

## **АНОТАЦІЯ**

*Грига В.І.* Клініко-патогенетичні особливості ураження печінки у хворих на цукровий діабет II типу та їх лікування. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії із галузі знань 22 – «Охорона здоров’я» за спеціальністю 222 – «Медицина». – Державний вищий навчальний заклад «Ужгородський національний університет», МОН України, Ужгород, 2021.

Дисертаційна робота присвячена вивченю особливостей ураження печінки у хворих на цукровий діабет II типу та розробці ефективних схем їх лікування.

В основу дисертаційного дослідження покладено результати загальноклінічного та лабораторно-інструментального обстеження 186 хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки (НАЖХП) на фоні цукрового діабету (ЦД) II типу та без ЦД II типу, які перебували на стаціонарному лікуванні в ендокринологічному та гастроентерологічному відділеннях КНП «Закарпатська обласна клінічна лікарня ім. Андрія Новака» Закарпатської обласної ради, а також на диспансерному обліку у сімейного лікаря та дільничного терапевта протягом 2018-2021 років. Всі пацієнти, які перебували під нашим спостереженням, отримували базисну терапію ЦД II типу та НАЖХП, відповідно до вимог уніфікованих клінічних протоколів. Для досягнення поставленої мети наукове дослідження проводилось у два етапи. На I етапі наукового дослідження всіх хворих на НАЖХП поділено на дві групи залежно від наявності чи відсутності ЦД II типу, а саме – в I групу ввійшло 110 хворих на ЦД II типу та НАЖХП, II групу слало 76 пацієнтів із НАЖХП без ЦД II типу. З метою виявлення особливостей ураження печінки у хворих на ЦД II типу хворих поділено, в свою чергу, на дві підгрупи залежно від стадії ураження печінки: 1.1 підгрупу ( $n=41$ ) та 2.1 ( $n=47$ ) підгрупу обстежених склали пацієнти з неалкогольним жировим гепатозом (НАЖГ), а в 1.2 підгрупу ( $n=69$ ) та у 2.2 ( $n=29$ ) підгрупу ввійшли хворі з

неалкогольним стеатогепатитом (НАСГ). Для порівняння отриманих результатів з нормою створена контрольна група практично здорових осіб, репрезентативна із групою порівняння за віком та статтю ( $n=20$ ).

Результати антропометричного дослідження вказують на порушення індексу маси тіла (ІМТ) у більшості обстежених пацієнтів із НАЖХП, як у поєднанні з ЦД II типу, так і без нього. При цьому, у хворих з неалкогольним стеатогепатитом (НАСГ) частіше діагностовано ожиріння I та II ступенів (у 50,7% та у 29,0% обстежених відповідно –  $p<0,01$ ), тоді як у хворих на неалкогольний жировий гепатоз (НАЖГ), особливо при його поєднанні з ЦД II типу, – частіше встановлено надмірна вага тіла (у 41,5% хворих –  $p<0,01$ ).

Неалкогольна жирова хвороба печінки у хворих на ЦД II типу проявляється переважно мінімальною та середньою ступенями активності (АЛТ у сироватці крові складає  $164,9\pm5,1$  ОД/л при  $22,6\pm1,5$  ОД/л у контрольної групи –  $p<0,05$ ). При цьому, у хворих на ЦД II типу при НАЖХП вже на стадії ураження печінки, що відповідає НАЖГ, виявлено ознаки холестатичного синдрому, а також встановлено порушення пуринового обміну.

Аналіз мікробного складу фекалій в обстежених хворих на ЦД II типу та НАЖХП вказує на зміни в кількісному й якісному складі мікрофлори товстої кишki, що проявляється зниженням рівня *Bifidobacterium* (нижче  $10^7$ ), *Lactobacillus* (нижче  $10^6$ ), а також підвищеннем кількості представників патогенної та умовно-патогенної мікрофлори. У обстежених хворих на ЦД II типу та НАЖХП, особливо при НАСГ, діагностовано підвищення кількості *Klebsiella* (до  $4,17\pm0,18$  lg КУО/г), *Proteus* (до  $2,74\pm0,30$  lg КУО/г), *Clostridium* (до  $5,61\pm0,11$  lg КУО/г), патогенних *Staphylococcus* (до  $4,95\pm0,17$  lg КУО/г), а також грибів роду *Candida* (до  $4,45\pm0,21$  lg КУО/г).

Інструментальні показники порушення стану ендотелію підтверджують дисфункцію ендотелію (ДЕ) у хворих на ЦД II типу та НАЖХП. Зміни мають стадійний характер, прогресування ураження печінки від НАЖГ до НАСГ у хворих на ЦД II типу призводить до більш виражених змін показників ендотелійзалежної вазодилатації (ЕЗВД) та ендотелійнезалежної вазодилатації (ЕНВД).

Виявлено підвищення рівня Р-селектину (одного із лабораторних маркерів ДЕ) у всіх обстежених нами пацієнтів. Причому відмічено стадійність підвищення його концентрації у сироватці крові відповідно до прогресування ураження печінки (від НАЖГ до НАСГ) при ЦД II типу. Максимальний рівень Р-селектину виявлено у хворих на ЦД II типу та НАСГ ( $448,87 \pm 6,11$  нг/мл,  $p < 0,01$ ), а мінімальний – у хворих на НАЖГ без ЦД II типу ( $227,11 \pm 5,65$  нг/мл,  $p < 0,05$ ). Також виявлено збільшення показника ендотеліну-1 у сироватці крові, з максимально вираженим відхиленням від норми у хворих на ЦД II типу та НАСГ (до  $1,21 \pm 0,011$  фмоль/мл при нормі  $0,30 \pm 0,04$  фмоль/мл у контрольній групі –  $p < 0,01$ ).

Детальний аналіз лабораторних показників вказує на залежність між показниками ДЕ та ступенем вираженості дисбіозу товстої кишки (ТК) у хворих на НАЖХП, а саме – НАСГ та ЦД II типу. Виявлено, що дисбіоз III ст. корелює із всіма лабораторно-інструментальними показниками ДЕ. У хворих на НАСГ та ЦД II типу при II ст. дисбіозу товстої кишки встановлено кореляційну залежність середньої інтенсивності між вираженістю ЕНВД ( $r = 0,70$ ;  $p < 0,05$ ), фактором фон Віллебранда ( $r = 0,68$ ;  $p < 0,05$ ), та рівнем ендотеліну-1 ( $r = 0,64$ ;  $p < 0,05$ ).

Аналіз отриманих даних вказує на зміни в рівнях вільних амінокислот (ВАК) у сироватці крові обстежених хворих на ЦД II типу та НАЖХП максимально виражені у пацієнтів 1.2 підгрупи (ЦД II типу та НАСГ). Виявлено зниження рівня триптофану (до  $17,33 \pm 0,77$  нмоль/мл –  $p < 0,01$ ), тирозину (до  $30,10 \pm 1,12$  нмоль/мл –  $p < 0,01$ ), метіоніну (до  $9,06 \pm 0,45$  нмоль/мл –  $p < 0,01$ ), лейцину (до  $52,24 \pm 1,28$  нмоль/мл –  $p < 0,05$ ), аргініну (до  $32,17 \pm 2,09$  нмоль/мл –  $p < 0,01$ ) та орнітину (до  $172,18 \pm 4,16$  нмоль/мл –  $p < 0,05$ ), а також незначним зменшенням концентрації аланіну, треоніну, серину та лізину ( $p > 0,05$ ). Ці зміни супроводжувались статистично достовірним збільшенням показників проліну (до  $262,12 \pm 5,11$  нмоль/мл –  $p < 0,01$ ), цистеїну (до  $226,11 \pm 5,14$  нмоль/мл –  $p < 0,05$ ), а також рівнів глутаміну, аспарагіну та валіну.

У хворих на ЦД II типу та НАЖХП встановлено значні відхилення від норми у показниках кровотоку при дослідженні магістральних судин головного мозку. Максимальні зміни кровотоку по екстракраніальних судинах головного мозку

спостерігалися у пацієнтів на НАСГ у поєднанні з ЦД II типу. Також звертає на себе увагу асиметричне ураження судин головного мозку із більш вираженим дефіцитом кровотоку зліва при ЦД II типу та НАЖХП, що частіше спостерігалося у хворих на стадії НАСГ. Найбільш значущі гемодинамічні зміни виявлені по загальній сонній артерії та в 3 сегменті вертебральної артерії у хворих 1.2 підгрупи. Зокрема виявлено зниження пікової систолічної швидкості (ПСШ) до  $37,9 \pm 1,0$  см/с справа, та до  $37,1 \pm 0,7$  см/с зліва, зниження максимальної швидкості кровотоку (ТАМХ) – до  $19,3 \pm 1,4$  см/с справа, та до  $15,4 \pm 1,5$  см/с зліва по загальній сонній артерії; зниження ПСШ до  $32,6 \pm 0,7$  см/с справа, та до  $30,0 \pm 0,4$  см/с зліва, зниження ТАМХ – до  $14,0 \pm 0,5$  см/с справа, та до  $13,2 \pm 0,8$  см/с зліва по 3 сегменту вертебральної артерії.

Нейропсихометричне тестування дало змогу визначити когнітивні порушення та встановити їх вираженість у хворих на ЦД II типу та НАЖХП. Доведено, що всі обстежені нами пацієнти мали когнітивні порушення переважно легкого та помірного ступенів вираженості, що варифіковані за Монреальською шкалою оцінки когнітивних функцій. Максимально виражені порушення визначалися у сфері уваги та концентрації, пам'яті, дещо менш виражені – зорово-конструктивні, особливо серед хворих на НАСГ у поєднанні з ЦД II типу. У хворих I групи спостерігалося порушення інтелекту у вигляді деменції легкого ступеня, з максимальним відхиленням від норми за шкалою MMSE (Mini-Mental State Examination) у пацієнтів з НАСГ у поєднанні з ЦД II типу ( $21,1 \pm 0,5$  бали –  $p < 0,01$ ). На послаблення уваги, підвищену втомлюваність, забудькуватість вказують результати тесту Лурія А.Р. у всіх обстежених нами пацієнтів. Знижений рівень стресостійкості має місце за результатами Бостонського тесту у всіх обстежуваних нами пацієнтів I та II груп ( $p < 0,01$ ). При цьому, у хворих з НАСГ у поєднанні з ЦД II типу встановлено найнижчий рівень опірності до стресів ( $58,4 \pm 1,9$  бали –  $p < 0,01$ ). Виражені порушення пам'яті та неможливість тривалий час зосереджуватися на конкретних завданнях, зниження працездатності, швидку втомлюваність діагностовано за допомогою тестів Бентона, Шульте та «Малювання годинника». Нездатність до ефективного переключення уваги при зміні умов навколошнього

оточення встановлено за результатом Вісконсінського тесту сортування карток у вигляді збільшення персеверативних відповідей при виконанні даного тесту, що можуть несприятливо впливати на вербалльні функції в обстежених хворих на ЦД II типу та НАЖХП з максимально вираженим відхиленням від норми у пацієнтів 1.2 підгрупи (хворі на ЦД II типу та НАСГ).

На II етапі наукового дослідження хворих I групи, в межах підгруп, поділено на класи А та В, залежно від призначеного комплексного лікування:

- 1.1 А підгрупа (n=20) та 1.2 А підгрупа (n=30) хворих отримували лише базисну терапію (БТ) протягом 2 місяців;
- 1.1 В підгрупі (n=21) та 1.2 В підгрупі (n=39) хворим на фоні БТ додатково призначено комбінований пробіотик та мелатонін (МТ) протягом 2 місяців.

Базисна терапія пацієнтів на ЦД II типу та НАЖХП включала метформін в індивідуальному дозуванні, а також урсодезоксихолеву кислоту (УДХК) на фоні модифікації способу життя та дієтичних рекомендацій, а також препарат 2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину сукцинат.

Після курсу комплексної терапії встановлено зменшення вираженості загальної слабкості та сонливості у хворих на ЦД II типу та НАЖХП із максимальним позитивним ефектом у пацієнтів, що додатково до БТ отримували МТ та комбінований пробіотик (у хворих 1.1 В та 1.2 В підгруп), а саме – зменшення загальної слабкості на 29,6% та 54,4% та на 19,5% та 27,1% сонливості відповідно ( $p<0,01$ ). Повторне лабораторне дослідження після курсу проведеного лікування встановило зменшення вираженості холестатичного та цитолітичного синдромів. Слід зазначити більш виражену позитивну динаміку активності АЛТ та АСТ у хворих 1.1 В та 1.2 В підгруп після двох місячного лікування, поряд з цим у пацієнтів із ЦД II типу та НАСГ не досягнуто нормалізації даних показників. Отже, запропонована нами схема лікування є ефективною та безпечною, але для досягнення повної клініко-лабораторної ремісії у таких пацієнтів її слід призначати на більш тривалий період.

Виявлено позитивну динаміку у кількісному та якісному складі мікрофлори товстої кишки, а саме нормалізацію кількості *Bifidobacterium* та *Lactobacillus*, що супроводжувалось зниженням кількості *Proteus*, *Candida*, *Clostridium*, *Klebsiella* та патогенних стафілококів. Максимальні позитивні зміни встановлено у підгрупах хворих, які приймали додатково МТ та комбінований пробіотик. Нормалізація дисбіозу ТК у хворих на ЦД II типу та НАЖХП на фоні прийому МТ та комбінованого пробіотика призводить до нормалізації показників  $\alpha$ 1-АТ у сироватці крові, калі та фекального кліренсу, що свідчить про зменшення проникності кишечника. Вказані позитивні зміни є більш вираженими у разі раннього початку лікування, вже на стадії НАЖГ у хворих на ЦД II типу.

На фоні проведеного комплексного лікування виявлено нормалізацію рівнів вільних амінокислот у сироватці крові. У хворих 1.1 В та 1.2 В підгруп зареєстровано статистично достовірне збільшення показника триптофану (до  $60,11 \pm 0,43$  нмоль/мл –  $p < 0,01$  та до  $37,25 \pm 0,47$  нмоль/мл –  $p < 0,01$  відповідно), аргініну (до  $78,78 \pm 0,89$  нмоль/мл –  $p < 0,05$  та до  $62,15 \pm 1,89$  нмоль/мл –  $p < 0,01$  відповідно), орнітину (до  $231,11 \pm 4,26$  нмоль/мл –  $p < 0,05$  та до  $204,16 \pm 3,38$  нмоль/мл –  $p < 0,05$  відповідно), а також – зниження концентрації проліну (до  $160,01 \pm 4,04$  нмоль/мл –  $p < 0,05$  та до  $220,05 \pm 4,07$  нмоль/мл –  $p < 0,05$  відповідно).

Продемонстровано значне зменшення вираженості депресії, тривожності на фоні нормалізації мікробного складу товстої кишки, що в свою чергу, сприяло нормалізації порушень амінокислотного дисбалансу у сироватці крові при тривалому прийомі комбінованого пробіотика у хворих на ЦД II типу та НАЖХП, з максимальним терапевтичним ефектом на стадії ураження печінки, що відповідає НАЖГ. Повторне нейропсихометричне тестування, проведене після курсу комплексного лікування, вказує, що препарати, які призначаються у складі БТ у хворих на ЦД II типу та НАЖХП для нормалізації функціонального стану печінки та вуглеводного обміну не впливають на когнітивний статус таких хворих. Додавання до БТ комбінованого пробіотика та нейрогормону мелатоніну суттєво покращує когнітивний дефіцит у даних пацієнтів. Доведено, що мелатонін

ефективно підвищує концентраційну здатність, пам'ять, стресостійкість, а також знижує втомлюваність, покращуючи при цьому працевздатність у пацієнтів.

Слід зазначити, що додаткове призначення МТ хворим на ЦД II типу у поєднанні з НАЖХП сприяло більш вираженій позитивній динаміці змін показників вуглеводного обміну. Встановлено статистично достовірне зниження рівнів глюкози, HbA1c (до  $6,68 \pm 0,24\%$  –  $p < 0,01$  у хворих на НАСГ 1.2 В підгрупи), інсуліну (до  $17,15 \pm 0,56$  Од/л –  $p < 0,05$  у хворих на НАСГ 1.2 В підгрупи та до  $13,72 \pm 0,44$  Од/л –  $p < 0,05$  у хворих на НАЖГ 1.1 В підгрупи) та індексу НОМА-IR (до  $3,14 \pm 0,41$  –  $p < 0,01$  у хворих на НАЖГ 1.1 В підгрупи та до  $5,05 \pm 0,11$  –  $p < 0,01$  у хворих на НАСГ 1.2 В підгрупи).

Таким чином, у хворих на ЦД II типу ураження печінки частіше виявляється на стадії НАСГ, що проявляється стійким підвищеннем цитолітичних ферментів у сироватці крові, переважно АЛТ. Виявлений дисбіоз ТК II та III ст. у пацієнтів на ЦД II типу та НАЖХП супроводжується амінокислотним дисбалансом у сироватці крові (підвищення концентрації проліну та зниження рівнів триптофану, аргініну та орнітину). Ці зміни виникають на фоні збільшеної проникності кишкової стінки та порушення його бар'єрної функції, про що свідчить зростання кліренсу  $\alpha$ 1-АТ переважно у пацієнтів із ЦД II типу та НАСГ. Когнітивний дефіцит та порушення психоемоційної сфери, що проявляється депресивними розладами (за даними нейропсихометричного тестування), виникає внаслідок сповільнення кровотоку по магістральним судинам головного мозку на фоні ДЕ. На роль формування психоемоційних розладів у хворих на ЦД II типу та НАЖХП амінокислотного дисбалансу (зниження показника триптофану) вказує покращення емоційної сфери у даних пацієнтів на фоні комплексного лікування, що включає препарат МТ та комбінованого пробіотика. Дано схема терапії є ефективною, оскільки впливає не тільки на динаміку дисбіозу ТК, а й сприяє зменшенню вираженості запалення у ТК (зниження рівня  $\alpha$ 1-АТ у калі та сироватці крові), що позитивно впливає на рівень біологічно активних речовин, які впливають на стан судинного ендотелію, а також призводить до більш вираженого позитивного впливу на розлади вуглеводного й ліпідного обмінів у хворих на ЦД II типу та НАЖХП.

*Наукова новизна отриманих результатів.* Встановлена доцільність проведення еластометрії печінки та фібротестів у хворих на ЦД II типу для визначення функціонального стану печінки та стадії її ураження. Вперше хворим на ЦД II типу та НАЖХП проведено визначення рівня  $\alpha$ 1-антитрипсину у сироватці крові та калі, а також розраховано кліренс  $\alpha$ 1-антитрипсину. Доведено його інформативність для дослідження порушень кишечного бар’єра у даних пацієнтів. Вперше встановлено взаємозв’язок між зміною концентрації Р-селектину у сироватці крові та вираженістю ДЕ у хворих на ЦД II типу та неалкогольну жирову хворобу печінки. Вперше доведено роль зниження рівня триптофану сироватки крові, що виникає на фоні дисбіозу товстої кишки та порушення кишечного бар’єра, у формуванні психоемоційних та депресивних проявів у хворих на ЦД II типу та НАЖХП. Вперше доведено доцільність використання комбінованого пробіотика для корекції нейровегетативних та когнітивних порушень у пацієнтів із ЦД II типу та НАЖХП. Запропонований диференційований підхід до лікування хворих на ЦД II типу та НАЖХП залежно від ступеня ураження печінки, дисбіотичних змін, вираженості ДЕ та амінокислотного дисбалансу, а також нейровегетативних та когнітивних порушень.

*Практичне значення одержаних результатів.* Доведена інформативність проведення еластометрії печінки та фібротестів для раннього виявлення ураження печінки у хворих на ЦД II типу. Обґрунтована доцільність визначення рівня  $\alpha$ 1-антитрипсину у сироватці крові та калі, а також розрахунок кліренсу  $\alpha$ 1-антитрипсину для виявлення порушень кишкового бар’єра у даних пацієнтів. Аргументована інформативність визначення динаміки рівня Р-селектину у сироватці крові, як вазодилататора та маркера формування ДЕ у хворих на ЦД II типу та НАЖХП. Встановлена доцільність визначення змін кровотоку в судинах головного мозку у поєднанні з нейропсихометричним тестуванням та визначенням рівнів вільних амінокислот у сироватці крові для виявлення когнітивних порушень у хворих на ЦД II типу та НАЖХП. Виявлено доцільність призначення

комбінованого пробіотика для корекції нейровегетативних та когнітивних порушень у хворих на ЦД II типу та НАЖХП. Доведена ефективність проведення комплексної терапії у хворих на ЦД II типу та НАЖХП із використанням МТ та комбінованого пробіотика для корекції змін ліпідного й вуглеводного обмінів, а також амінокислотного дисбалансу і когнітивних порушень.

*Ключові слова:* цукровий діабет II типу, неалкогольна жирова хвороба печінки, неалкогольний жировий гепатоз, неалкогольний стеатогепатит, дисбіоз товстої кишки,  $\alpha$ 1-антитрипсин, амінокислоти, дисфункція ендотелію, Р-селектин, психоемоційні порушення, комплексне лікування, мелатонін, комбінований пробіотик.

## **СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

### **Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації**

1. Yelyzaveta S. Sirchak, Vasilij I. Griga, Nelli V. Bedey, Ivan I. Pushkash (2020) *Changes in the level of α<sub>1</sub>-antitrypsin in patients with non-alcoholic fatty liver disease.* Wiadomosci Lekarskie, Tom LXXIII, Nr 3, 508-511.

DOI: 10.36740/WLek202003119

<https://wiadlek.pl/wp-content/uploads/archive/2020/WLek202003119.pdf>

(Особистий внесок – провів аналіз та статистичну обробку даних, підготував статтю до друку).

2. Yelyzaveta S. Sirchak, Vasilij I. Griga, Oksana I. Petrichko (2020) *Correction of autonomic and cognitive disturbances in patients with non-alcoholic fatty liver disease.* Wiadomosci Lekarskie, Tom LXXIII, Nr 10, 2198-2203.

DOI: 10.36740/WLek202010117

<https://wiadlek.pl/wp-content/uploads/archive/2020/WLek202010117.pdf>

(Особистий внесок – провів аналіз та статистичну обробку даних, підготував статтю до друку).

3. Sirchak Ye.S., Griga V.I., Kurchak N.Yu., Kutsenko A.Yu. (2019) *Changes in the brain vessels in patients with non-alcoholic fatty liver disease and carbohydrate metabolism disorders.* Гастроентерологія, Том 53, № 2, 33-40.

DOI: 10.22141/2308-2097.53.2.2019.168983

<http://gastro.zaslavsky.com.ua/article/view/168983>

(Особистий внесок – провів аналіз та статистичну обробку даних, підготував статтю до друку).

4. Сірчак Є.С., Грига В.І., Пічкар Й.І., Гема-Багіна Н.М. (2019) *Корекція дисбіозу товстої кишки у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки та цукровий діабет 2 типу.* Український журнал медицини, біології та спорту, Том 4, № 5 (21), 186-191.

DOI: 10.26693/jmbs04.05.186

<https://jmbs.com.ua/archive/4/5/186>

(Особистий внесок – провів аналіз та статистичну обробку даних, підготував статтю до друку).

5. Sirchak Ye.S., Boldizhar O.O., Griga V.I., Petrichko O.I. (2019) *Autonomic and cognitive disturbances in patients with non-alcoholic fatty liver disease and type 2 diabetes mellitus.* Гастроентерологія, Том 53, № 4, 40-46.

DOI: 10.22141/2308-2097.53.4.2019.182403

<http://gastro.zaslavsky.com.ua/article/view/182403>

(Особистий внесок – провів аналіз та статистичну обробку даних, підготував статтю до друку).

6. Сірчак Є.С., Грига В.І., Стегура А.В., Пічкар Й.І. (2019) *Зміна рівнів амінокислот сироватки крові у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки та цукровий діабет 2 типу.* Науковий вісник Ужгородського університету, серія “Медицина”, № 2 (60), 68-71.

<https://dspace.uzhnu.edu.ua/jspui/handle/lib/35130>

(Особистий внесок – провів аналіз та статистичну обробку даних, підготував статтю до друку).

7. Сірчак Є.С., Грига В.І., Петричко О.І., Олексик О.Т., Пічкар Й.І. (2020) *Дисфункція ендотелію та дисбіоз кишечника у хворих на неалкогольний стеатогепатит та цукровий діабет 2 типу.* Український журнал медицини, біології та спорту, Том 5, № 1 (23), 192-198.

DOI: 10.26693/jmbs05.01.192

<https://jmbs.com.ua/archive/5/1/192>

(Особистий внесок – провів аналіз та статистичну обробку даних, підготував статтю до друку).

8. Сірчак Є.С., Грига В.І., Петричко О.І., Пічкар Й.І. (2020) *Ефективність використання *Bifidobacterium infantis* 35624 для лікування хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки.* Гастроентерологія, Том 54, № 1, 16-25.

DOI: 10.22141/2308-2097.54.1.2020.199136

<http://gastro.zaslavsky.com.ua/article/view/199136>

(Особистий внесок – провів аналіз та статистичну обробку даних, підготував статтю до друку).

9. Сірчак Є.С., Грига В.І., Стегура А.В., Гольча А.І. (2020) *Зміни рівня P-селектину у сироватці крові у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки.* Здобутки клінічної і експериментальної медицини, № 2 (42), 166-171.

DOI: 10.11603/1811-2471.2020.v.i2.11337

<https://ojs.tdmu.edu.ua/index.php/zdobutky-eks-med/article/view/11337>

(Особистий внесок – провів аналіз та статистичну обробку даних, підготував статтю до друку).

10. Сірчак Є.С., Грига В.І., Сірчак С.С. (2020) *Корекція порушень ліпідного обміну у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки.* Проблеми клінічної педіатрії, № 1-2 (47-48), 47-52.

DOI: 10.24144/1998-6475.2020.47-48.47-52

<https://dspace.uzhnu.edu.ua/jspui/bitstream/lib/33883/1/13027-6183-PB.pdf>

(Особистий внесок – провів аналіз та статистичну обробку даних, підготував статтю до друку).

### **Опубліковані праці апробаційного характеру**

11. Szircsák E., Griga L., Csobej M., Kucenkó A. (2019) *The study of the indicators of endothelium dysfunction (ED) in patients with nonalcoholic fatty liver disease and the opportunities of corrections of such dysfunctions.* Abstracts of Lectures and Posters, Magyar Gasztroenterológiai Társaság 61. Nagygyűlése (június 1-4, Siófok), № 184, Р. 156.

(Особистий внесок – провів аналіз та статистичну обробку даних, підготував статтю до друку).

12. Сірчак Є.С., Сіксай Л.Т., Грига В.І., Фабрі З.Й., Сірчак С.С. (2019) *Ураження печінки у хворих та цукровий діабет 2 типу.* Збірник праць XII Міжнародної міждисциплінарної науково-практичної конференції «Сучасні аспекти збереження здоров'я людини» (12-13 квітня 2019 року, м. Ужгород), С. 385-387.

(Особистий внесок – провів аналіз та статистичну обробку даних, підготував статтю до друку).

13. Сірчак Є.С., Фабрі З.Й., Грига В.І. (2019) *Сучасні аспекти неінвазивної діагностики ураження печінки у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки*. Медична та клінічна хімія. Матеріали ХІІ Українського Біохімічного конгресу (30 вересня-4 жовтня 2019 року м. Тернопіль), Том 21, № 3 (80), С. 234-235.

(Особистий внесок – провів аналіз та статистичну обробку даних, підготував статтю до друку).

14. Сірчак Є.С., Грига В.І., Пічкар Й.І., Рего О.Ю., Стегура А.В. (2020) *Корекція дисфункції ендотелію у хворих на цукровий діабет 2 типу та неалкогольний стеатогепатит*. Збірник праць XIII Міжнародної міждисциплінарної науко-практичної конференції «Сучасні аспекти збереження здоров'я людини» (3-4 квітня 2020 року, м. Ужгород), С. 325-329.

(Особистий внесок – провів аналіз та статистичну обробку даних, підготував статтю до друку).

15. Сірчак Є.С., Грига В.І., Сірчак С.С. (2020) *Порушення рівнів вільних амінокислот сироватки крові у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки та цукровий діабет 2 типу*. Гастроентерологія. Тези науково-практичної конференції з міжнародною участю «VIII наукова сесія Інституту гастроентерології НАМН України. Новітні технології в теоретичній та клінічній гастроентерології» (26-27 листопада 2020 року, м. Дніпро), Том 54, № 4, С. 114.

(Особистий внесок – провів аналіз та статистичну обробку даних, підготував статтю до друку).

16. Сірчак Є.С., Грига В.І., Стегура А.В. (2020) *Неінвазивні методи діагностики ураження печінки у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки та цукровий діабет 2 типу* // Науковий вісник Ужгородського університету, серія “Медицина”, 2 (62), С. 67-72.

(Особистий внесок – провів аналіз та статистичну обробку даних, підготував статтю до друку).

## **ANNOTATION**

*Griga V.I.* Clinical and pathogenetic features of liver lesion in patients with type II diabetes mellitus and their treatment. – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in the field of knowledge 22 – «Healthcare» in specialty 222 – «Medicine». – State Higher Educational Institution "Uzhhorod National University", Ministry of Education and Science of Ukraine, Uzhhorod, 2021.

The dissertation is devoted to the study of the features of liver lesion in patients with type II diabetes mellitus and the development of effective treatment regimen.

The dissertation research is based on the results of clinical and laboratory-instrumental examination of 186 patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) caused by type II diabetes mellitus (DM) and without type II diabetes mellitus, who were hospitalized in the endocrinology and gastroenterology departments of CNE "Transcarpathian regional clinical hospital named after Andriy Novak" ZRC, as well as on the dispensary register with a family doctor, district therapist during 2018-2021. All patients who were under our supervision received basic therapy for type II diabetes and NAFLD in accordance with the requirements of unified clinical protocols. To achieve this goal, the research was conducted in two stages. At the first stage of the research all patients with NAFLD were divided into two groups depending on the presence or absence of type II diabetes, namely - group I included 110 patients with type II diabetes and NAFLD, group II sent 76 patients with NAFLD without type II diabetes. In order to identify the features of liver damage in patients with type II diabetes, both groups of patients, in turn, were divided into two subgroups depending on the stage of liver damage: 1.1 subgroup (n=41) and 2.1 (n=47) subgroup were patients with nonalcoholic fatty hepatosis (NAFL), and subgroup 1.2 (n=69) and 2.2 (n=29) subgroup included patients with non-alcoholic steatohepatitis (NASH). To compare the obtained results with the

norm, a control group of practically healthy individuals was created, representative with the group of comparison by age and sex (n=20),

The results of the anthropometric study show impairments of the body mass index (BMI) in most of the patients examined for NAFLD, both in combination with type II diabetes and without it. At the same time, patients with non-alcoholic steatohepatitis (NASH) are more often diagnosed with I and II degree of obesity (in 50.7% and 29.0% of those surveyed, respectively – p<0.01), while in patients with non-alcoholic fatty hepatosis (NAFL), especially in combination with type II diabetes - more often found overweight (in 41.5% of patients – p<0.01).

Non-alcoholic fatty liver disease in patients with type II diabetes is manifested mainly by minimal and average degrees of (ALT activity in the serum is  $164.9 \pm 5.1$  IU/l at  $22.6 \pm 1.5$  IU/l in the control group – p<0.05). At the same time, in patients with type II diabetes mellitus with NAFLD already at the stage of liver damage, which corresponds to NAFLD, signs of cholestatic syndrome were detected, as well as a violation of purine metabolism.

The analysis of the microbial feces in the examined patients with NAFLD and type II diabetes indicates changes in the quantitative and qualitative composition of the microflora of the colon, manifested by a decrease in anaerobic flora *Bifidobacterium* (lower  $10^7$ ), *Lactobacillus* (lower  $10^6$ ), as well as an increase in pathogens microflora. In the examined patients with type II diabetes and NAFLD, especially in NASH, an increase in the amount of *Klebsiella* (up to  $4.17 \pm 0.18$  lg CFU/g), *Proteus* (up to  $2.74 \pm 0.30$  lg CFU/g), *Clostridium* (up to  $5.61 \pm 0.11$  lg CFU/g), pathogenic *Staphylococcus* (up to  $4.95 \pm 0.17$  lg CFU/g), and fungi of the genus *Candida* (up to  $4.45 \pm 0.21$  lg CFU/g).

Instrumental indicators of endothelial disorders confirm endothelial dysfunction (ED) in patients with type II diabetes and NAFLD. The changes are staged, progression of liver damage from NAFLD to NASH in patients with type II diabetes leads to more pronounced changes in endothelium-dependent vasodilation (EDVD) and endothelium-independent vasodilation (ENVD).

An increased level of P-selectin (one of ED laboratory markers) was detected in all patients examined by us. Moreover, there was a gradual increase in its concentration in

the serum in accordance with the progression of liver lesion (from NAFL to NASH). The maximum level of P-selectin was determined in patients with type II diabetes and NASH ( $448.87 \pm 6.11$  ng/ml,  $p < 0.01$ ), and the minimum in patients with NAFL without type II diabetes ( $227.11 \pm 5.65$  ng/ml,  $p < 0.05$ ). There was also an increase in endothelin-1 in the serum, with the most pronounced deviation from the norm in patients with type II diabetes and NASH (up to  $1.21 \pm 0.011$  fmol/ml at a rate of  $0.30 \pm 0.04$  fmol/ml in the control group –  $p < 0.01$ ).

Detailed analysis of laboratory parameters indicates a relationship between ED and the severity of colonic dysbiosis in patients with NAFLD, namely NASH and type II diabetes. Was found that stage III dysbiosis correlates with all laboratory and instrumental indicators of ED. In patients with NASH and type II diabetes mellitus in stage II colonic dysbiosis, a correlation between moderate intensity was found between the severity of UTI ( $r = 0.70$ ;  $p < 0.05$ ), von Willebrand factor ( $r = 0.68$ ;  $p < 0.05$ ), and the level of endothelin-1 ( $r = 0.64$ ;  $p < 0.05$ ).

Analysis of the obtained data indicates changes in the levels of free amino acids in the serum of the examined patients with type II diabetes and NAFLD, most pronounced in patients 1.2 subgroup (type II diabetes and NASH), namely – a decrease in tryptophan (up to  $17.33 \pm 0.77$  nmol/ml –  $p < 0.01$ ), tyrosine (up to  $30.10 \pm 1.12$  nmol/ml –  $p < 0.01$ ), methionine (up to  $9.06 \pm 0.45$  nmol/ml –  $p < 0.01$ ), leucine (up to  $52.24 \pm 1.28$  nmol/ml –  $p < 0.05$ ), arginine (up to  $32.17 \pm 2.09$  nmol/ml –  $p < 0.01$ ) and ornithine (up to  $172.18 \pm 4.16$  nmol/ml –  $p < 0.05$ ), as well as a slight decrease in the concentration of alanine, threonine, serine and lysine ( $p > 0.05$ ). These changes were accompanied by a statistically significant increase in proline (up to  $262.12 \pm 5.11$  nmol/ml –  $p < 0.01$ ), cysteine (up to  $226.11 \pm 5.14$  nmol/ml –  $p < 0.05$ ), and also levels of glutamine, asparagine and valine.

In patients with type II diabetes and NAFLD, were detected significant deviations from the norm in the indicators of blood flow in the study of the main vessels of the brain. The maximum changes in blood flow through the extracranial vessels of the brain were observed in patients with NASH in combination with type II diabetes. Also draws attention asymmetric vascular lesion of the brain with a more pronounced deficiency of blood flow on the left in type II diabetes and NAFLD, which was more often observed in

patients with NASH. The most significant hemodynamically changes were found in the common carotid artery and in 3 segments of the vertebral artery in patients of subgroup 1.2. In particular, the decrease in peak systolic velocity (PSV) to  $37.9 \pm 1.0$  cm/s on the right, and to  $37.1 \pm 0.7$  cm/s on the left, decrease in the maximum blood flow velocity (TAMX) – up to  $19.3 \pm 1.4$  cm/s on the right, and up to  $15.4 \pm 1.5$  cm/s on the left along the common carotid artery; decrease in PSV to  $32.6 \pm 0.7$  cm/s on the right, and to  $30.0 \pm 0.4$  cm/s on the left, decrease in TAMX – to  $14.0 \pm 0.5$  cm/s on the right, and to  $13.2 \pm 0.8$  cm/s on the left on 3 segments of a vertebral artery.

Neuropsychometric testing made it possible to identify cognitive disorders and establish their severity in patients with type II diabetes and NAFLD. It was proved that all patients examined by us had cognitive impairments of mostly mild and moderate severity which were varied by the Montreal scale of assessment of cognitive functions. The most pronounced disorders were determined in the area of attention and concentration, memory, slightly less pronounced - visual-constructive, especially among patients with NASH in combination with type II diabetes. In patients of group I was observed a violation of intelligence in the form of mild dementia, with the maximum deviation from the norm on the MMSE scale (Mini-Mental State Examination) in patients with NASH in combination with type II diabetes ( $21.1 \pm 0.5$  points –  $p < 0.01$ ). Weakening of attention, increased fatigue, forgetfulness indicate the results of the test Luria A.R. in all patients examined by us. Reduced stress resistance occurs according to the results of the Boston test in all patients we examined I and II groups ( $p < 0.01$ ). At the same time, patients with NASH in combination with type II diabetes had the lowest level of resistance to stress ( $58.4 \pm 1.9$  points –  $p < 0.01$ ). Severe memory impairment and inability to focus on specific tasks for a long time, reduced efficiency, and rapid fatigue were diagnosed using Benton's, Schulte's, and Drawing Clock tests. The inability to effectively switch attention when changing environmental conditions was established by the Wisconsin card sorting test in the form of increased perseverative responses to this test, which may adversely affect verbal functions in examined patients with type II diabetes and NAFLD with the most pronounced deviation from the norm in patients 1.2 subgroup (patients with type II diabetes and NASH).

At the II stage of scientific research of patients of the I group, within subgroups, were divided into classes A and B, depending on the appointed complex treatment that patients received against basic therapy (BT):

- 1.1 A subgroup (n=20) and 1.2 A subgroup (n=30) patients received only BT for 2 months;
- 1.1 B subgroup (n=21) and 1.2 B subgroup (n=39) patients with BT were additionally prescribed combined probiotic and melatonin (MT) for 2 months.

Basic therapy for patients with type II diabetes and NAFLD included metformin – in individual doses, as well as ursodeoxycholic acid (UDCA) on the background of lifestyle modifications and dietary recommendations in addition with 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate.

After a course of complex therapy, a decrease in the severity of general weakness and drowsiness in patients with type II diabetes and NAFLD with the maximum positive effect in patients receiving MT and combined probiotic (in patients 1.1 B and 1.2 B subgroups), and namely, a decrease in general weakness by 29.6% and 54.4% and by 19.5% and 27.1% drowsiness, respectively ( $p<0.01$ ). Repeated laboratory investigation after a course of treatment established a decrease in the severity of cholestatic and cytolytic syndromes. It should be noted more pronounced positive dynamics in the levels of ALT and AST in patients of 1.1 B and 1.2 B subgroups after two months of treatment, in addition, patients with type II diabetes and NASH did not achieve normalization of these indicators. Therefore, our proposed treatment regimen is effective and safe, but to achieve complete clinical and laboratory remission in such patients it should be prescribed for a longer period of time.

Was revealed positive dynamics in the quantitative and qualitative composition of the colon microflora, namely the normalization of the amount of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus*, which was accompanied by a decrease in the number of *Proteus*, *Candida*, *Clostridium*, *Klebsiella* and pathogenic staphylococci. The maximum positive changes were found in subgroups of patients who additionally took the drug MT combined probiotic. Normalization of colon dysbiosis in patients with type II diabetes and NAFLD on the background of use of the drug MT and combined probiotic leads to normalization

of  $\alpha$ 1-AT in serum, feces and fecal clearance, indicating a decrease in intestinal permeability. These positive changes are more pronounced in case of early beginning of the treatment, already at the stage of NAFLD in patients with type II diabetes.

Against the background of complex treatment revealed normalization of serum free amino acid levels. In patients of 1.1 B and 1.2 B subgroups there was a statistically significant increase in tryptophan (up to  $60.11 \pm 0.43$  nmol/ml –  $p < 0.01$  and up to  $37.25 \pm 0.47$  nmol/ml –  $p < 0.01$  respectively), arginine (up to  $78.78 \pm 0.89$  nmol/ml –  $p < 0.05$  and up to  $62.15 \pm 1.89$  nmol/ml –  $p < 0.01$  respectively), ornithine (up to  $231.11 \pm 4.26$  nmol/ml –  $p < 0.05$  and up to  $204.16 \pm 3.38$  nmol/ml –  $p < 0.05$ , respectively), as well as a decrease in the concentration of proline (up to  $160.01 \pm 4.04$  nmol/ml –  $p < 0.05$  and up to  $220.05 \pm 4.07$  nmol/ml –  $p < 0.05$ , respectively).

There has been a significant reduction in the severity of depression, anxiety on the background of normalization of the microbial composition of the colon, which in its turn, contributed to the normalization of amino acid imbalance in serum with long-term use of combined probiotic in patients with type II diabetes and NAFLD, with maximum therapeutic effect on the liver damage stage corresponding to NAFL. Repeated neuropsychometric testing after a course of comprehensive treatment indicates that drugs prescribed as part of BT in patients with type II diabetes and NAFLD to normalize liver function, carbohydrate metabolism do not affect the cognitive status of these patients. The additional appointment of combined probiotic and the neurohormone melatonin to the basic treatment significantly improves cognitive deficits in these patients. Was proved that melatonin effectively increases concentration, memory, stress resistance, and reduces fatigue, while improving performance in patients.

It should be noted that the additional appointment of MT in patients with type II diabetes in combination with NAFLD contributed to a more pronounced positive dynamics in changes in carbohydrate metabolism. There was a statistically significant decrease in glucose levels, HbA1c (up to  $6.68 \pm 0.24\%$  –  $p < 0.01$  in patients with NASH 1.2 B subgroup), insulin (up to  $17.15 \pm 0.56$  U/l –  $p < 0.05$  in patients with NASH 1.2 B subgroup and up to  $13.72 \pm 0.44$  U/l –  $p < 0.05$  in patients with NAFL 1.1 B subgroup) and

the HOMA-IR index (up to  $3.14 \pm 0.41$  –  $p < 0.01$  in patients with NAFL 1.1 B subgroup and up to  $5.05 \pm 0.11$  –  $p < 0.01$  in patients with NASH 1.2 B subgroup).

Thus, in patients with type II diabetes, liver damage is more often detected at the stage of NASH, which is manifested by a steady increase in cytolytic enzymes in the serum, mainly ALT. Detected colon dysbiosis of stage II and III in patients with type II diabetes and NAFLD is accompanied by an amino acid imbalance in the serum (increasing proline concentration and reducing levels of tryptophan, arginine and ornithinium). These changes occur against the background of increased permeability of the intestinal wall and violation of its barrier function, as evidenced by the increase in the clearance of  $\alpha 1$ -AT, mainly in patients with type II diabetes and NASH. Cognitive deficit and psycho-emotional disorders, manifested by depressive disorders (according to neuropsychometric testing) occurs due to slowing of blood flow through the main vessels of the brain on the background of ED. The role of the formation of psychoemotional disorders in patients with type II diabetes and NAFLD amino acid imbalance (decrease in tryptophan) indicates an improvement in the emotional sphere in these patients on the background of complex treatment, including the drug MT and combined probiotic. This scheme of therapy is effective because it affects not only the dynamics of colon dysbiosis, but also helps to reduce the severity of inflammation in colon (decrease in the level of  $\alpha 1$ -AT in feces and serum), which has a positive effect on the level of biologically active substances that are affecting the vascular endothelium, and also leads to more pronounced positive effect on disorders of carbohydrate and lipid metabolism in patients with type II diabetes and NAFLD.

*Scientific novelty of the obtained results.* The expediency of elastometry of the liver and fibrotests in patients with type II diabetes to determine the functional status of liver and stage of its damage. For the first time in patients with type II diabetes and NAFLD, the level of  $\alpha 1$ -antitrypsin in blood serum and feces was determined, and the clearance of  $\alpha 1$ -antitrypsin was calculated. Has been proven its informativeness for study of the violation of the intestinal barrier in these patients. For the first time, a relationship was found between changes in serum P-selectin levels and the severity of ED in patients with

type II diabetes and non-alcoholic fatty liver disease. For the first time, the role of reducing serum tryptophan levels which occurs against the background of colonic dysbiosis and violation of the intestinal barrier in the formation of psychoemotional and depressive manifestations according to neuropsychometric testing in patients with type II diabetes and NAFLD has been proven. A differentiated approach to the treatment of patients with type II diabetes and NAFLD depending on the degree of liver damage, dysbiotic changes, the severity of ED and amino acid imbalance, as well as neurovegetative and cognitive disorders.

*The practical significance of the obtained results.* Was proved the informativeness of liver elastometry and fibrotests for early detection of liver damage in patients with type II diabetes has been established. The expediency of determining the level of  $\alpha$ 1-antitrypsin in blood serum and feces, as well as the calculation of the clearance of  $\alpha$ 1-antitrypsin to detect violations of the intestinal barrier in these patients. The informativeness of determining the dynamics of the level of P-selectin in the serum as a vasodilator and a marker of the formation of ED in patients with type II diabetes and NAFLD is argued. The expediency of determining changes in blood flow in cerebral vessels in combination with neuropsychometric testing and determination of serum free amino acid levels to detect cognitive impairment in patients with type II diabetes and NAFLD. The expediency of prescribing the drug combined probiotic for the correction of neurovegetative and cognitive disorders in patients with type II diabetes and NAFLD. The effectiveness of complex therapy in patients with type II diabetes and NAFLD using melatonin and combined probiotic for the correction of changes in lipid and carbohydrate metabolism, as well as amino acid imbalance and cognitive impairment.

*Key words:* type II diabetes mellitus, non-alcoholic fatty liver disease (non-alcoholic fatty hepatosis, non-alcoholic steatohepatitis), colon dysbiosis,  $\alpha$ 1-antitrypsin, amino acids, endothelial dysfunction, P-selectin, psychoemotional disorders, complex treatment, melatonin, combined probiotic.