп пацієнтів через 3 і 6 місяців після лікування Ме (1-й квантиль, 3-й квантиль)

Група	Через 3 місяці	Через 6 місяців	p, через 3 місяці	p, через 6 місяців
Перша	0,03 ± 0,07	0,02 (0,02; 0,03)	$p_{1,2,3} < 0,01$	$p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,01$
Друга	0,01 ± 0,05	0,01 (0,01; 0,02)	$p_{1,2,3} < 0,01$	$p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,01$
Третя	0,03 ± 0,008	0,02 (0,01; 0,02)	$p_{1,2,3} < 0,01$	$p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$

Примітка. p_1 - відмінність рівнів керамідів між групою третьою та другою групою; p_2 - відмінність рівнів керамідів між третьою та першою групою; p_3 - відмінність рівнів керамідів між першою та другою групою.

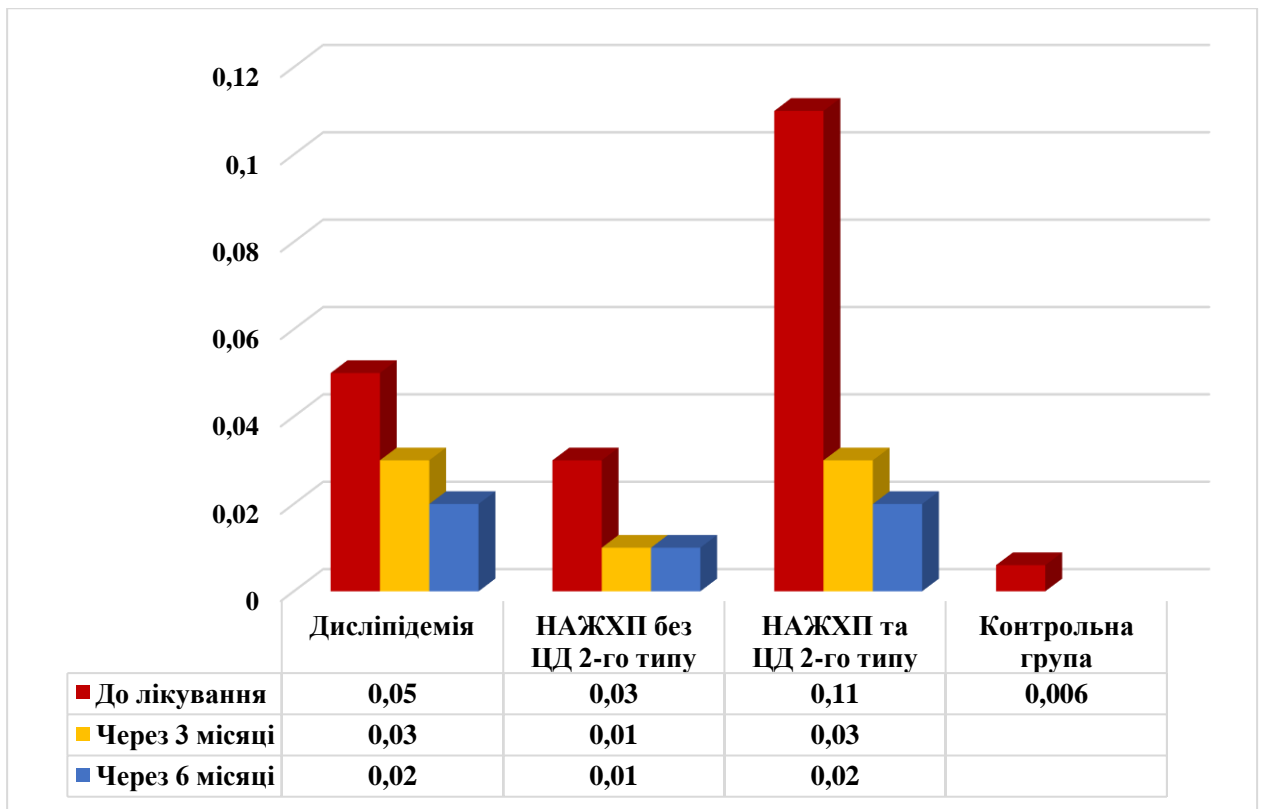


Рисунок 5.1.6. Співвідношення церамідів С18:0/24:0 у різних групах пацієнтів до та після лікування через 3 та 6 місяців

Зменшення співвідношення С18:0/24:0 через 6 місяців було статистично незначущим при порівнянні пацієнтів третьої та другої групи ($p_1 > 0,05$). Проте відзначалося достовірне зменшення С18:0/24:0 при порівнянні третьої групи з другою та першою групою ($p_2 < 0,05$, $p_3 < 0,01$).

Порівняльну характеристику результатів концентрації церамідів С24:1/24:0 у трьох групах пацієнтів через 3 та 6 місяців після лікування наведено в табл. 5.1.18 та на рис. 5.1.7.

Таблиця 5.1.18. Співвідношення С24:1/24:0 у трьох групах пацієнтів через 3 і 6 місяців після лікування Ме (1-й квантиль, 3-й квантиль)

Група	Через 3 місяці	Через 6 місяців	p, через 3 місяці	p, через 6 місяців
Перша	0,7 (0,6; 0,7)	0,5 (0,49; 0,51)	$p_{1,2,3} < 0,01$	$p_{1,2,3} < 0,01$
Друга	0,28 (0,27; 0,28)	0,26 (0,25; 0,26)	$p_{1,2,3} < 0,01$	$p_{1,2,3} < 0,01$
Третя	0,43 (0,42; 0,43)	0,38 (0,37; 0,39)	$p_{1,2,3} < 0,01$	$p_{1,2,3} < 0,01$

Примітка. p_1 - відмінність рівнів церамідів між групою третьою та другою групою; p_2 - відмінність рівнів церамідів між третьою та першою групою; p_3 - відмінність рівнів церамідів між першою та другою групою.

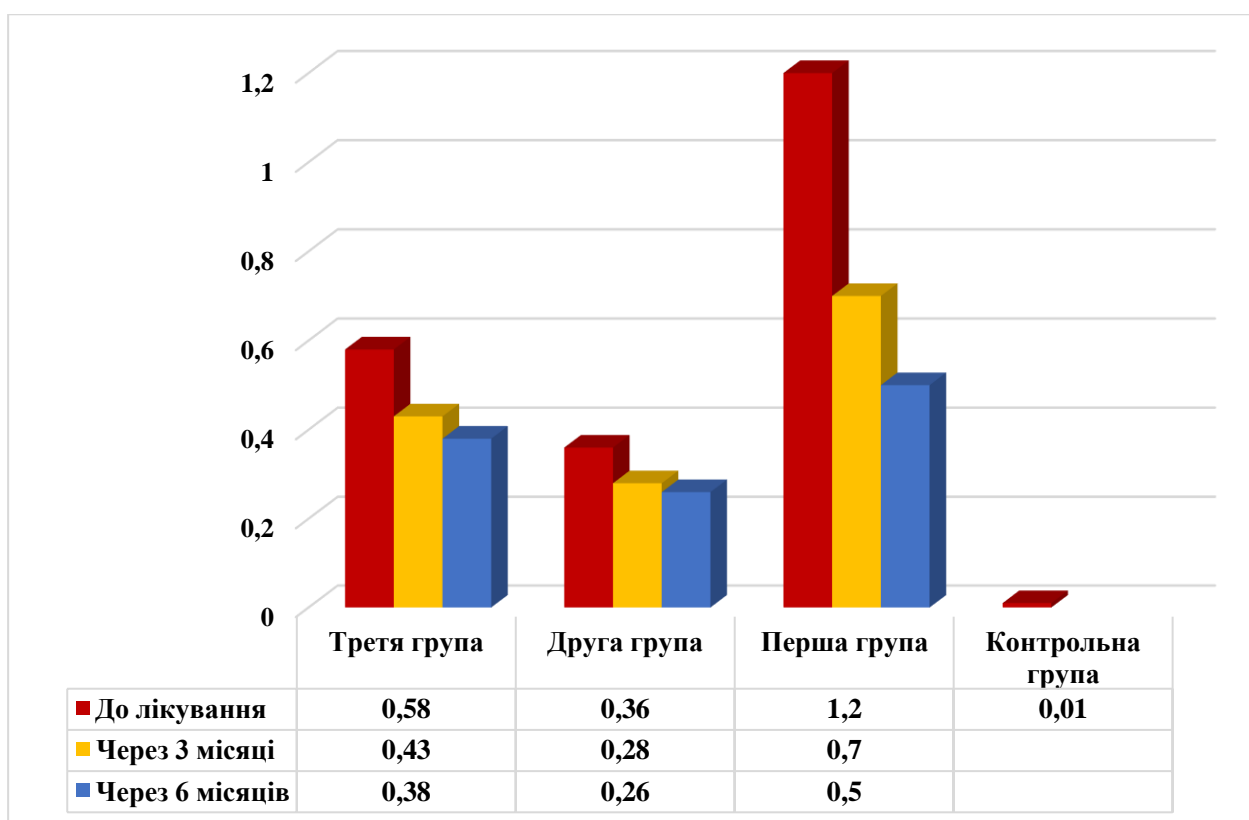


Рисунок 5.1.7. Співвідношення церамідів С24:1/24:0 в різних групах пацієнтів до та після лікування через 3 та 6 місяців

При порівнянні даних було виявлено, що на фоні шестимісячного лікування співвідношення С24:1/24:0 достовірно зменшилося у трьох групах

($p_{1,2,3} < 0,01$). Найбільші зміни в порівнянні з іншими групами спостерігалися в пацієнтів першої групи, в яких співвідношення C24:1/24:0 зменшилося в 1,7 рази.

Порівняльну характеристику результатів концентрації керамідів C18:0/16:0 у трьох групах пацієнтів через 3 та 6 місяців після лікування наведено в табл. 5.1.19 та на рис. 5.1.8.

Таблиця 5.1.19. Співвідношення C18:0/16:0 у трьох групах пацієнтів через 3 і 6 місяців після лікування ($M \pm SD$)

Група	Через 3 місяці	Через 6 місяців	p, через 3 місяці	p, через 6 місяців
Перша	0,20 ± 0,01	0,29 ± 0,01	$p_{1,2,3} < 0,01$	$p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,01$ $p_3 = 1,00$
Друга	0,23 ± 0,006	0,29 ± 0,01	$p_{1,2,3} < 0,01$	$p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,01$ $p_3 > 0,01$
Третя	0,27 ± 0,01	0,33 ± 0,01	$p_{1,2,3} < 0,01$	$p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,01$

Примітка. p_1 - відмінність рівнів керамідів між групою третьою та другою групою; p_2 - відмінність рівнів керамідів між третьою та першою групою; p_3 - відмінність рівнів керамідів між першою та другою групою.

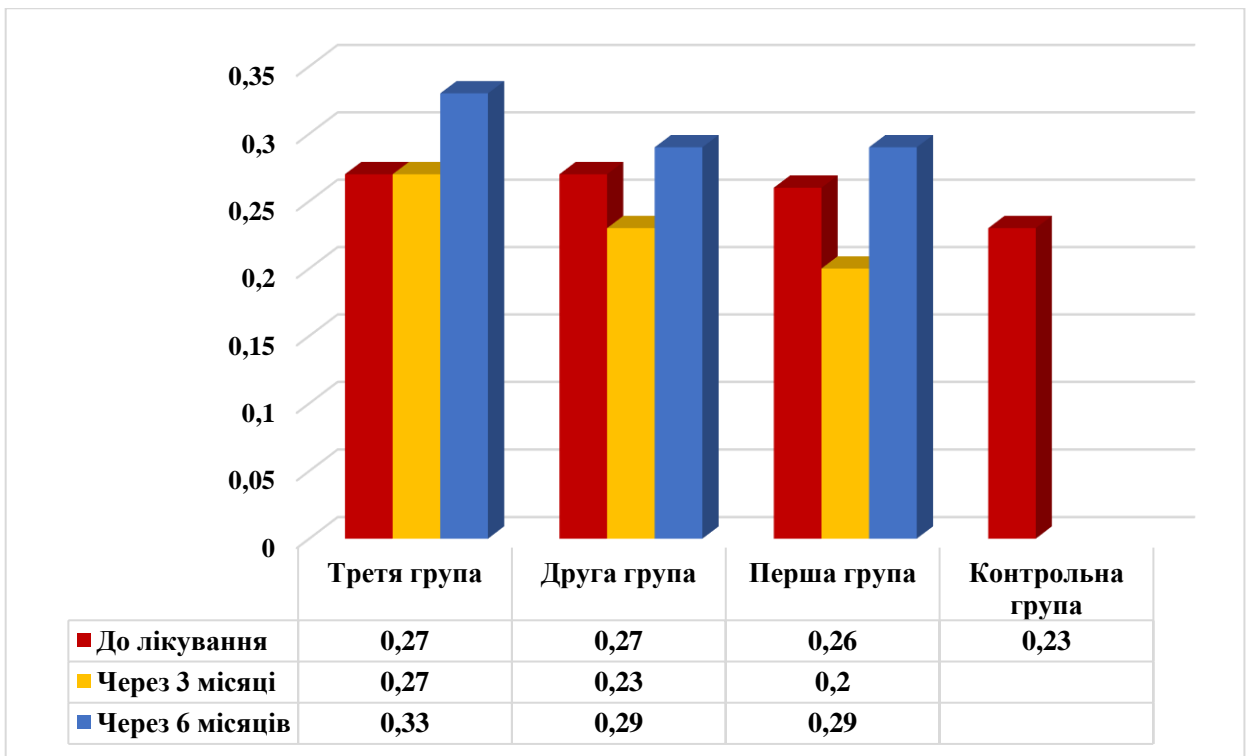


Рисунок 5.1.8 Співвідношення керамідів C18:0/16:0 у різних групах пацієнтів до та після лікування через 3 та 6 місяців

Аналіз результатів виявив достовірне збільшення співвідношення керамідів C18:0/16:0 у пацієнтів третьої групи в порівнянні з першою та другою групами ($p_1 < 0,01$, $p_2 < 0,01$). Однак відмінність у співвідношенні C18:0/16:0 у пацієнтів першої та другої груп не була статистично значущою ($p > 0,01$). Як видно з діаграми, співвідношення C18:0/C16:0 збільшилося в усіх групах у кінці шостого місяця лікування. Дані зміни пояснюються тим, що загальна концентрація керамідів C16:0 та C18:0 на фоні лікування зменшилася. У зв'язку з цим співвідношення збільшилося. Впливає висновок, що чим більший ступінь важкості ІР, тим менше співвідношення C18:0/C16:0. Варто також зазначити, що співвідношення керамідів C18:0/C16:0 у пацієнтів першої та другої групи в кінці лікування вирівнялося.

Вплив лікування на вуглеводний обмін у пацієнтів основних груп після шестимісячного лікування наведено в табл. 5.1.20.

Таблиця 5.1.20. Порівняльна характеристика показників вуглеводного обміну у пацієнтів основних груп через 3 і 6 місяців після лікування

Показник	Перша група n = 51		Друга група n = 51		p
	Через 3 місяці	Через 6 місяців	Через 3 місяці	Через 6 місяців	
Глюкоза крові, ммоль/л	6,3 ± 0,3	5,8±0,3	5,0 ± 0,2	4,8± 0,2	p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Індекс НОМА	3,2 (3,1; 3,5)	2,6 (2,4; 2,8)	2,7 (2,4; 3)	2,3 (2,2; 2,5)	p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
НbA1c, %	6,1 ± 0,5	5,6 ± 0,3	5,1 ± 0,1	5,0 ± 0,1	p ₁ <0,001 p ₂ <0,001

Примітка. p₁ – через 3 місяці після лікування; p₂ – через 6 місяців після лікування.

При аналізі показників вуглеводного обміну в пацієнтів основних груп через 3 і 6 місяців після лікування виявлено достовірне зниження індексу НОМА в обох групах (p < 0,001). Крім того, на фоні прийому метформіну в пацієнтів з НАЖХП і ЦД 2-го типу спостерігалось достовірне зниження загального рівня глюкози крові та НbA1c на рівні значимості p < 0,001.

Динаміку зміни індексу НОМА показано на рис. 5.1.9.

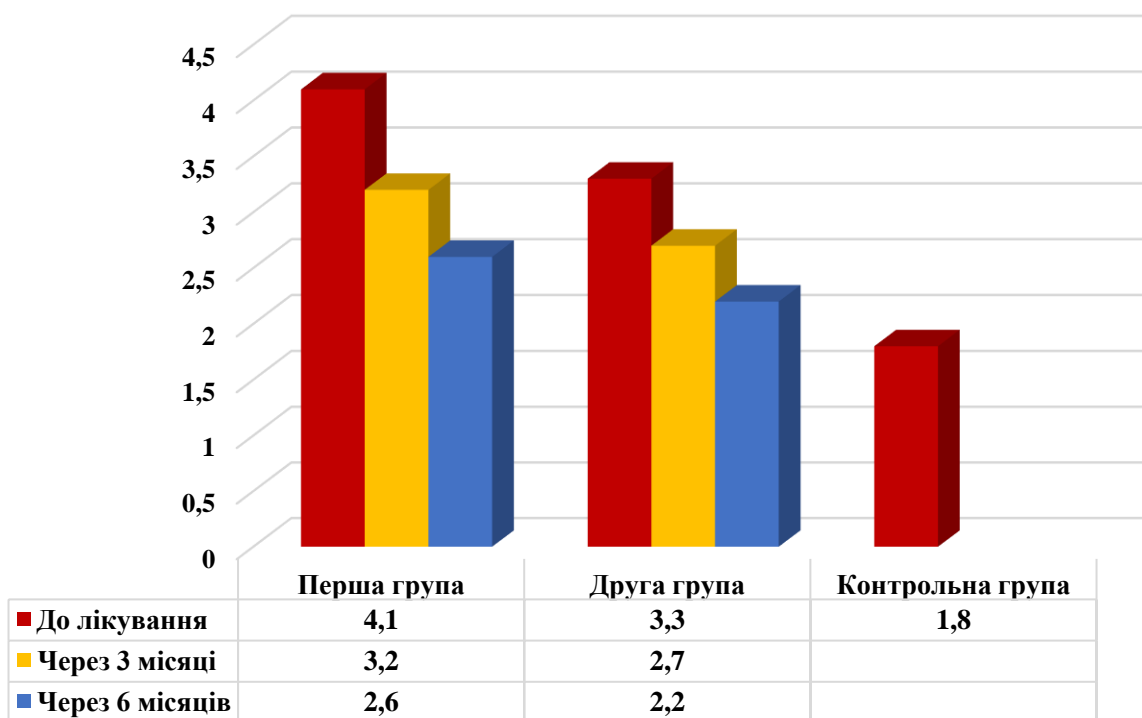


Рисунок 5.1.9. Індекс НОМА у пацієнтів основних груп до та після лікування через 3 і 6 місяців

У результаті аналізу, було виявлено позитивну динаміку зниження індекса НОМА у пацієнтів основних груп через 3 та 6 місяців після лікування.

5.2. Прогностична роль керамідів С16:0 в підборі оптимального лікування в пацієнтів з НАЖХП без ЦД 2-го типу

Для визначення оптимального лікування пацієнтам з НАЖХП без ЦД 2-го типу було проаналізовано дані 51 пацієнта. Усі пацієнти були розділені на підгрупи:

Перша підгрупа – пацієнти з успішним лікуванням (23 пацієнта).

Друга підгрупа – пацієнти із частково успішним лікуванням (28 пацієнта).

Із 28 факторів методом покрокового включення/включення змінних (stepwise method) на підставі використання інформаційного критерію Акаїке (Akaike information criterion, AIC) було відібрано найбільш значимий фактор, що впливає на успішність лікування пацієнтів з НАЖХП без ЦД 2-го типу.

При виборі цього методу відбору незалежних ознак для оцінки цінності моделі розраховується показник:

$$AIC = 2Ч_m + NЧ \ln(SSRes/N), \quad (5.2.1)$$

де m – кількість факторних змінних, що включені в модель, N – об'єм вибірки;
 $SSRes$ – сума квадратів залишків.

Результати оцінки коефіцієнта моделі наведено в табл. 5.2.1.

Таблиця 5.2.1. Коефіцієнт моделі прогнозування успішного лікування пацієнтів з НАЖХП без ЦД 2-го типу

Показник	Значення коефіцієнта моделі, $b \pm mb$	Рівень значимості відмінності коефіцієнта від 0, p
Const	-843,2	-0,004
Цераміди C16:0	2053,9	0,004*

* $p < 0,05$ – відмінність параметра моделі від 0 статистично значима.

Графічне представлення перевірки прогностичних властивостей моделі виконували на основі побудови ROC-кривої (Receiver Operator Characteristic), яка показує залежність успіху лікування пацієнтів з НАЖХП без ЦД 2-го типу (істинно позитивних) від рівня керамідів C16:0 у плазмі крові. Значення площі під кривою AUC (Area Under Curve) було 0,998.

ROC-аналіз отриманої моделі (табл. 5.2.2., рис. 5.2.1) виявив її характеристики, які є показником відмінної якості досліджуваної моделі.

Таблиця 5.2.2. Результати ROC-аналізу

Характеристики ROC-кривої		95% ДІ	
Площа	Значимість P	Нижня границя	Верхня границя
0,998	0,001	0,992	0,999

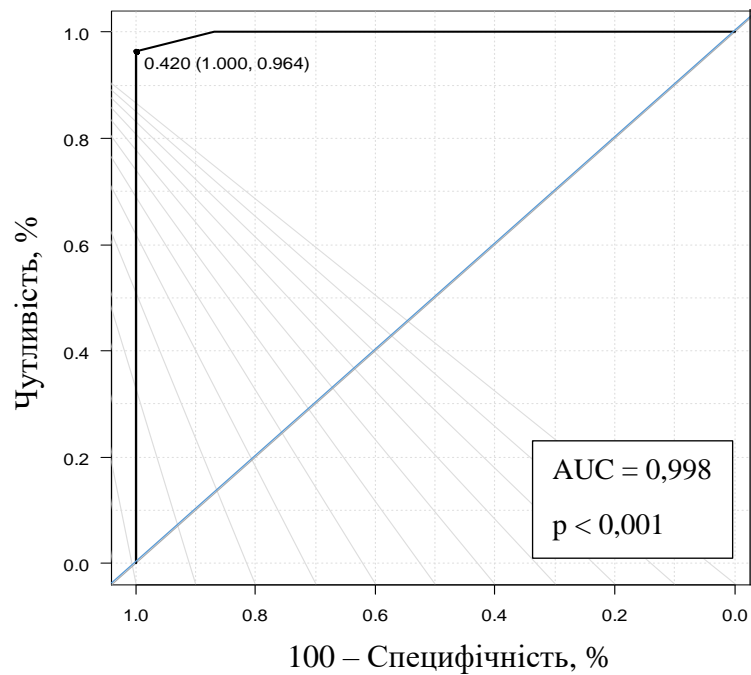


Рисунок 5.2.1. ROC крива успішності лікування пацієнтів з НАЖХП без ЦД 2-го типу на основі С16:0

Таким чином, встановлено, що успішність лікування пацієнтів з НАЖХП без ЦД 2-го типу залежить від рівня фракції керамідів С16:0 в плазмі крові ($p < 0,001$). Порогом керамідів С16:0 для успішного лікування вважається їхній рівень 0,42 мкмоль/л. Збільшення рівня керамідів С16:0 вище цього рівня дає змогу спрогнозувати успішність лікування із чутливістю 100 % та специфічністю 96,4 % у пацієнтів з НАЖХП без ЦД 2-го типу.

Отримані дані у процесі лікування та порівнюючи їх з результатами до лікування, свідчать про ефективність різних стратегій лікування у зниженні рівня керамідів та їхніх співвідношень. Особливо це спостерігається у групі пацієнтів, які приймали метформін. Крім того у процесі лікування було з'ясовано, що ефективність лікування у пацієнтів з НАЖХП без ЦД 2-го типу залежить від їхнього вихідного рівня керамідів. Чим вище рівень керамідів у них, тим ефективність модифікації способу життя нижче. На додаток до цього за допомогою ROC-кривої було продемонстровано, що успішність лікування пацієнтів з НАЖХП без ЦД 2-го типу залежить від рівня фракції керамідів С16:0 в плазмі крові з чутливістю 100 % та специфічністю 96,4 %.

РОЗДІЛ 6

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

НАЖХП є однією з найбільш актуальних проблем у медицині. Захворюваність за даними різних досліджень у дорослій популяції коливається в межах від 17 до 46 % залежно від статі, віку та етнічної приналежності [176].

НАЖХП - це мультидисциплінарна проблема, оскільки виступає головною ланкою в розвитку захворювань з боку різних органів та систем, до яких насамперед відносяться ЦД 2-го типу, ожиріння, ІР, дисліпідемія [176]. Результати численних досліджень демонструють, що ризик розвитку НАЖХП в пацієнтів з ЦД 2-го типу в 5 - 9 разів вище, ніж у загальній популяції [6]. Систематичний огляд досліджень, в яких брали участь близько 90 тис. пацієнтів, засвідчив, що поширеність НАЖХП серед пацієнтів із ЦД 2-го типу становила 58 % [179]. Враховуючи кількість хворих на ЦД 2-го типу в Україні та світі (понад 1,2 млн хворих за даними МОЗ України, 2016 р), актуальність ранньої діагностики та попередження НАЖХП і ЦД 2-го типу не викликає жодних сумнівів.

Зважаючи на глобальність проблеми, що виникає навколо НАЖХП, залишається відкритим питанням щодо діагностики та прогнозу НАЖХП. На даний час існує великий арсенал діагностичних панелей та індексів, що володіють високою точністю та специфічністю. Усі вони направлені на виявлення та оцінку ступеня важкості НАЖХП. Однак, враховуючи мультисистемний характер, що притаманний НАЖХП, актуальним є пошук нових малоінвазивних маркерів, які дозволять враховувати широкий спектр порушень, що виникають при НАЖХП з боку інших органів та систем, а також комплексно оцінити та спрогнозувати ризики, що виникають у таких пацієнтів. Одними з таких маркерів виступають цераміди та їхні співвідношення.

Сьогодні цераміди широко використовуються в якості прогностичних маркерів розвитку ІР, ЦД 2-го типу та серцево-судинних катастроф. Створено

стандартизовані шкали, що дає змогу спрогнозувати розвиток цих ускладнень у пацієнтів з НАЖХП. Одна з них - це шкала керамідного ризику (створена клінікою «The Mayo Clinic»), за якою можна оцінити прогноз та смертність пацієнтів з НАЖХП за 12-бальною шкалою (нижче таблиця) [107].

Показник/співвідношення	0 балів	1 бал	2 бали
Цераміди C16:0, мкмоль/л	< 0,29	0,29 – 0,33	≥ 0,34
Цераміди C18:0, мкмоль/л	< 0,11	0,11 – 0,13	≥ 0,14
Цераміди C24:1, мкмоль/л	< 1,14	1,14 – 1,33	≥ 1,34
Цераміди C16:0/24:0	< 0,08	0,08 – 0,10	≥ 0,11
Цераміди C18:0/24:0	< 0,03	0,03 – 0,04	≥ 0,05
Цераміди C24:1/24:0	< 0,35	0,35 – 0,42	≥ 0,43

Примітка. 0 - 2 бали низький, 3 - 6 балів помірний, 7 - 9 балів підвищений, 10 - 12 балів високий ризик.

Сума балів оцінює чотирирічний ризик появи та смертності від серцево-судинних катастроф або ризик загальної смертності через 18 років [107].

На теперішній час існує багато різновидів керамідів, однак найбільший інтерес представляють кераміди C16:0, C18:0, C24:0, C24:1 та їхні співвідношення C16:0/C24:0, C18:0/C24:0, C24:1/C24:0, C18:0/C16:0. Саме визначення цих фракцій дає змогу оцінювати мультисистемний характер порушень, тому що вони беруть участь у розвитку НАЖХП, ІР та ЦД 2-го типу. Крім того, доведено їхню роль у розвитку різних серцево-судинних захворювань (інфаркт, інсульт, атеросклероз, серцева недостатність). Особливу увагу привертає відношення керамідів C18:0/C16:0. Так, у ході досліджень FINRISK 2002 (n = 8045), WECAC (Western Norway Coronary Angiography Cohort, n = 3344) та PrevMetSy (Prevent Metabolic Syndrome, n = 371) було продемонстровано, що співвідношення керамідів C18:0/C16:0 є фактором предикції ЦД 2-го типу з відношенням ризику 2,23 (95 % ДІ, 2,05 - 2,42) [60].

Серед важливих аспектів залишається лікування пацієнтів з НАЖХП, що включає в себе зміну способу життя, раціону харчування, фізичну активність та фармакологічну корекцію. До неї відносяться, перш за все препарати, що покращують інсуліночутливість, а саме група бігуанідів (метформін) та глітазони (піоглітазон). Крім того, в арсеналі лікування НАЖХП є протизапальні (пентоксифілін) та антиоксидантні препарати (вітамін Е). Для корекції супутньої дисліпідемії пацієнтам з НАЖХП також рекомендований прийом гіполіпідемічних препаратів - статинів. Проте кожна із цих груп препаратів має свої показання та протипоказання. До того ж іноді в лікуванні НАЖХП та супутніх з нею станів існують розмиті межі - коли доцільно застосовувати фармакологічну корекцію, а коли потрібно обмежитись зміною способу життя. Особливо це стосується лікування ІР, яке полягає в зміні способу життя і призначенні відповідних препаратів. Тому пошук маркерів, що дозволять розмежувати доцільність цих методів лікування, і стало метою нашої роботи.

Для досягнення мети було обстежено 102 пацієнта з неалкогольною жировою хворобою печінки (НАЖХП), які були розподілені на три групи. До першої групи входили пацієнти з цукровим діабетом 2-го типу (ЦД 2-го типу) (51 пацієнт), до другої - пацієнти без ЦД 2-го типу та з індексом НОМА від 2,5 до 5,0 (51 пацієнт). У ході роботи із двох вищенаведених груп було утворено додаткову третю групу пацієнтів, які мали явища дисліпідемії (20 пацієнтів). Середній вік пацієнтів першої та другої груп – $54,3 \pm 7,2$ років, вік пацієнтів третьої групи становив $64,9 \pm 1,4$ років. У першій групі співвідношення чоловіків і жінок було 52,9 % (27) та 47,1 % (24), у другій групі 54,9 % (28) та 45,1 % (23), у групі пацієнтів з дисліпідемією 60 % (12) та 40 % (8) відповідно. До контрольної групи увійшли 20 практично здорових осіб – 55 % (11) чоловіків та 45 % (9) жінок.

Дизайн даного дослідження був схвалений комісією з питань біоетичної експертизи та етики наукових досліджень при Національному медичному університеті імені О. О. Богомольця № 116 від 29.11.2018 р.

Обсяг досліджень здійснювався згідно з метою роботи та включав збір анамнезу, фізикальне та антропометричне обстеження (вимірювання зросту, маси тіла, обчислення ІМТ, співвідношення ОТ/ОС). Крім того, визначався біохімічний аналіз крові (АЛТ, АСТ, білірубін, ЛФ, ГГТП), ліпідний профіль, рівень глюкози плазми крові, індексу НОМА та HbA1c. За допомогою рідинної хроматографії з мас-спектрометрією було визначено фракції керамідів С16:0, С18:0, С24:0, С24:1 та їхні співвідношення С16:0/С24:0, С18:0/С24:0, С24:1/С24:0, С18:0/С16:0. Для оцінки стеатозу, активності неалкогольного стеатогепатиту (НАСГ) та фібротичних змін печінки проводились інструментальні дослідження (УЗД: стеатометрія, еластометрія).

Діагнози НАЖХП та ожиріння були підтверджені згідно з Наказом Міністерства охорони здоров'я України № 826 від 06.11.2014 р. «Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги: неалкогольний стеатогепатит» та критеріїв European Association for the Study of the Liver (EASL) і European Association for the Study of Obesity (EASO), 2016 р. Діагноз ЦД 2-го типу був підтверджений згідно з Наказом Міністерства охорони здоров'я № 1118 від 21.12.2012 р. «Уніфікований клінічний протокол первинної та вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги: цукровий діабет 2-й тип» та критеріїв European Association for the Study of Diabetes (EASD), American Diabetes Association (ADA), 2019 р.

Пацієнти були обстежені на початку дослідження, а також у динаміці через 3 та 6 місяців. Пацієнтам, які входили до першої групи (НАЖХП і ЦД 2-го типу), в якості лікування було запропоновано модифікацію способу життя (зменшення маси тіла, фізичні навантаження, зміна раціону харчування) та прийом препарату групи бігуанідів – метформіна в дозі 500 мг 2 рази на добу. Лікування пацієнтів другої групи (НАЖХП без ЦД 2-го типу) полягало лише в зміні способу життя. Також з обох груп були відібрані пацієнти, які мали лабораторні ознаки дисліпідемії. Крім зміни способу життя та прийому метформіну в дозі 500 мг 2 рази на добу, їм був рекомендований прийом статинів, а саме розувастатину в дозі 10 мг на добу.

Через 3 та 6 місяців пацієнтам був проведений лабораторний скринінг основних біохімічних показників крові з визначенням фракцій керамідів та їхніх співвідношень.

Отримані результати свідчать про роль керамідів та їхні співвідношення в якості маркерів ступеня важкості та ефективності лікування пацієнтів з НАЖХП у поєднанні з ІР та ЦД 2-го типу. Під час аналізу даних було виявлено, що базальна концентрація керамідів С16:0, С18:0, С24:1 у пацієнтів основної групи була вища, ніж у контрольній групі ($p < 0,001$). Концентрація керамідів С24:0 була нижча в основній групі при порівнянні з контрольною ($p < 0,001$). У результаті порівняння фракцій керамідів у пацієнтів з НАЖХП виявлено, що рівень керамідів С16:0, С18:0, С24:1 був достовірно збільшений в пацієнтів з ЦД 2-го типу ($p < 0,001$). У той же час кераміди С24:0 були достовірно підвищені у пацієнтів з НАЖХП без ЦД 2-го типу ($p < 0,001$). Аналіз співвідношень керамідів С16:0/С24:0, С18:0/С24:0, С24:1/С24:0, С18:0/С16:0 продемонстрував достовірне збільшення їх у пацієнтів першої групи ($p < 0,001$).

У ході дослідження було виявлено кореляційні зв'язки між керамідами С16:0, С18:0, С24:0, С24:1 з різними лабораторними та інструментальними показниками. Зокрема, при оцінці кореляції в пацієнтів першої групи було виявлено середній кореляційний зв'язок між керамідами С16:0 та С18:0 з ІМТ, $r = 0,474$, $r = 0,286$ відповідно ($p < 0,05$). Між С18:0 також спостерігався слабкий зв'язок з НbА1с, $r = 0,295$ та загальним білірубіном, $r = 0,283$ ($p < 0,05$). Крім того, фракція С18:0 мала прямий кореляційний зв'язок із стеатометрією, $r = 0,334$, ЛФ, $r = 0,468$ та зворотній з ЛПВГ, $r = -0,300$ ($p < 0,05$). Прямий середній зв'язок спостерігався між фракцією С24:1 з керамідами С18:0, $r = 0,474$, індексом НОМА, $r = 0,337$, активністю АЛТ, $r = 0,336$ та зворотній з АСТ, $r = -0,389$ ($p < 0,05$). Також у ході дослідження між керамідами С24:1 спостерігалася сильна пряма кореляція з НbА1с, $r = 0,592$, стеатометрією, $r = 0,615$, ЛПНГ, $r = 0,603$ ($p < 0,05$).

У той же час у пацієнтів другої групи було виявлено, що фракція керамідів С16:0 мала слабкий кореляційний зв'язок із фракцією керамідів С24:0, $r = 0,285$ ($p < 0,05$). Середній зв'язок було виявлено між фракцією С18:0 з результатами еластометрії, $r = 0,331$, стеатометрії, $r = 0,309$ та рівнем загального холестерину (ЗХ), $r = 0,303$ ($p < 0,05$). Було виявлено слабкий прямий зв'язок між керамідами С24:0 з фракцією С16:0, $r = 0,285$ і ЛПНГ, $r = 0,280$ ($p < 0,05$) та зворотній з НbА1с, $r = -0,294$ ($p < 0,05$). Крім того, фракція С24:1 продемонструвала зворотній кореляційний зв'язок з результатами еластометрії, $r = -0,374$, ЛПДНГ, $r = -0,352$ та активністю АСТ, $r = -0,287$ ($p < 0,05$).

У результаті дослідження в пацієнтів першої та другої груп також було виявлено кореляційні зв'язки зі співвідношеннями керамідів С16:0/С24:0, С18:0/С24:0, С24:1/С24:0, С18:0/С16:0. Так, у пацієнтів з НАЖХП і ЦД 2-го типу при дослідженні кореляційних зв'язків було виявлено, що співвідношення С16:0/С24:0 мало слабкий прямий зв'язок з фракцією С24:0, $r = 0,284$ та зворотній з ЗХ, $r = -0,343$ ($p < 0,05$). Співвідношення С18:0/С24:0 слабо корелювало з С18:0, $r = 0,293$, активністю АСТ, $r = 0,283$ та помірно корелювало з ІМТ, $r = 0,304$ ($p < 0,05$). Також у ході порівняння було з'ясовано, що співвідношення керамідів С24:1/С24:0 мало слабкий кореляційний зв'язок з С24:1, $r = 0,295$, НbА1с, $r = 0,284$, ТГ, $r = 0,292$, середній зв'язок з стеатометрією, $r = 0,483$, КА, $r = 0,402$, ЛПНГ, $r = 0,371$ і ЗХ, $r = 0,350$ та зворотній зв'язок з еластометрією, $r = -0,330$ та ЛФ, $r = -0,312$ ($p < 0,05$). У свою чергу співвідношення С18:0/С16:0 помірно корелювало з керамідами С18:0, $r = 0,304$, С24:0, $r = 0,310$, С24:1, $r = 0,623$ та співвідношенням С24:1/С24:0, $r = 0,349$ ($p < 0,05$). Крім того, співвідношення С18:0/С16:0 мало прямий середній кореляційний зв'язок з ІМТ, $r = 0,349$, ТГ, $r = 0,357$ та сильний зв'язок з НbА1с, $r = 0,507$, індексом НОМА, $r = 0,507$, ЛПНГ, $r = 0,636$, стеатометрією, $r = 0,801$ ($p < 0,05$).

У пацієнтів другої групи було отримано такі результати: співвідношення С18:0/С24:0 помірно корелювало з фракцією С24:0, $r = 0,302$ та слабо з АЛТ, r

= 0,279 ($p < 0,05$). Співвідношення С24:1/24:0 проявляло слабкий зв'язок з ЛПНГ, $r = 0,298$, середній прямий кореляційний зв'язок з еластометрією, $r = 0,434$, стеатометрією, $r = 0,586$ і ТГ, $r = 0,394$ та зворотній зв'язок з ГГТП, $r = -0,351$ ($p < 0,05$), співвідношення С18:0/С16:0 корелювало з HbA1c, $r = 0,333$ ($p < 0,05$).

Результати кореляційного аналізу показали, що в пацієнтів основної групи виявлено зв'язки між церамідами та співвідношеннями їх з основними біохімічними показниками (АЛТ, АСТ), параметрами ліпідограми, показниками вуглеводного обміну, стеатометрією та еластометрією. Дані результати свідчать про патогенетичний зв'язок між церамідами та НАЖХП, ІР і ЦД 2-го типу.

За оцінкою біохімічних показників крові виявлено, що пацієнти першої групи мали більш виражений цитолітичний синдром із достовірним підвищенням активності АЛТ та АСТ у порівнянні з пацієнтами другої групи ($p < 0,001$). Також пацієнти першої групи в порівнянні з пацієнтами другої групи мали достовірне підвищення показників ліпідограми, а саме: ЗХ $7,2 \pm 0,5$ проти $5,5 \pm 0,2$ ммоль/л, ЛПНГ $3,0 \pm 0,5$ проти $2,4 \pm 0,5$ ммоль/л, ТГ $2,6 \pm 0,2$ проти $1,7 \pm 0,2$ ммоль/л та КА $3,9 \pm 0,4$ проти $3,2 \pm 0,2$ у пацієнтів другої групи ($p < 0,001$). У той же час антиатерогенна фракція холестерину - ЛПВГ у пацієнтів першої групи була достовірна знижена $0,7$ (95 % ДІ $0,6 - 0,7$) проти $0,8$ (95 % ДІ $0,7 - 0,9$) ммоль/л у пацієнтів другої групи ($p < 0,001$).

При порівнянні параметрів вуглеводного обміну спостерігалися достовірні відмінності у групі пацієнтів з НАЖХП і ЦД 2-го типу в показниках глюкози крові $8,5 \pm 0,7$ проти $5,4 \pm 0,2$ ммоль/л, індексу НОМА $4,1$ (95 % ДІ $4,0 - 4,3$) проти $3,3$ (95 % ДІ $3,1 - 3,7$) та в HbA1c $7,0 \pm 0,3$ проти $5,3 \pm 0,2$ у пацієнтів без ЦД 2-го типу ($p < 0,001$).

При порівнянні результатів стеатометрії було виявлено, що в пацієнтів з НАЖХП і ЦД 2-го типу коефіцієнт затухання (КЗ) становив $2,6$ (95 % ДІ $2,59 - 2,66$) проти $2,4$ (95 % ДІ $2,38 - 2,42$) дБ/см у пацієнтів з НАЖХП без ЦД 2-го типу ($p < 0,001$). Результати стеатометрії свідчили про наявність помірного

стеатозу (S2) в обох групах. Також було виявлено достовірні відмінності в пацієнтів першої групи в результатах еластометрії. Так, коефіцієнт жорсткості в них становив $7,6 \pm 0,3$ проти $7,0 \pm 0,4$ кПа у пацієнтів без ЦД 2-го типу ($p < 0,001$). Дані еластометрії засвідчили про слабкий ступінь фіброзу (F1) в обох групах.

На фоні проведеного лікування через 3 місяці в основній групі відзначалася позитивна динаміка в зміні рівнів керамідів. Зокрема, було виявлено достовірне зниження фракцій C16:0, C18:0, C24:1 у трьох групах ($p < 0,01$). Проте зниження рівня керамідів C18:0 у пацієнтів третьої групи (з дисліпідемією) при порівнянні з пацієнтами другої групи було статистично незначущим ($p > 0,05$). Також у результаті лікування у трьох групах спостерігалось достовірне підвищення концентрації керамідів C24:0 ($p < 0,01$).

У результаті аналізу співвідношень керамідів після тримісячного лікування було виявлено, що співвідношення C16:0/24:0 достовірно зменшилося у трьох групах, найбільше у пацієнтів, які приймали метформін ($p < 0,01$). Також у трьох групах після лікування зменшилося співвідношення керамідів C18:0/24:0, особливо в пацієнтів з НАЖХП і ЦД 2-го типу ($p < 0,01$). Позитивна динаміка у трьох групах спостерігалася у вигляді зниження співвідношення керамідів C24:1/24:0 з перевагою у групі пацієнтів, які приймали метформін ($p < 0,01$). Крім того, на фоні лікування у групах пацієнтів з НАЖХП із ЦД 2-го типу та без ЦД 2-го типу спостерігалось суттєве зменшення співвідношення C18:0/C16:0 ($p < 0,01$). Покращення результатів у трьох групах пов'язане перш за все зі зниженням концентрації керамідів C16:0, C18:0, C24:1 та збільшенням фракції C24:0. Варто також зазначити, що співвідношення C18:0/C16:0, яке за даними літературних джерел пов'язане з ризиком розвитку ЦД 2-го типу, зменшилось на фоні специфічного лікування ЦД 2-го типу. Даний результат, а також позитивна кореляція керамідів C18:0, C16:0 та співвідношення C18:0/C16:0 з показниками вуглеводного обміну свідчать про можливу їхню роль у розвитку ІР та ЦД 2-го типу.

У результаті тримісячного лікування відзначалося покращення біохімічних показників крові. Так, активність АЛТ та АСТ зменшилась і становила в першій групі $41,2 \pm 5,4$ та $35 \pm 3,2$ проти $38,3 \pm 4,8$ і $32 \pm 2,7$ Од/л відповідно в пацієнтів другої групи ($p < 0,001$, $p = 0,005$). Крім того, відбулися зміни в показниках ліпідограми: ЗХ у пацієнтів з ЦД 2-го типу після лікування знизився до $6,0 \pm 0,3$, а у групі без ЦД 2-го типу до $4,9 \pm 0,2$ ($p < 0,001$). До того ж у пацієнтів відбулось достовірне зниження ЛПНГ $2,9 \pm 0,2$ у групі з ЦД 2-го типу проти $2,0 \pm 0,2$ у групі НАЖХП без ЦД 2-го типу, ТГ $2,1 \pm 0,1$ проти $1,4 \pm 0,1$ у пацієнтів другої групи ($p < 0,001$). На фоні зменшення ЗХ у пацієнтів обох груп було достовірне зменшення КА, який становив $3,0 \pm 0,1$ у групі з ЦД 2-го типу та $2,6 \pm 0,2$ у групі без ЦД 2-го типу ($p < 0,001$).

При порівнянні зміни вуглеводного обміну в обох групах було виявлено, що рівень глюкози крові у групі пацієнтів з НАЖХП і ЦД 2-го типу зменшився в порівнянні з пацієнтами другої групи і становив $6,3 \pm 0,3$ через 3 місяці і $5,8 \pm 0,3$ через 6 місяців ($p < 0,001$). Крім того, у пацієнтів першої групи в порівнянні з пацієнтами другої групи зменшився HbA1c і становив $6,1 \pm 0,5$ через 3 місяці і $5,6 \pm 0,3$ через 6 місяців ($p < 0,001$). Після проведеного лікування достовірне зниження продемонстрував індекс НОМА - $3,2$ (95 % ДІ $3,1 - 3,5$) у пацієнтів з НАЖХП і ЦД 2-го типу і $2,7$ (95 % ДІ $2,4 - 3,0$) у пацієнтів без ЦД 2-го типу ($p < 0,001$). Як і очікувалося, лікування шляхом модифікації способу життя та прийому метформіну у відповідній дозі дало змогу зменшити рівень глюкози крові та HbA1c у пацієнтів із ЦД 2-го типу. Проте показник та медіана індексу НОМА на фоні лікування пацієнтів другої групи залишалися вище нормативного значення. Для з'ясування причини лише часткової ефективності лікування у групі пацієнтів з НАЖХП без ЦД 2-го типу ми порівняли концентрацію церамідів до та після лікування в цій групі.

Аналіз даних виявив, що у частини пацієнтів другої групи з неефективним лікуванням був підвищений базальний рівень церамідів C16:0, C18:0, C24:1 ($p < 0,001$). Крім того, фракція C24:0 у них була нижча ніж у пацієнтів з успішним лікуванням $3,5$ проти $4,2$ мкмоль/л відповідно ($p < 0,001$). У зв'язку з цим

можна зробити висновок, що пацієнтам, в яких базальний рівень перевищує встановлені нами порогові значення С16:0 - 0,39 мкмоль/л, С18:0 - 0,123 мкмоль/л, С24:1 - 1,25 мкмоль/л, С24:0 - 4,2 мкмоль/л ($p < 0,001$) до лікування, крім модифікації способу життя, необхідне додавання метформіну 500 мг 2 рази на добу протягом 6 місяців.

Під час аналізу показників вуглеводного обміну через 6 місяців після лікування виявлено достовірне зниження індексу НОМА в обох групах ($p < 0,001$).

При порівнянні ефективності лікування через 6 місяців було виявлено зменшення церамідів С16:0 у трьох групах ($p < 0,01$). Проте концентрація церамідів С16:0 у другій групі статистично не відрізнялася від пацієнтів першої групи ($p = 0,06$). Варто зазначити, що на фоні прийому метформіну у пацієнтів першої групи концентрація церамідів С16:0 через 6 місяців зменшилася майже вдвічі. Також у трьох групах на фоні лікування спостерігалось достовірне зниження концентрації церамідів С18:0 та С24:1 ($p < 0,01$). Найбільше зниження концентрації даних фракцій церамідів було виявлено в пацієнтів, які приймали метформін. Крім того, фракція С24:0 після шестимісячного лікування достовірно збільшилася у трьох групах ($p < 0,01$). Особливо позитивна динаміка відзначалася в пацієнтів першої групи, в яких концентрація С24:0 збільшилася в 1,2 раза у порівнянні з іншими групами.

За результатами шестимісячного лікування виявлено достовірне зменшення співвідношення С16:0/24:0 у трьох групах ($p < 0,01$). У групі пацієнтів з НАЖХП і ЦД 2-го типу, які приймали метформін, С16:0/24:0 зменшилося вдвічі порівняно з іншими пацієнтами. При порівнянні результатів пацієнтів з дисліпідемією з пацієнтами другої групи, зменшення співвідношення С18:0/24:0 у них через 6 місяців було статистично незначущим ($p > 0,05$). Проте в пацієнтів з дисліпідемією в порівнянні з пацієнтами інших груп, відзначалося достовірне зменшення С18:0/24:0 ($p < 0,05$, $p < 0,01$). При порівнянні даних було виявлено, що на фоні шестимісячного лікування співвідношення С24:1/24:0 достовірно зменшилося

у трьох групах ($p < 0,01$). Найбільші зміни спостерігалися в пацієнтів з ЦД 2-го типу, в яких співвідношення С24:1/24:0 зменшилося в 1,7 рази. Аналіз результатів співвідношення С18:0/16:0 продемонстрував достовірне його збільшення в усіх групах у кінці шостого місяця лікування ($p < 0,01$). Однак відмінність співвідношення С18:0/16:0 у пацієнтів другої групи та пацієнтів першої групи не була статистично значущою ($p > 0,01$).

Таким чином, визначення концентрації церамідів та їхні співвідношень у пацієнтів з НАЖХП в поєднанні з ІР сприяє ініціації відповідної терапії в більш ранні терміни з урахуванням прогнозу таких пацієнтів. Крім того, у пацієнтів із ЦД 2-го типу врахування церамідів дозволяє оцінити ефективність проведеного лікування.

ВИСНОВКИ

У роботі було вирішено актуальне науково-практичне завдання: удосконалення діагностики та лікування пацієнтів на НАЖХП у поєднанні з ЦД 2-го типу на підставі визначення керамідів С16:0, С18:0, С24:0, С24:1 та їхнього співвідношення С16:0/С24:0, С18:0/С24:0, С24:1/С24:0, С18:0/С16:0 в якості маркерів ступеня важкості, прогнозу та ефективності лікування інсулінорезистентності.

1. У пацієнтів з НАЖХП із ЦД 2-го типу спостерігається достовірне підвищення активності трансаміназ (АсАТ та АлАТ $p < 0,001$), показників ліпідного профілю (ЗХ, ЛПНГ, ЛПДНГ, ТГ, КА $p < 0,001$) та вуглеводного профілю (рівня глюкози, НОМА-IR та HbA1c $p < 0,001$) у порівнянні з пацієнтами з НАЖХП без ЦД 2-го типу.

2. У пацієнтів з НАЖХП і ЦД 2-го типу спостерігається достовірне збільшення керамідів С16:0, С18:0, С24:1, а також зменшення фракції С24:0 у порівнянні з пацієнтами з НАЖХП без ЦД 2-го типу ($p < 0,001$). Співвідношення керамідів С16:0/С24:0, С18:0/С24:0, С24:1/С24:0, С18:0/С16:0 були достовірно збільшені в пацієнтів з НАЖХП і ЦД 2-го типу в порівнянні з пацієнтами з НАЖХП без ЦД 2-го типу ($p < 0,001$). Указані показники в обох групах достовірно відрізнялися від контрольної групи.

3. У пацієнтів з НАЖХП і ЦД 2-го типу встановлено прямий слабкий зв'язок між керамідами С18:0 з HbA1c ($r = 0,295$). Прямий середній зв'язок спостерігався між фракцією С24:1 з індексом НОМА ($r = 0,337$), активністю АЛТ ($r = 0,336$). Також кераміди С24:1 мали сильну пряму кореляцію з HbA1c ($r = 0,592$) та ЛПНГ ($r = 0,603$) ($p < 0,05$). Крім того, співвідношення С18:0/С16:0 мало прямий середній кореляційний зв'язок з ТГ ($r = 0,357$), сильний зв'язок з HbA1c ($r = 0,507$) та індексом НОМА ($r = 0,507$), ЛПНГ, $r = (0,636)$ ($p < 0,05$).

4. У пацієнтів з НАЖХП в поєднанні з IP і ЦД 2-го типу встановлено прямі середні та сильні кореляційні зв'язки між рівнем керамідів С18:0, С24:1, а

також співвідношеннями С24:1/С24:0, С18:0/С16:0 з КЗ при стеатометрії ($p < 0,05$).

5. У пацієнтів з НАЖХП і ЦД 2-го типу призначення метформіну супроводжується достовірним зниженням керамідів С16:0, С18:0, С24:1 та збільшенням С24:0 ($p < 0,01$). Прийом метформіну також асоціюється зі зниженням співвідношень керамідів С16:0/С24:0, С18:0/С24:0, С24:1/С24:0, С18:0/С16:0 та показників вуглеводного обміну ($p < 0,01$).

6. У пацієнтів з НАЖХП без ЦД 2-го типу модифікація способу життя призводить до зменшення концентрації керамідів за умови, що їхній базальний рівень не перевищує встановлених нами наступних порогових значень: С16:0 - 0,39 мкмоль/л, С18:0 - 0,123 мкмоль/л, С24:1 - 1,25 мкмоль/л, С24:0 - 4,2 мкмоль/л ($p < 0,001$).

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Для оцінки ступеню важкості НАЖХП пацієнтам доцільно рекомендувати визначення рівнів церамідів С16:0, С18:0, С24:0, С24:1 та їхні співвідношення С16:0/С24:0, С18:0/С24:0, С24:1/С24:0, С18:0/С16:0 до початку лікування.

2. За умови, якщо базальний рівень церамідів у пацієнтів з НАЖХП без ЦД 2-го типу перевищує встановлені нами порогові значення С16:0 - 0,39 мкмоль/л, С18:0 - 0,123 мкмоль/л, С24:1 - 1,25 мкмоль/л, С24:0 - 4,2 мкмоль/л, крім модифікації способу життя, до лікування пацієнтам необхідно включати прийом метформіну 500 мг 2 рази на добу протягом 6 місяців.

3. Для оцінки ефективності лікування хворих з НАЖХП без ЦД 2-го типу треба визначати співвідношення церамідів С18:0/С16:0 через 3 та 6 місяців.

4. Для оцінки ефективності лікування хворих з НАЖХП і ЦД 2-го типу слід визначати глюкозу крові натще, HbA1c та співвідношення церамідів С18:0/С16:0 в якості додаткового маркера динаміки вираженості НАЖХП через 3 та 6 місяці.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Aburasayn H., Al Batran Rami, Ussher John R. «Targeting ceramide metabolism in obesity». *The American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* (2016), 311: E423–E435.
2. Akazawa Y, Nakao K. «To die or not to die: death signaling in nonalcoholic fatty liver disease». *The Journal of Gastroenterology* (2018); 53:893-906.
3. Aki S.H. et al. «Circulating Ceramides Predict Cardiovascular Outcomes in the Population-Based FINRISK 2002» *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* (2016); 36(12):2424-2430.
4. Amati F. et al. «Skeletal muscle triglycerides, diacylglycerols, and ceramides in insulin resistance: another paradox in endurance-trained athletes?». *Diabetes* (2011); 60: 2588-2597.
5. Angulo P. et al. «Simple noninvasive systems predict long-term outcomes of patients with nonalcoholic fatty liver disease». *Gastroenterology* (2013); 145, 782–789.
6. Anstee QM, Targher G, Day CP. «Progression of NAFLD to diabetes mellitus, cardiovascular disease or cirrhosis». *Gastroenterology Hepatology* (2013); 10(6):330-44.
7. Apostolopoulou M. et al. «Specific Hepatic Sphingolipids Relate to Insulin Resistance, Oxidative Stress and Inflammation in Nonalcoholic Steatohepatitis». *Diabetes Care* (2018); 41(6): 1235-1243.
8. Arab J., Arrese M., Trauner M. «Recent Insights into the Pathogenesis of Nonalcoholic Fatty Liver Disease». *The Annual Review of Pathology* (2018); 13:321–50.
9. Ballestri S. et al. «Ultrasonographic fatty liver indicator, a novel score which rules out NASH and is correlated with metabolic parameters in NAFLD». *Liver international* (2012); Volume 32, Issue 8, pages 1242-1252.

10. Bedogni G. et al. «The Fatty Liver Index: a simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population». *BMC Gastroenterology* (2006); 6, 33.
11. Bedossa P. «Utility and appropriateness of the fatty liver inhibition of progression (FLIP) algorithm and steatosis, activity, and fibrosis (SAF) score in the evaluation of biopsies of nonalcoholic fatty liver disease». *Hepatology* (2014); 60:565–575.
12. Belfort R. et al. «A placebo-controlled trial of pioglitazone in subjects with nonalcoholic steatohepatitis». *The New England Journal of Medicine* (2006); 355(22):2297-307.
13. Bergman B.C. et al. «Serum sphingolipids: relationships to insulin sensitivity and changes with exercise in humans». *The American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* (2015); 309(4): E398–E408.
14. Bhat A., Sebastiani G., Bhat M. “Systematic review: Preventive and therapeutic applications of metformin in liver disease». *World Journal of Gastroenterology* (2015); 7(12):1652-9.
15. Bligh W.J. Dyer «A rapid and simple method for the determination of esterified fatty acids and for total fatty acids in blood». *Canadian journal of biochemistry and physiology* (1959); 37 911–917.
16. Boettcher E., Csako G., Pucino F. et al. «Meta-analysis: pioglitazone improves liver histology and fibrosis in patients with non-alcoholic steatohepatitis» *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* (2012); 35:66–75.
17. Borodzicz S. et al. “Sphingolipids in cardiovascular diseases and metabolic disorders». *Lipids in Health and Disease* (2015); 14:55.
18. Brunt E.M. et al. «The NAS and the Histopathologic Diagnosis in NAFLD: Distinct Clinicopathologic Meanings». *Hepatology* (2011); 53(3): 810–820
19. Buzzetti E., Pinzani M., Tsochatzis EA. «The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease». *Metabolism* (2016); 65(8):1038-8.

20. Bugianesi E., Moscatiello S., Ciaravella MF et al. «Insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease». *Current Pharmaceutical Design* (2010); 16:1941–51.
21. Carr RM, Oranu A., Khungar V. «Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Pathophysiology and Management». *Gastroenterology Clinics of North America* (2016); 45(4):639-652.
22. Chabanova E, Bille DS, Thisted E, Holm JC, Thomsen HS. «H-MRS assessment of hepatic steatosis in overweight children and adolescents: comparison between 3T and open 1T MR-systems». *Abdominal Imaging* (2013); 38:315-319.
23. Chatterjee S., Khunti K., Davies MJ. «Type 2 diabetes». *Lancet* (2017), Volume 389, Issue 10085, Pages 2239-2251.
24. Chaurasia B., Summers S.A. «Ceramide – Lipotoxic Inducers of Metabolic Disorders». *Trends in Endocrinology & Metabolism* (2015); Vol. 26, No. 10.
25. Chocian G. et al. «High fat diet induces ceramide and sphingomyelin formation in rat’s liver nuclei». *Molecular and Cellular Biochemistry* (2010); 340, 125–131.
26. Chavez JA, Summers SA. «A ceramide-centric view of insulin resistance». *Cell metabolism* (2012); 15(5):585-94.
27. Chavez J.A. et al. «Acid ceramidase overexpression prevents the inhibitory effects of saturated fatty acids on insulin signaling». *Journal of Biological Chemistry* (2005); 280, 20148–20153.
28. Choi JH, Rhee EJ, Bae JC et al. «Increased risk of type 2 diabetes in subjects with both elevated liver enzymes and ultrasonographically diagnosed nonalcoholic fatty liver disease: a 4-year longitudinal study». *Archives of Medical Research* (2013); 44: 115–20. 27.
29. Chu H., Duan Y., Yang L., Schnabl B. «Small metabolites, possible big changes: a microbiota-centered view of non-alcoholic fatty liver disease». *Gut* (2019); 68(2):359-370.

30. Coen PM et al. «Reduced skeletal muscle oxidative capacity and elevated ceramide but not diacylglycerol content in severe obesity». *Obesity* (2013); 21: 2362-2371.
31. Colombini M. «Ceramide channels and their role in mitochondria-mediated apoptosis». *Biochimica et Biophysica Acta* (2010); Volume 1797, Issues 6–7, Pages 1239-1244.
32. Contreras C. et al. «Central ceramide-induced hypothalamic lipotoxicity and ER stress regulate energy balance». *Cell Reports* 2014; 9(1):366-77.
33. Dyson J. et al. «Hepatocellular cancer: the impact of obesity, type 2 diabetes and a multidisciplinary team». *Journal Hepatology* (2014); 60, 110–117.
34. Day CP, James OF. «Steatohepatitis: a tale of two "hits?» *Gastroenterology* (1998); 114(4):842-5.
35. De Mello VD et al. «Link between plasma ceramides, inflammation and insulin resistance: association with serum IL-6 concentration in patients with coronary heart disease.» *Diabetologia* 2009; 52(12):2612-5.
36. Dubé J.J. et al. «Effects of weight loss and exercise on insulin resistance, and intramyocellular triacylglycerol, diacylglycerol and ceramide». *Diabetologia* (2011); 54(5): 1147–1156.
37. Eckard C. et al. «Prospective histopathologic evaluation of lifestyle modification in nonalcoholic fatty liver disease: a randomized trial». *Therapeutic Advances in Gastroenterology* (2013); 6:249–259.
38. Estes C. et al. «Modeling NAFLD disease burden in China, France, Germany, Italy, Japan, Spain, United Kingdom, and United States for the period 2016–2030». *Journal Hepatology* (2018) 69, 896–904
39. European Association for the Study of the Liver, European Association for the Study of Diabetes, European Association for the Study of Obesity (EASD. "EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease). *Journal of Hepatology* (2016); vol. 64, 1388–1402.

40. European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). «Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk». *European Heart Journal* (2019) 00, 178.
41. Fracanzani A.L et al. «Risk of severe liver disease in nonalcoholic fatty liver disease with normal aminotransferase levels: A role for insulin resistance and diabetes». *Hepatology* (2008); 48:792–798.
42. Feng R. et al. «Free fatty acids profile among lean, overweight and obese non-alcoholic fatty liver disease patients: a case – control study». *Lipids in Health and Diseases* (2017); 16: 165.
43. Firouzjaei A., Li G-C, Wang N, Liu W-X, Zhu B-M. «Comparative evaluation of the therapeutic effect of metformin monotherapy with metformin and acupuncture combined therapy on weight loss and insulin sensitivity in diabetic patients». *Nutrition & Diabetes* (2016); 6, e209.
44. Fitzpatrick E., Dhawan A. «Noninvasive biomarkers in non-alcoholic fatty liver disease: current status and a glimpse of the future». *World Journal of Gastroenterology* (2014); 20:10851–10863.
45. Frangioudakis G. et al. «Saturated- and n-6 polyunsaturated-fat diets each induce ceramide accumulation in mouse skeletal muscle: reversal and improvement of glucose tolerance by lipid metabolism inhibitors». *Endocrinology* (2010); 151, 4187–4196.
46. Gad H. «Study of Plasma Adiponectin and Insulin Resistance in Subjects with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease». *Archives of General Internal Medicine* (2018); Volume 2, Issue 3.
47. Gaidos JK, Hillner BE, Sanyal AJ. «A decision analysis study of the value of a liver biopsy in nonalcoholic steatohepatitis». *Liver International* (2008); 28:650–658.
48. Galadari S. et al. «Role of ceramide in diabetes mellitus: Evidence and mechanisms». *Lipids in Health and Disease* (2013); 12:98.

49. Gallagher E.J., LeRoith D. «Obesity and Diabetes: The Increased Risk of Cancer and Cancer-Related Mortality». *Physiological Reviews* (2015); 95(3): 727–748
50. Genel S. et al. «Is the Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Part of Metabolic Syndrome?». *Journal of Diabetes & Metabolism* (2015), 6:4
51. Glass LM et al. «Total body weight loss of $\geq 10\%$ is associated with improved hepatic fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis». *Digestive Diseases and Sciences* (2015); 60:1024–1030.
52. Goh GB et al. «Clinical spectrum of non-alcoholic fatty liver disease in diabetic and non-diabetic patients». *BBA Clinical* (2015); 3, 141-5.
53. Guilherme A., Virbasius JV, Puri V., et al. «Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes». *Nature Reviews Molecular Cell Biology* (2008); 9:367–77.
54. Guha I. N. et al. «Noninvasive markers of fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease: validating the European Liver Fibrosis Panel and exploring simple markers». *Hepatology* (2008); 47, 455–460.
55. Hallsworth K., Fattakhova G., Hollingsworth KG, et al. «Resistance exercise reduces liver fat and its mediators in nonalcoholic fatty liver disease independent of weight loss». *Gut* (2011); 60:1278–1283.
56. Hassan R. H., Bourron O., Hajduch E. «Defect of insulin signal in peripheral tissues: important role of ceramide». *World Journal of Diabetes* (2014); 5(3): 244-257.
57. Harrison SA, Fecht W, Brunt EM, Neuschwander-Tetri BA. «Orlistat for overweight subjects with nonalcoholic steatohepatitis: A randomized, prospective trial». *Hepatology* (2009); 49:80–86.
58. Haufe S. et al. «Randomized comparison of reduced fat and reduced carbohydrate hypocaloric diets on intrahepatic fat in overweight and obese human subjects». *Hepatology* (2011); 53:1504–1514.

59. Haus J. M. et al. «Plasma Ceramides Are Elevated in Obese Subjects With Type 2 Diabetes and Correlate With the Severity of Insulin Resistance». *Diabetes* (2009); 58(2): 337–343.
60. Hilvo M. et al. «Ceramide stearic to palmitic acid ratio predicts incident diabetes». *Diabetologia* (2018); 61:1424–1434.
61. Holland WL et al. «Lipid-induced insulin resistance mediated by the proinflammatory receptor TLR4 requires saturated fatty acid-induced ceramide biosynthesis in mice». *Journal of Clinical Investigation* (2011); 121(5):1858-70.
62. Holland W.L., Summers S.A. «Sphingolipids, insulin resistance, and metabolic disease: new insights from in vivo manipulation of sphingolipid metabolism». *Endocrine Reviews* (2008); 29, 381–402.
63. Holland W.L. et al. «Inhibition of ceramide synthesis ameliorates glucocorticoid-, saturated-fat-, and obesity-induced insulin resistance». *Cell Metabolism* (2007); 5, 167–179.
64. Hossain N. et al. «Independent predictors of fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease». *Clinical Gastroenterology and Hepatology* (2009); 7:1224–1229.
65. Ikuyo Ichi et al. «Association of Ceramides in Human Plasma with Risk Factors of Atherosclerosis». *Lipids* (2006); Vol. 41, no. 9.
66. Jaividhya Dasarathy, Juan Young, Aarti Chhatlani, Michael Raddock, Rajesh Tampi. «Alcohol use disorder: How best to screen and intervene». *The Journal of family practice* (2019); Jan/Feb 2019;68(1):35-39.
67. Jiang C., Xie C., Lv Y., et al. «Intestine-selective farnesoid X receptor inhibition improves obesity-related metabolic dysfunction». *Nature Communications* (2015); 6:10166.
68. Johnson NA, Sachinwalla T, Walton DW et al. «Aerobic exercise training reduces hepatic and visceral lipids in obese individuals without weight loss». *Hepatology* (2009); 50:1105–1112.

69. Jung Y., Diehl AM. «Non-alcoholic steatohepatitis pathogenesis: role of repair in regulating the disease progression». *Digestive Diseases* (2010); 28:225–228.
70. Katsiki N., Mikhailidis DP., Mantzoros CS. «Non-alcoholic fatty liver disease and dyslipidemia: An update». *Metabolism* (2016); 65(8):1109-23.
71. Kasumov T. et al. «Quantification of ceramide species in biological samples by liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry». *Analytical Biochemistry* (2010); 401; 154–161.
72. Kasumov T. et al. «Improved Insulin Sensitivity after Exercise Training is linked to Reduced Plasma C14:0 Ceramide in Obesity and Type 2 Diabetes». *Obesity* (2015); 23(7): 1414–1421.
73. Kien C. L. et al. «Dietary intake of palmitate and oleate has broad impact on systemic and tissue lipid profiles in humans». *The American Journal of Clinical Nutrition* (2014); 99(3): 436–445.
74. Kimura T. et al. «Clinicopathological characteristics of non-B non-C hepatocellular carcinoma without past hepatitis B virus infection». *Hepatology Research* (2017); 47:405-418.
75. Kistler KD, Brunt EM, Clark JM, et al. «Physical activity recommendations, exercise intensity, and histological severity of nonalcoholic fatty liver disease». *The American Journal of Gastroenterology* (2011); 106:460–468.
76. Kirk E., Reeds DN, Finck BN, et al. «Dietary fat and carbohydrates differentially alter insulin sensitivity during caloric restriction». *Gastroenterology* (2009); 136:1552–1560.
77. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, et al. «Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease». *Hepatology* (2005); 41:1313-1321
78. Koehler EM, Schouten JN, Hansen BE, et al. «Prevalence and risk factors of non-alcoholic fatty liver disease in the elderly: results from the Rotterdam study». *The Journal of Hepatology* (2012); 57: 1305–11.

79. Konstantynowicz-Nowicka K. et al. «A New Evidence for the Role of Ceramide in the Development of Hepatic Insulin Resistance». *PLoS ONE* (2015); 10(1).
80. Kolak M. et al. «Adipose tissue inflammation and increased ceramide content characterize subjects with high liver fat content independent of obesity». *Diabetes* (2007); 56, 1960–1968.
81. Koutoukidis D.A. et al. «A Systematic Review and Meta-analysis: Association of Weight Loss Interventions With Changes in Biomarkers of Nonalcoholic Fatty Liver Disease». *JAMA Internal Medicine* (2019); 179(9):1262-1271.
82. Kozlitina J. et al. «Exome-wide association study identifies a TM6SF2 variant that confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease». *Nature Genetics* (2014); 46:352–56.
83. Kuzmenko D. I., Klimentyeva T. K. «Role of Ceramide in Apoptosis and Development of Insulin Resistance». *Biochemistry* (2016); Vol. 81, No. 9, pp. 913-927.
84. Kwok R. et al. «Systematic review with meta-analysis: Non-invasive assessment of non-alcoholic fatty liver disease—The role of transient elastography and plasma cytokeratin-18 fragments». *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* (2014); 39(3):254-269.
85. Lambert JE, Ramos-Roman MA, Browning JD, Parks EJ. «Increased de novo lipogenesis is a distinct characteristic of individuals with nonalcoholic fatty liver disease». *Gastroenterology* (2014); 146(3):726-35.
86. Lazo M. et al. «Effect of a 12-month intensive lifestyle intervention on hepatic steatosis in adults with type 2 diabetes». *Diabetes Care* (2010); 33:2156–2163.
87. Lee YA, Wallace MC, Friedman SL. «Pathobiology of liver fibrosis: a translational success story». *Gut* (2015); 64:830-841.

88. Lee SS et al. «Non-invasive assessment of hepatic steatosis: prospective comparison of the accuracy of imaging examinations». *The Journal of Hepatology* (2010); 52(4):579-85.
89. Lee, J. H. et al. «Hepatic steatosis index: a simple screening tool reflecting nonalcoholic fatty liver disease». *Digestive and Liver Disease* (2010); 42, 503–508.
90. Lemaitre R.N. et al. «Circulating Sphingolipids, Insulin, HOMA-IR, and HOMA-B: The Strong Heart Family Study». *Diabetes* (2018); 67(8): 1663–1672.
91. Leung TM, Nieto N. «CYP2E1 and oxidant stress in alcoholic and non-alcoholic fatty liver disease». *The Journal of Hepatology* (2013); 58:395–8.
92. Li Y, Liu L, Wang B, Wang J, Chen D. «Metformin in non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis». *Biomedical Reports* (2013); 1(1):57-64.
93. Lihong Zhao et al. A «Deficiency of Ceramide Biosynthesis Causes Cerebellar Purkinje Cell Neurodegeneration and Lipofuscin Accumulation». *PLOS Genetics* (2011); Volume 7, Issue 5, e1002063.
94. Liu YL, Reeves HL, Burt AD, Tiniakos D, McPherson S, et al. «TM6SF2 rs58542926 influences hepatic fibrosis progression in patients with non-alcoholic fatty liver disease». *Nature Communications* (2014); 5:4309.
95. Liu YL, Patman GL, Leathart JB, Piguet AC, Burt AD, et al. «Carriage of the PNPLA3 rs738409 C >G polymorphism confers an increased risk of non-alcoholic fatty liver disease associated hepatocellular carcinoma». *J The Journal of Hepatology* (2014); 61:75–81.
96. Lonardo A. et al. «Epidemiological modifiers of non-alcoholic fatty liver disease: Focus on high-risk groups». *Digestive and Liver Disease* (2015); 47, 997–1006.
97. Lopez X. et al. «Plasma ceramides are elevated in female children and adolescents with type 2 diabetes». *Journal of pediatric endocrinology & metabolism* (2013); 26(9-10): 995–998.

98. López-Velázquez JA, Silva-Vidal KV, Ponciano-Rodríguez G, Chávez-Tapia NC, Arrese M, Uribe M, et al. «The prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in the Americas». *Annals of Hepatology* (2014); 13:166–178.
99. Luukkonen PK et al. «Hepatic ceramides dissociate steatosis and insulin resistance in patients with non-alcoholic fatty liver disease». *Journal of Hepatology* (2016); 64(5):1167-1175.
100. Lu F.-B. et al. «The relationship between obesity and the severity of non-alcoholic fatty liver disease: Systematic review and meta-analysis». *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology* (2018); 12, 491–502.
101. Machado N.O. «Complications of Liver Biopsy - Risk Factors, Management and Recommendations». Book 2011
102. Mari M. et al. «Mechanism of mitochondrial glutathione - dependent hepatocellular susceptibility to TNF despite NF-kappa B activation». *Gastroenterology* (2008); 134, 1507–1520.
103. Marchesini G, Mazzotti A. «NAFLD incidence and remission: only a matter of weight gain and weight loss?». *Journal Hepatology* (2015); 62:15–17.
104. Marengo A., Rosso C., Bugianesi E. «Liver cancer: connections with obesity, fatty liver, and cirrhosis». *The Annual Review of Medicine* (2016); 67:103–17.
105. Marzuillo P. et al. «Controversy in the diagnosis of pediatric non-alcoholic fatty liver disease». *World Journal of Gastroenterology* (2015); 21(21):6444-50.
106. McPherson S. et al. «Evidence of NAFLD progression from steatosis to fibrosing-steatohepatitis using paired biopsies: Implications for prognosis and clinical management». *The Journal of Gastroenterology* (2015); 62:1148–1155.
107. Meeusen J.W. et al. «A Novel Predictor of Major Adverse Cardiovascular Events after Coronary Angiography». *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* (2018); 38:00-00.

108. Merriman RB et al. “Correlation of paired liver biopsies in morbidly obese patients with suspected nonalcoholic fatty liver disease». *Hepatology* (2006); 44(4):874-80.

109. Mikolasevic I. et al. «Transient elastography (FibroScan) with controlled attenuation parameter in the assessment of liver steatosis and fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease—Where do we stand?». *World Journal of Gastroenterology* (2016); 22(32):7236-7251.

110. Munteanu M. et al. «Noninvasive Biomarkers for the Screening of Fibrosis, Steatosis and Steatohepatitis in Patients with Metabolic Risk Factors: FibroTest-FibroMax Experience». *Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases* (2008) Vol.17 No 2, 187-191.

111. Musso G., Cassader M., Gambino R. «Non-alcoholic steatohepatitis: emerging molecular targets and therapeutic strategies” *Nature Reviews Drug Discovery* (2016); 15(4):249-74.

112. Musso G., Cassader M., Gambino R, Paschetta E. «Bioactive Lipid Species and Metabolic Pathways in Progression and Resolution of Nonalcoholic Steatohepatitis». *Gastroenterology* (2018); 155: 282–302.

113. Nakahara T. et al. «Type 2 diabetes mellitus is associated with the fibrosis severity in patients with nonalcoholic fatty liver disease in a large retrospective cohort of Japanese patients». *The Journal of Gastroenterology* (2014); 49(11):1477-84.

114. Nalbantoglu, Brunt E.M. «Role of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease». *World Journal of Gastroenterology* (2014); 20(27): 9026–9037.

115. Neuschwander-Tetri BA et al. «Farnesoid X nuclear receptor ligand obeticholic acid for non-cirrhotic, non-alcoholic steatohepatitis (FLINT): a multicentre, randomised, placebo-controlled trial». *Lancet* (2015); 14; 385(9972):956-65.

116. Park SK, Seo MH, Shin HC, Ryoo JH. «Clinical availability of nonalcoholic fatty liver disease as an early predictor of type 2 diabetes mellitus in Korean men: 5-year prospective cohort study». *Hepatology* (2013); 57: 1378–83.

117. Pagadala M et al. «Role of ceramides in nonalcoholic fatty liver disease». *Trends in Endocrinology and Metabolism* (2012); Vol. 23, No. 8.
118. Paglialunga S., Clayton A. D. «Clinical assessment of hepatic de novo lipogenesis in non-alcoholic fatty liver disease». *Lipids in Health and Disease* (2016); 15: 159.
119. Pais R., Charlotte F., Fedchuk L., et al. «A systematic review of follow-up biopsies reveals disease progression in patients with non-alcoholic fatty liver». *The Journal of Hepatology* (2013); 59: 550–56.
120. Paschos P., Paletas K. «Non alcoholic fatty liver disease two-hit process: multifactorial character of the second hit». *Hippokratia* (2009); 13(2): 128.
121. Patel NS et al. «Effect of weight loss on magnetic resonance imaging estimation of liver fat and volume in patients with nonalcoholic steatohepatitis». *Clinical Gastroenterology and Hepatology* (2015); 13:561–568.
122. Pegah G. et al. «Components of metabolic syndrome increase the risk of mortality in nonalcoholic fatty liver disease». *Medicine* (2018) - Volume 97 - Issue 13.
123. Peverill W., Powell LW, Skoien R. «Evolving concepts in the pathogenesis of NASH: beyond steatosis and inflammation». *International Journal of Molecular Science* (2014); 15:8591–638.
124. Polyzos S.A. et al. «Circulating leptin in non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis». *Diabetologia* (2016); 59 (1):30-43.
125. Promrat K., Longato L., Wands J.R., de la Monte S.M. «Weight loss amelioration of non-alcoholic steatohepatitis linked to shifts in hepatic ceramide expression and serum ceramide levels». *Hepatology Research* (2011); 41(8): 754–762.
126. Raichur S. et al. «CerS2 haploinsufficiency inhibits beta-oxidation and confers susceptibility to diet-induced steatohepatitis and insulin resistance». *Cell Metabolism* (2014); 20(4):654 687-95.

127. Ratziu V. et al. «Elafibranor, an Agonist of the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- α and - δ , Induces Resolution of Nonalcoholic Steatohepatitis without Fibrosis Worsening». *Gastroenterology* (2016); 150(5):1147-1159.
128. Reeder SB, Cruite I., Hamilton G., Sirlin CB. «Quantitative assessment of liver fat with magnetic resonance imaging and spectroscopy». *Journal of Magnetic Resonance Imaging* (2011); 34(4):729–749.
129. Rekhter M., Karathanasis S. «Sphingolipids in atherosclerosis: a metabolic underpinning of vascular disease». *Future Lipidology* 1:5, 605-614.
130. Romeo S. et al. «Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease». *Nature Genetics* (2008); 40:1461–65.
131. Ryan MC et al. «The Mediterranean diet improves hepatic steatosis and insulin sensitivity in individuals with non-alcoholic fatty liver disease». *The Journal of Hepatology* (2013); 59(1):138-43.
132. Saadeh S. et al. «The utility of radiological imaging in nonalcoholic fatty liver disease». *Gastroenterology* (2002); 123, 745–750.
133. Saddoughi SA, Ogretmen B. «Diverse function of ceramide in cancer cell death and proliferation». *Advances in Cancer Research* (2013); 117: 37-58.
134. Saeedi P. et al. «Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition»». *Diabetes research and clinical practice* 157 (2019) 107843.
135. Samy A.F. Morad and Myles C. Cabot. «Ceramide-orchestrated signalling in cancer cells». *Nature Reviews Cancer* 2013; 13(1):51-65.
136. Sasso M. et al. «Novel Controlled Attenuation Parameter for non-invasive assessment of steatosis using FibroScan: validation in chronic hepatitis C». *Journal of Viral Hepatitis* (2012); 19:244-53.
137. Singh S., Loke Y., Furberg C. «Long-term risk of cardiovascular events with rosiglitazone: a meta-analysis». *The Journal of the American Medical Association* (2007); 98: 1189–1195.

138. Singh S. et al. «Fibrosis progression in nonalcoholic fatty liver vs nonalcoholic steatohepatitis: A systematic review and meta-analysis of paired-biopsy studies». *Clinical Gastroenterology and Hepatology* (2015); 13, 643–654.
139. Shannon A. et al. «Ultrasonographic quantitative estimation of hepatic steatosis in children with NAFLD». *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* (2011); 53:190–195.
140. Skelly MM, James PD, Ryder SD. «Findings on liver biopsy to investigate abnormal liver function tests in the absence of diagnostic serology». *The Journal of Hepatology* (2001); 35(2):195-9.
141. Sookoian S., Pirola CJ. «Meta-analysis of the influence of I148M variant of patatin-like phospholipase domain containing 3 gene (PNPLA3) on the susceptibility and histological severity of nonalcoholic fatty liver disease». *Hepatology* (2011); 53:1883–94.
142. Sorrentino P. et al. «Predicting fibrosis worsening in obese patients with NASH through parenchymal fibronectin, HOMA-IR, and hypertension». *The American Journal of Gastroenterology* (2010); 105: 336–44. 25.
143. Sterling R. K. et al. «Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection». *Hepatology* (2006); 43, 1317–1325.
144. Sun DQ et al. «Increased levels of low-density lipoprotein cholesterol within the normal range as a risk factor for nonalcoholic fatty liver disease». *Oncotarget* (2016); 7:5728–5737.
145. Sullivan S. et al. «Randomized trial of exercise effect of intrahepatic triglyceride content and lipid kinetics in nonalcoholic fatty liver disease». *Hepatology* (2012); 55:1738–1745.
146. Suzuki A. et al. «Effect of changes on body weight and lifestyle in nonalcoholic fatty liver disease». *The Journal of Hepatology* (2005); 43:1060–1066.
147. Tanaka N., Aoyama T., Kimura S., Gonzalez FJ. «Targeting nuclear receptors for the treatment of fatty liver disease». *Pharmacology & Therapeutics* (2017); 179:142-157.

148. Tanaka N. et al. «Current status, problems, and perspectives of non-alcoholic fatty liver disease research». *World Journal of Gastroenterology* (2019); 25(2): 163-177.
149. Tanaka N. et al. «Role of fibroblast growth factor 21 in the early stage of NASH induced by methionine- and choline-deficient diet». *Biochimica et Biophysica Acta* (2015); 1852:1242-1252.
150. Tanaka N. et al. «Growth arrest and DNA damage-inducible 45 α protects against nonalcoholic steatohepatitis induced by methionine- and choline-deficient diet». *Biochimica et Biophysica Acta* (2017); 1863:3170-3182.
151. Tippetts T.S., Holland W.L., Summers S.A. «The ceramide ratio: a predictor of cardiometabolic risk». *The Journal of Lipid Research* (2018); 59: 1729–1737.
152. Theise ND, Bodenheimer HC, Ferrel L. «Acute and chronic viral hepatitis». *MacSween's pathology of the liver* 6th ed. Elsevier; (2012); pp. 361–401.
153. Trepo E., Romeo S., Zucman-Rossi J., Nahon P. «PNPLA3 gene in liver diseases». *The Journal of Hepatology* (2016); 65:399–412.
154. Turpin SM et al. «Obesity-induced CerS6-dependent C16:0 ceramide production promotes weight gain and glucose intolerance». *Cell Metabolism* (2014); 20(4):678-86.
155. Varman T.S., Shulman G.I. «Nonalcoholic Fatty Liver Disease, Insulin Resistance, and Ceramides». *The New England Journal of Medicine* (2019); 381:1866-1869.
156. Vanni E, Bugianesi E. «Obesity and liver cancer». *Clinical Liver Disease* (2014); 18:191–203.
157. Van Wagner LB et al. «Pentoxifylline for the treatment of non-alcoholic steatohepatitis: a randomized controlled trial». *Annals of Hepatology* (2011); 10:277–286.
158. Venetsanaki V., Polyzos SA. «Menopause and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: A Review Focusing on Therapeutic Perspectives». *Current Vascular Pharmacology* (2019); 17(6):546-555.

159. Velloso LA, Folli F, Saad MJ. «TLR4 at the Crossroads of Nutrients, Gut Microbiota, and Metabolic Inflammation». *Endocrine Reviews* (2015); 36: 245–271.
160. Vernon G., Baranova A., Younossi ZM. «Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults». *Alimentary Pharmacology Therapeutics* (2011); 34:274–285.
161. Verma S., Jensen D., Hart J., Mohanty SR. «Predictive value of ALT levels for non-alcoholic steatohepatitis (NASH) and advanced fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)». *Liver International* (2013); 33:1398–1405.
162. Vizuete J. et al. «Perspectives on Nonalcoholic Fatty Liver Disease: An Overview of Present and Future Therapies». *Journal of Clinical and Translational Hepatology* (2017); 5(1):67-75.
163. Vos B. et al. «Lean non-alcoholic fatty liver disease (Lean-NAFLD): a major cause of cryptogenic liver disease». *Acta Gastroenterology* (2011); 74, 389–394.
164. Watt MJ et al. «Regulation of plasma ceramide levels with fatty acid oversupply: evidence that the liver detects and secretes de novo synthesised ceramide». *Diabetologia* (2012); 55: 2741-2746.
165. Warshauer J. T. et al. «Effect of pioglitazone on plasma ceramides in adults with metabolic syndrome». *Diabetes/Metabolism Research and Reviews* (2015); 31: 734–744.
166. Wenjie M. et al. «Prospective association of fatty acids in the de novo lipogenesis pathway with risk of type 2 diabetes: the Cardiovascular Health Study». *The American Journal of Clinical Nutrition* (2015); 101:153–63.
167. Wieckowska A, Feldstein AE. «Diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease: invasive versus noninvasive». *Seminars in Liver Disease* (2008); 28(4):386-95.
168. Williams CD. Et al. «Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among a largely middle-aged population utilizing

ultrasound and liver biopsy: a prospective study». *Gastroenterology* (2011); 140 (1):124-31.

169. Wilkerson J.L., Summers S.A., Holland W.L. «Listen to your heart when ceramide's calling for higher glucose». *EBioMedicine* (2019); 41 3–4.

170. Wong CR, Nguyen MH, Lim JK. «Hepatocellular carcinoma in patients with non-alcoholic fatty liver disease». *World Journal of Gastroenterology* (2016); 22:8294-8303.

171. Wong V.W. et al. «Validation of the NAFLD fibrosis score in a Chinese population with low prevalence of advanced fibrosis». *The American Journal of Gastroenterology* (2008); 103, 1682–1688.

172. Yang JD, et al. «Gender and menopause impact severity of fibrosis among patients with nonalcoholic steatohepatitis». *Hepatology* (2014); 59 (4):1406-14.

173. Yasui K. et al. «Characteristics of patients with nonalcoholic steatohepatitis who develop hepatocellular carcinoma». *Clinical Gastroenterology and Hepatology* (2011); 9:428-433.

174. Yejin Kim et al. «Obesity and Weight Gain Are Associated With Progression of Fibrosis in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease». *Clinical Gastroenterology* (2019); Vol. 17, Issue 3, Pages 543–550.

175. Ying Li, Stanley T., Chaurasia B. «Ceramide dependent lipotoxicity in metabolic diseases». *Nutrition and Healthy Aging* (2019); vol. 5, no. 1, pp. 1-12.

176. Younossi, Z. et al. «Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes». *Hepatology* (2016) 64, 73–84.

177. Younossi Z. et al. «Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention». *Nature Review Gastroenterology Hepatology* (2018); 15(1):11-20

178. Younossi Z. et al. «Nonalcoholic steatofibrosis independently predicts mortality in nonalcoholic fatty liver disease». *Hepatology Communication* (2017); 1 (5):421 -428.

179. Younossi Z. et al. «The global epidemiology of NAFLD and NASH in patients with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis». *Journal Hepatology* 2019; 71(4):793-801.
180. Younossi, Z. et al. «A novel diagnostic biomarker panel for obesity-related nonalcoholic steatohepatitis (NASH)». *Obesity Surgery* (2008); 18, 1430–1437.
181. Younossi Z. et al. «Obeticholic acid for the treatment of non-alcoholic steatohepatitis: interim analysis from a multicentre, randomised, placebo-controlled phase 3 trial». *Lancet* (2019) 14; 394(10215): 2184-2196.
182. Zabielski P. et al. «The effect of high fat diet and metformin treatment on liver lipids accumulation and their impact on insulin action». *Scientific Reports* (2018); 8:7249.
183. Zabielski P. et al. «Effect of metformin on bioactive lipid metabolism in insulin-resistant muscle». *Journal of Endocrinology* (2017); 233, 329–340.
184. Zein CO, Yerian LM, Gogate P, et al. «Pentoxifylline improves nonalcoholic steatohepatitis: a randomized placebo-controlled trial». *Hepatology* (2011); 54:1610–1619.
185. Zhang L. et al. «Persistent Organic Pollutants Modify Gut Microbiota-Host Metabolic Homeostasis in Mice through Aryl Hydrocarbon Receptor Activation». *Environmental Health Perspectives* (2015); 123:679-688.

Додаток А

Список публікацій здобувача

1. Павловський Л. Л., Чернявський В. В. Церамиды как фактор риска неалкогольной жировой болезни печени// Сімейна медицина - 2018. - № 3. – С. 81-84. *(Автором зібрано матеріал, проаналізовано літературні джерела з проблеми, виконано статистичне опрацювання даних з аналізом отриманих результатів, підготовлено статтю до друку).*

2. Павловський Л. Л., Чернявський В. В., Шипулін В. П., Тіщенко В. В, Купчик Л. М. Дослідження впливу цераміду С16 у плазмі крові на перебіг неалкогольної жирової хвороби печінки // Сучасна гастроентерологія – 2019. - № 5. – С. 14-17. *(Автором зібрано матеріал, проаналізовано літературні джерела з проблеми, виконано статистичне опрацювання даних з аналізом отриманих результатів, висновки сформульовані спільно з керівником, підготовлено статтю до друку).*

3. Павловський Л. Л., Вплив застосування метформіну та зниження маси тіла на концентрацію церамідів С16:0, С18:0, С24:1 в плазмі крові в пацієнтів із неалкогольною жировою хворобою печінки в поєднанні з інсулінорезистентністю та цукровим діабетом 2 типу // Гастроентерологія – 2020. - № 2. С 96 – 100. т. 54. *(Автором зібрано матеріал, проаналізовано літературні джерела з проблеми, виконано статистичне опрацювання даних з аналізом отриманих результатів, висновки сформульовані спільно з керівником, підготовлено статтю до друку).*

4. Pavlovskiy Leonid, Chernyavskiy Volodymyr, Shypulin Vadym and Tishchenko Viktoriia. Increased Level of Serum Ceramides Correlate with Liver Steatosis, Hba1c and Cholesterol in Obese Patients// Journal of Gastroenterology & Digestive Systems – 2020. - Volume 4. Issue 1. Pg. 1 – 4 *(Автором зібрано матеріал, проаналізовано літературні джерела з проблеми, виконано статистичне опрацювання даних з аналізом отриманих результатів, висновки сформульовані спільно з керівником, підготовлено статтю до друку).*

Продовження додатка А

Апробація результатів дисертації

Результати дисертаційної роботи були представлені на форумах: «Сучасні досягнення науки в медичній практиці» - Київ, 1 - 3 жовтня 2019 р. (усна доповідь); «Public Communication in science: Philosophical, Cultural, Political, Economic and its context» – Х'юстон, США, 15 травня 2020 р. (публікація тез); Апробацію дисертації також проведено на засіданні кафедри внутрішньої медицини №1 та фаховому семінарі Національного медичного університету імені О. О. Богомольця (2020 р)

Додаток Б

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Директор ТОВ «Гастроцентр»
Цикаленко І.І.

« 01 » вересня 2020р.

Акт впровадження

1. Пропозиції для впровадження:

1. У пацієнтів з НАЖХП доцільно рекомендувати визначення рівнів керамідів С16:0, С18:0, С24:0, С24:1 та їх співвідношення С16:0/С24:0, С18:0/С24:0, С24:1/С24:0, С18:0/С16:0 до початку лікування.
 2. За умови, якщо базальний рівень перевищує встановлені нами порогові значення: С16:0 - 0,39 мкмоль/л, С18:0 - 0,123 мкмоль/л, С24:1 - 1,25 мкмоль/л, С24:0 - 4,2 мкмоль/л до лікування, крім модифікації способу життя, необхідне додавання метформіну 500 мг 2 рази на добу протягом 6 місяців.
 3. Для оцінки ефективності лікування хворих з НАЖХП без ЦД 2-го типу слід визначати співвідношення керамідів С18:0/С16:0 через 3 та 6 місяців.
 4. Для оцінки ефективності лікування хворих з НАЖХП в поєднанні з ЦД 2-го типу слід визначати глюкозу крові натще, HbA1c та співвідношення керамідів С18:0/С16:0 в якості додаткового маркера динаміки вираженості НАЖХП через 3 та 6 місяців.
- 2. Ким запропоновано, адреса виконавця:** Павловський Л.Л. ім. О.О. Богомольця (бульвар Шевченка 17).
- 3. Джерело інформації:** 1 Павловський Л.Л., Чернявський В.В., Шипулін В.П., Тіщенко В.В., Купчик Л.М. Дослідження впливу кераміду С16 у плазмі крові на перебіг неалкогольної жирової хвороби печінки// Сучасна гастроентерологія – 2019. - №.5. – С. 14-17.
2. Павловський Л.Л. Значення керамідів в розвитку неалкогольної жирової хвороби печінки та інсулінорезистентності// Матеріали науково-практичної конференції «Сучасні досягнення науки в медичній практиці» - Київ, 1-3 жовтня 2019 р.
3. Павловський Л.Л., Вплив застосування метформіну та зниження маси тіла на концентрацію керамідів С16:0, С18:0, С24:1 в плазмі крові в пацієнтів із неалкогольною жировою хворобою печінки в поєднанні з інсулінорезистентністю та цукровим діабетом 2 типу.
4. Pavlovskiy Leonid, Chernyavskiy Volodymyr, Shypulin Vadym and Tishchenko Viktoriia. Increased Level of Serum Ceramides Correlate with Liver Steatosis, Hba1c and Cholesterol in Obese Patients// Journal of Gastroenterology & Digestive Systems – 2020. - Volume 4 | Issue 1 | 1
// Гастроентерологія – 2020. - №2, Том 54.
- 4. Де і коли впроваджено:** кафедра внутрішньої медицини № 1 НМУ імені О.О. Богомольця.
5. Термін впровадження: серпень 2019– вересень 2020 р.
6. Форма впровадження: використання матеріалів у науково-дослідній роботі, впровадження у лікувальну роботу.
7. Зауваження та пропозиції: зауважень немає.

Відповідальний за впровадження

д.мед.н., професор
кафедри внутрішньої медицини № 1



В.В. Чернявський

Додаток В

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи та інновацій

Національного медичного університету

імені О.О. Богомольця

професор Земському С.В.

2020р.

Акт впровадження

1. Пропозиції для впровадження:

1. У пацієнтів з НАЖХП доцільно рекомендувати визначення рівнів керамідів С16:0, С18:0, С24:0, С24:1 та їх співвідношення С16:0/С24:0, С18:0/С24:0, С24:1/С24:0, С18:0/С16:0 до початку лікування.

2. За умови, якщо базальний рівень перевищує встановлені нами порогові значення: С16:0 - 0,39 мкмоль/л, С18:0 - 0,123 мкмоль/л, С24:1 - 1,25 мкмоль/л, С24:0 - 4,2 мкмоль/л до лікування, крім модифікації способу життя, необхідне додавання метформіну 500 мг 2 рази на добу протягом 6 місяців.

3. Для оцінки ефективності лікування хворих з НАЖХП без ЦД 2-го типу слід визначати співвідношення керамідів С18:0/С16:0 через 3 та 6 місяців.

4. Для оцінки ефективності лікування хворих з НАЖХП в поєднанні з ЦД 2-го типу слід визначати глюкозу крові натще, HbA1c та співвідношення керамідів С18:0/С16:0 в якості додаткового маркера динаміки вираженості НАЖХП через 3 та 6 місяців.

2. **Ким запропоновано, адреса виконавця:** Павловський Л.Л. ім. О.О. Богомольця (бульвар Шевченка 17).

3. **Джерело інформації:** 1 Павловський Л.Л., Чернявський В.В., Шипулін В.П., Тіщенко В.В., Купчик Л.М. Дослідження впливу кераміду С16 у плазмі крові на перебіг неалкогольної жирової хвороби печінки// Сучасна гастроентерологія – 2019. - №5. – С. 14-17.

2. Павловський Л.Л. Значення керамідів в розвитку неалкогольної жирової хвороби печінки та інсулінорезистентності// Матеріали науково-практичної конференції «Сучасні досягнення науки в медичній практиці» - Київ, 1-3 жовтня 2019 р.

3. Павловський Л.Л., Вплив застосування метформіну та зниження маси тіла на концентрацію керамідів С16:0, С18:0, С24:1 в плазмі крові в пацієнтів із неалкогольною жировою хворобою печінки в поєднанні з інсулінорезистентністю та цукровим діабетом 2 типу.

4. Pavlovskiy Leonid, Chernyavskiy Volodymyr, Shypulin Vadym and Tishchenko Viktoriia. Increased Level of Serum Ceramides Correlate with Liver Steatosis, HbA1c and Cholesterol in Obese Patients// Journal of Gastroenterology & Digestive Systems – 2020. - Volume 4 | Issue 1 | 1
// Гастроентерологія – 2020. - №2, Том 54.

4. **Де і коли впроваджено:** кафедра внутрішньої медицини № 1 НМУ імені О.О. Богомольця.

5. **Термін впровадження:** серпень 2019– вересень 2020 р., протокол № від 07.09.2020

6. **Форма впровадження:** використання матеріалів у науково-дослідній роботі, впровадження у лікувальну роботу і навчальний процес кафедри (в навчальні плани лікарів-інтернів на кафедрі внутрішньої медицини № 1 НМУ імені О.О. Богомольця).

7. **Зауваження та пропозиції:** зауважень немає. Матеріали дисертації рекомендовано для використання в клінічній практиці та навчальні плани лікарів-інтернів на кафедрі внутрішньої медицини № 1 НМУ.

Відповідальний за впровадження

д.мед.н., професор
завідувач кафедри внутрішньої медицини № 1

В.П. Шипулін

Додаток Г

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Заступник директора КНП «КМКЛ 18»

Алексєєнко Н.В. 

“ 01 ” 09 2020 р.

Акт впровадження

результатів, отриманих в дисертаційній роботі, у практику охорони здоров'я

1. Назва пропозиції для впровадження: удосконалення лікування хворих на цукровий діабет 2-го типу та неалкогольну жирову хворобу печінки на підставі визначення рівня керамідів в плазмі крові.

2. Ким запропоновано, адреса виконавця: Павловський Л.Л., аспірант кафедри внутрішньої медицини №1 Національного медичного університету ім. О.О.Богомольця (б-р Шевченко, 17).

3. Джерело інформації:

1. Павловський Л.Л., Чернявський В.В., Шипулін В.П., Тіщенко В.В., Купчик Л.М. Дослідження впливу кераміду С16 у плазмі крові на перебіг неалкогольної жирової хвороби печінки// Сучасна гастроентерологія – 2019. - №5. – С. 14-17.

2. Павловський Л.Л. Значення керамідів в розвитку неалкогольної жирової хвороби печінки та інсулінорезистентності// Матеріали науково-практичної конференції «Сучасні досягнення науки в медичній практиці» - Київ, 1-3 жовтня 2019 р.

3. Павловський Л.Л., Вплив застосування метформіну та зниження маси тіла на концентрацію керамідів С16:0, С18:0, С24:1 в плазмі крові в пацієнтів із неалкогольною жировою хворобою печінки в поєднанні з інсулінорезистентністю та цукровим діабетом 2 типу// Гастроентерологія – 2020. - №2, Том 54.

4. Де і коли впроваджено: КНП «Київська міська клінічна лікарня №18», терапевтичне відділення.

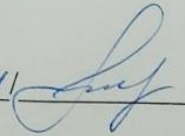
5. Термін впровадження: грудень 2019р. - травень 2020р.

6. Форма впровадження: використання матеріалів у науково-дослідній роботі, впровадження у лікувальну роботу.

7. Зауваження та пропозиції: зауважень немає. Матеріали дисертації рекомендовано для використання в клінічній практиці.

Дата 01 09 2020

Підпис _____

Зав. терапевтичним відділенням В.О. Кошеєв 

Додаток Д

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Заступник директора КНП «КМКЛ 18»

Алекссенко Н.В.

“ 01 ” вересня 2020 р.

Акт впровадження

результатів, отриманих в дисертаційній роботі, у практику охорони здоров'я

1. Назва пропозиції для впровадження: удосконалення лікування хворих на цукровий діабет 2-го типу та неалкогольну жирову хворобу печінки на підставі визначення рівня керамідів в плазмі крові.

2. Ким запропоновано, адреса виконавця: Павловський Л.Л., аспірант кафедри внутрішньої медицини №1 Національного медичного університету ім. О.О.Богомольця (б-р Шевченко,17).

3. Джерело інформації:

1. Павловський Л.Л., Чернявський В.В., Шипулін В.П., Тіщенко В.В, Купчик Л.М. Дослідження впливу кераміду С16 у плазмі крові на перебіг неалкогольної жирової хвороби печінки// Сучасна гастроентерологія – 2019. - №.5. – С. 14-17.

2. Павловський Л.Л. Значення керамідів в розвитку неалкогольної жирової хвороби печінки та інсулінорезистентності// Матеріали науково-практичної конференції «Сучасні досягнення науки в медичній практиці» - Київ, 1-3 жовтня 2019 р.

3. Павловський Л.Л., Вплив застосування метформіну та зниження маси тіла на концентрацію керамідів С16:0, С18:0, С24:1 в плазмі крові в пацієнтів із неалкогольною жировою хворобою печінки в поєднанні з інсулінорезистентністю та цукровим діабетом 2 типу// Гастроентерологія – 2020. - №2, Том 54.

4. Де і коли впроваджено: КНП «Київська міська клінічна лікарня №18», гастроентерологічне відділення.

5. Термін впровадження: грудень 2019р. – квітень 2020р.

6. Форма впровадження: використання матеріалів у науково-дослідній роботі, впровадження у лікувальну роботу.

7. Зауваження та пропозиції: зауважень немає. Матеріали дисертації рекомендовано для використання в клінічній практиці.

Дата 01.10.2020

Підпис _____

Зав. гастроентерологічним відділенням

Л.Л. Павловський *Н.В. Алекссенко*

Додаток Е

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Директору
ТОВ «Клініка КДС»
Дмитрієвій К.Д.



«01» червня 2020р

Акт впровадження

1. Пропозиції для впровадження:

1. У пацієнтів з НАЖХП доцільно рекомендувати визначення рівнів керамідів С16:0, С18:0, С24:0, С24:1 та їх співвідношення С16:0/С24:0, С18:0/С24:0, С24:1/С24:0, С18:0/С16:0 до початку лікування.
2. За умови, якщо базальний рівень перевищує встановлені нами порогові значення: С16:0 - 0,39 мкмоль/л, С18:0 - 0,123 мкмоль/л, С24:1 - 1,25 мкмоль/л, С24:0 - 4,2 мкмоль/л до лікування, крім модифікації способу життя, необхідне додавання метформіну 500 мг 2 рази на добу протягом 6 місяців.
3. Для оцінки ефективності лікування хворих з НАЖХП без ЦД 2-го типу слід визначати співвідношення керамідів С18:0/С16:0 через 3 та 6 місяців.
4. Для оцінки ефективності лікування хворих з НАЖХП в поєднанні з ЦД 2-го типу слід визначати глюкозу крові натще, HbA1c та співвідношення керамідів С18:0/С16:0 в якості додаткового маркера динаміки вираженості НАЖХП через 3 та 6 місяців.

2. Ким запропоновано, адреса виконавця: Павловський Л.Л. ім. О.О. Богомольця (бульвар Шевченка 17).

3. Джерело інформації: 1 Павловський Л.Л., Чернявський В.В., Шипулін В.П., Тіщенко В.В., Купчик Л.М. Дослідження впливу кераміду С16 у плазмі крові на перебіг неалкогольної жирової хвороби печінки// Сучасна гастроентерологія – 2019. - №5. – С. 14-17.

2. Павловський Л.Л. Значення керамідів в розвитку неалкогольної жирової хвороби печінки та інсулінорезистентності// Матеріали науково-практичної конференції «Сучасні досягнення науки в медичній практиці» - Київ, 1-3 жовтня 2019 р.

3. Павловський Л.Л., Вплив застосування метформіну та зниження маси тіла на концентрацію керамідів С16:0, С18:0, С24:1 в плазмі крові в пацієнтів із неалкогольною жировою хворобою печінки в поєднанні з інсулінорезистентністю та цукровим діабетом 2 типу.

4. Pavlovskiy Leonid, Chernyavskiy Volodymyr, Shypulin Vadym and Tishechenko Viktoriia. Increased Level of Serum Ceramides Correlate with Liver Steatosis, Hba1c and Cholesterol in Obese Patients// Journal of Gastroenterology & Digestive Systems – 2020. - Volume 4 | Issue 1 | 1
// Гастроентерологія – 2020. - №2, Том 54.

4. Де і коли впроваджено: Клініка Доктора Сичова

5. Термін впровадження: червень 2020– жовтень 2020 р.

6. Форма впровадження: використання матеріалів у науково-дослідній роботі, впровадження у лікувальну роботу клініки.

7. Зауваження та пропозиції: зауважень немає. Матеріали дисертації рекомендовано для використання в клінічній практиці та навчальні плани лікарів-інтернів на кафедрі внутрішньої медицини № 1 НМУ.

Відповідальний за впровадження

Заступник директора «КДС»

Сичов І.О.