УДК 616.36-003.826+616.34-008.87)] - 07-037: 577.112 Original research

TLR4 ЯК МАРКЕР ПРОГНОЗУВАННЯ НЕАЛКОГОЛЬНОЇ ЖИРОВОЇ ХВОРОБИ ПЕЧІНКИ У ПАЦІЄНТІВ З ДИСБІОЗОМ КИШКІВНИКА

Х.Б. Квіт

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра терапії №1, медичної діагностики, гематології та трансфузіології ФПДО, м. Львів, Україна

Ключові слова: *неалкогольна жирова хвороба печінки, мікробіом, синдром надмірного бактерійного росту у кишківнику, TLR4.*

Буковинський медичний вісник. 2024. Т. 28, № 3 (111). С. 55-61.

DOI: *10.24061/2413-0737.28.3.111.2024.10*

E-mail: *akskris88@gmail.com*

Резюме. Вступ. *Неалкогольна жирова хвороба печінки (НАЖХП) є одним із найпоширеніших захворювань печінки, яке характеризується накопиченням жирових компонентів у клітинах печінки та має тісний зв'язок із метаболічними порушеннями, включаючи ожиріння та інсулінорезистентність х. Значний інтерес дослідників зосереджений на ролі мікробіому кишківника в розвитку НАЖХП, оскільки порушення нормального балансу бактерій (дисбіоз) може посилювати запальні процеси у печінці. Toll-подібний рецептор 4 (TLR4), що реагує на компоненти бактеріальної стінки, є важливим маркером, який бере участь у розвитку запалення та прогресуванні НАЖХП.*

Мета *цього дослідження полягала у визначенні рівня TLR4 у пацієнтів з НАЖХП та вивченні його взаємозв'язку зі змінами мікробіому кишківника. У дослідженні взяли участь 152 пацієнтів із діагнозом НАЖХП і 86 пацієнтів контрольної групи, у яких не було виявлено жирової інфільтрації печінки. Використовувалися загальноклінічні, біохімічні, імуноферментні, інструментальні та бактеріологічні методи для оцінки стану пацієнтів.*

Результати *показали, що рівень TLR4 у пацієнтів із НАЖХП був достовірно вищим, ніж у контрольній групі (2,67±3,05 нг/мл проти 1,23±0,99 нг/мл). Був встановлений позитивний кореляційний взаємозв'язок між рівнем TLR4 і підвищенням біохімічних показників запалення, таких як АЛТ, АСТ, ЛФ та ТГ. Це підтверджує роль TLR4 у розвитку запальних процесів при НАЖХП.*

Крім того, у пацієнтів з НАЖХП спостерігалася значна зміна складу мікробіому кишківника — збільшення кількості бактерій філотипу Firmicutes та вищий рівень Firmicutes/Bacteroidetes index, що позитивно корелювало з рівнем TLR4. У половини пацієнтів із НАЖХП також було виявлено синдром надмірного бактерійного росту (СНБР), що може сприяти активації TLR4.

Висновок. *Дослідження підтверджує роль TLR4 як маркера можливого розвитку/наявності НАЖХП та його взаємозв'язок із дисбіозом кишківника, що відкриває перспективи для розробки нових підходів до прогнозування та лікування цього захворювання. Перспективним є вивчення можливостей корекції мікробіому та розробка інгібіторів TLR4 як терапевтичного методу.*

TLR4 AS THE MARKER OF NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE PROGNOSIS IN PATIENTS WITH INTESTINAL DYSBIOSIS

K.B. Kvit

Key words: *non-alcoholic fatty liver disease, microbiome, syndrome of bacterial overgrowth, TLR4*

Bukovinian Medical Herald.

2024. V. 28, № 3 (111). P. 55-61.

Resume. Introduction. *Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is one of the most common liver diseases characterized by the fat accumulation in liver cells and is closely associated with metabolic disorders including obesity and insulin resistance. Considerable interest of researchers is focused on the role of the intestinal microbiome in the NAFLD development and occurrence, since a violation of the normal bacteria balance (dysbiosis) can increase inflammatory processes in the liver. Toll-like receptor 4 (TLR4), which responds to components of the bacterial membrane, is an important marker involved in the development of inflammation and progression of NAFLD.*

The aim *of this study was to determine the level of TLR4 in patients with NAFLD and to find the relationship with gut microbiome components. The study included 152*

patients diagnosed with NAFLD and 86 control patients without fatty liver infiltration. General clinical, biochemical, enzyme immunoassay, instrumental and bacteriological methods were used to assess the condition of patients.

***The results** showed that the level of TLR4 in patients with NAFLD was significantly higher than in the control group (2.67±3.05 ng/ml vs. 1.23±0.99 ng/ml). A positive correlation was marked between the TLR4 level and biochemical indicators of inflammation, such as ALT, AST, TG and ALP. It confirms the role of TLR4 in the development of inflammatory processes in NAFLD.*

In addition, patients with NAFLD showed a significant change in the gut microbiome composition – an increase in the number of Firmicutes phylotype bacteria and a higher level of Firmicutes/Bacteroidetes index, which was in positive correlation with TLR4. Small intestinal bacterial overgrowth (SIBO), which may lead to TLR4 activation, was also marked in 50% of NAFLD patients.

***Conclusion.** The study confirms the role of TLR4 as a marker of the potential tole on NAFLD development and its relationship with intestinal dysbiosis, which could be perspective for the looking of new approaches in the prognosis and treatment of this disease. The microbiome correction and the development of TLR4 inhibitors is an essential way for future investigations as promising therapeutic method.*

Вступ. Неалкогольна жирова хвороба печінки (НАЖХП) є однією з найбільш поширених захворювань печінки у світі. Вона характеризується накопиченням жирових відкладень у печінці та має тісний зв'язок з метаболічними розладами, такими як ожиріння, діабет і інсулінорезистентність [1,2]. Розуміння механізмів розвитку НАЖХП стає все більш актуальним, з огляду на зростаючу поширеність цього захворювання та потенційну можливість його прогресування в більш важкі форми, включаючи цироз та гепатоцелюлярну карциному [3,4].

Один із ключових елементів патогенезу НАЖХП – це взаємодія між печінкою та кишковим мікробіомом. Дисбіоз кишківника, який являє собою порушення нормального балансу між "корисними" та "шкідливими" бактеріями, може посилювати запальні процеси в печінці, тим самим прискорюючи розвиток НАЖХП [5,6,7]. При цьому Toll-подібний рецептор 4 (TLR4) є важливим маркером, який бере участь у розпізнаванні бактерій та їхніх компонентів, зокрема ліпополісахаридів (ЛПС), і стимулює вроджену імунну відповідь [8,9].

В останні роки TLR4 привертає увагу як можливий предиктор тяжкості НАЖХП, оскільки його активація безпосередньо пов'язана з розвитком запалення, фіброзу і, зрештою, прогресуванням хвороби. Оцінка ролі TLR4 у контексті змін мікробіому та дисбіозу кишківника може допомогти у розробці нових методів діагностики та прогнозування перебігу НАЖХП, а також у створенні більш ефективних підходів до терапії цього захворювання [10,11].

Мета роботи – визначити рівень TLR4 у пацієнтів із неалкогольною жировою хворобою печінки як потенційного фактору ризику та його ймовірний взаємозв`язок зі складовими мікробіому кишківника.

Матеріали та методи. Під спостереженням перебували 152 пацієнтів із неалкогольною жировою хворобою печінки (НАЖХП), які звертались амбулаторно до терапевтичного відділення ТЗОВ «Агенція «Трускавецькурорт», лікувально-консультативного відділення №1 та №2 ПП «Медичний центр «Інтерсоно».

Розподіл хворих на НАЖХП за статтю та віком представлений в таблиці 1.

Згідно таблиці 1 дослідження включало 85 жінок з НАЖХП, що складало 55,9%, та 67 чоловіків (44,1%). Середній вік даної групи пацієнтів становив 48,63±0,55.

Також, до дослідження увійшло 86 пацієнтів контрольної групи, у яких не було виявлено жирової інфільтрації печінки. Середній вік даної групи пацієнтів становив 45,98±0,43. Жінок було 53, чоловіків 32. Обидві групи були релевантними одна одній за віком, статтю та супутніми захворюваннями.

Обстеження хворих проводили із застосуванням загальноклінічних (вивчення анамнезу, збір скарг, загальний огляд з вимірюванням антропометричних показників), біохімічних (глюкоза крові, АСТ, АЛТ, ГГТП, загальний білірубін, прямий та непрямий білірубін, альбумін, сечова кислота, сечовина, креатинін, С-реактивний білок, загальний холестерин, ЛПНЩ, ЛПДНЩ, ЛПВЩ, тригліцериди, гомоцистеїн, індекс HOMA, С-реактивний білок високочутливий (hsCRP), імуноферментні (TLR4), інструментальні (УЗД органів черевної порожнини, стеатометрія печінки, лаутозний дихальний тест), бактеріологічні (кількісна полімеразно-ланцюгова реакція в режимі реального часу мікробіому кишечника).

Таблиця 1

Розподіл обстежених хворих з СХПМД в залежності від статі та віку

Групи	Стать				Вік
	Жінки		Чоловіки		
	n	%	n	%	
Основна група (152)	85	55,9%	67	44,1%	48,63±0,55

Критеріями встановлення діагнозу НАЖХП були дифузне підвищення ехогенності паренхіми печінки та співвідношення між рівнем яскравості печінки та правої нирки, що розраховувалося для визначення гепато-ниркового індексу (IPC). Стадії стеатотичної хвороби печінки за критеріями узд були наступними: підвищення ехогенності паренхіми (S1); незначна гепатомегалія, підвищення ехогенності паренхіми, фрагментація та згладженість судинного малюнку (S2); гепатомегалія, підвищення ехогенності паренхіми, втрата судинного малюнку, затухання ехо сигналу до контуру діафрагми та втрата її чіткості (S3).

Також, було проведено стеатометрію печінки, де показник 0,65 дб/см/Мгц свідчив про стадію стеатозу печінки – S1, 0,71-0,76 дб/см/Мгц – S2, 0,77 дб/см/Мгц і більше – S3.

Також, критеріями встановлення діагнозу НАЖХП було виявлення додатково до ультразвукового обстеження або стеатометрії одного з факторів кардіометаболічних ризиків [16]:

обвід талії > 102 см для чоловіків та 88 см для жінок

артеріальний тиск > 130/85 мм рт. ст. або специфічне медикаментозне лікування від АГ;

рівень тригліцеридів у плазмі вище 1,70 ммоль/л) або специфічне медикаментозне лікування (гіполіпідемічна терапія);

рівень ліпопротеїдів високої щільності у плазмі крові <1,0 ммоль/л для чоловіків та <1,3 ммоль/л для жінок або специфічне медикаментозне лікування;

рівень глюкози натще від 5,6 до 6,9 ммоль/л або або HbA1c від 5,7 до 6,4 % (від 39 до 47 ммоль/моль);

індекс інсулінорезистентності (HOMA-IR) > 2,5;

рівень високочутливого С-реактивного білка в плазмі крові > 2 мг/ л [12]

Визначення мікробного складу на рівні мікробного типу проводили шляхом ідентифікації загальної бактеріальної ДНК, а ДНК Бактероїдів, Фірмікутів та Актінобактерій проводили за допомогою кількісної ПЛР у реальному часі (qRT-PCR), використовуючи ген-орієнтовані праймери. Кількісне визначення різних таксонів за допомогою ПЛР в реальному часі з використанням праймерів націлене на гени 16S рРНК, специфічні для Firmicutes, Actinobacteria та Bacteroidetes, а також використовувались універсальні праймери.

Рівень TLR4 у сироватці вимірювали за допомогою імуноферментного аналізу (ELISA). У цьому аналізі використовується кількісний сендвіч-ферментний імуноаналіз. Мінімальна виявлена доза людського TLR4 зазвичай становить менше 0,039 нг/мл. Чутливість цього аналізу, або нижня межа виявлення (LLD), була визначена як найнижча концентрація білка, яку можна відрізнити від нуля.

Дихальний тест на визначення надмірного бактерійного росту у кишківнику проводився на апараті Gastrolyzer® (виробник Bedfont Scientific Ltd.).

Методи статистичної обробки результатів. Отримані в процесі дослідження медико-біологічні дані оброблялися за допомогою пакета програми для статистичного аналізу Statistica 11.0 for Windows. У відповідності з поставленими завданнями нами використаний факторний і кореляційний аналіз. Результати представлені у вигляді M±т, де M - середнє значення досліджуваного параметра, m - стандартна помилка середнього. Оцінка достовірності різних середніх величин для незалежних змінних здійснюється за t-критерієм Стюдента. Різниці вважалися достовірними при p<0,05. У випадку, коли досліджувані змінні не підлягали законам нормального розподілу, застосовували непараметричні методи статистичного аналізу.

Результати дослідження та їх обговорення. Поширеність різних форм НАЖХП серед пацієнтів основної групи (n=152) наведено у таблиці 2

Серед пацієнтів із НАЖХП частота стеатозу вдвічі була вищою, ніжи стеатогепатиту.

Оскільки, пацієнтів зі стеатозом було суттєво більше, було визначено стадії стеатозу печінки серед обстежених хворих основої групи. (Таб. 3).

Таблиця 2

Поширеність різних форм НАЖХП серед пацієнтів основної групи

Основна група	Стеатоз	Стеатогепатит
Кількість	104	48

Таблиця 3

Дані стеатометрії печінки у пацієнтів з НАЖХП

Критерії	Основна група, n=110			
IQR (норма до 30%)	4,4			
дБ\см\Мгц	0.65			
Стадія стеатозу	S0 3	S1 37	S2 43	S3 27

При проведенні стеатометрії печінки у 2,7% пацієнтів із НАЖХП за даними ультразвукової діагностики не виявлено стадії стеатозу печінки, у 33,6% - діагностовано стадію S1, у 39,1% пацієнтів – стеатотична хвороба печінки діагностована на стадії S2, у 24,5% пацієнтів – S3.

На підставі отриманих даних, було важливим дослідити біохімічні показники та антропометричні у група пацієнтів з НАЖХП та контрольній (Таб.4).

Рівень АЛТ, АСТ, ГГТП достовірно відрізнявся у пацієнтів групи стеатозу та стеатогепатиту. А також, показник АЛТ був вищим у пацієнтів із стеатогепатитом у порівнянні з пацієнтами без жирової інфільтрації печінки. Показник сечової кислоти у пацєнтів зі стеатогепатитом був достовірно вищим у порівнянні із пацієнтами групи стеатозу та зі здоровою печінковою паренхімою. Також, у групі зі стеатогепатитом був вищим показник С-реактивного білка високочутливого.

Одними з найважливіших показників, що використовуються для прогнозування та контролю лікування пацієнтів із НАЖХП, є дані ліпідограми.

За даними таблиці 5, середній рівень загального холестерину становив 6.2 ммоль/л у пацієнтів основної групи, та був достовірно вищим, ніж у пацієнтів без жирової інфільтрації у печінці. Показники

тригліцеридів відрізнялись у пацієнтів з дисліпідеміями та групи контролю і становили 2.±0.36 та 1.12±0.09 відповідно. Також, відзначено достовірність різниці між маркерами ЛПНЩ, які були вищими у пацієнтів основної групи, та показником ЛПВЩ, що був достовірно нижчим у пацієнтів із НАЖХП (p<0,05).

Нещодавні дослідження продемонстрували, що так званий Toll Like Receptor-4 (TLR-4) має певний взаємозв`язок із запальними змінами в печінці на тлі НАЖХП та подальшого порушення ліпідного обміну, що сприяє розвитку стеатотичних змін, та, можливо, пов`язаний із активацією ліпополісахаридами, які виробляються грам-негативною мікрофлорою кишківника при дисбіозі.

Тому, було цікавим дослідити його рівень серед пацієнтів основної групи та контрольної, де стеатотичні зміни у печінці були відсутніми (Таб.6).

Показник Toll-like-receptor-4 був достовірно вищим у групі пацієнтів із НАЖХП (2.67±3.05 нг/мл) у порівнянні із групою контролю (1.23±0.99 нг/мл) (p<0,05).

Цікавим дослідити корелятивні взаємозв`язки між TLR4 та біохімічними маркерами, а також безпосередніми показниками ліпідного обміну у пацієнтів з дисліпопротеїнеміями (Рис.1).

Згідно отриманих даних, було встановлено позитивний кореляційний взаємозв`язок середньої сили між показником TLR4 та рівнем АСТ (r=0,57, p<0,05), АЛТ (r=0,72, p<0,05), тригліцнридами (r=0,82, p<0,05), ЛФ (r=0,71, p<0,05) та сильний негативний кореляційний взаємозв`язок між TLR4 та загальним білком (r=-0.76).

Таблиця 4

Біохімічні показники у пацієнтів з НАЖХП та групі контролю (n=342)

Показник	Стеатоз, (n=104)	Стеатогепатит, (n=48)	Контрольна група, (n=86)
ІМТ	28.61±0.73	26.37±0.7	24.5±0.7
Глюкоза крові, ммоль/л	5,6±0,28	5,9±0,10	5,05±0,10
АЛТ	34,99±5,32*,**	42,65±6,09***	23,65±6,09
АСТ	27,02±3,01*	44,9±2,23***	23,9±2,23
ГГТП	41,82±5,65*	54,45±3,58***	31,45±3,58
Загальний білірубін	19,7±1,31	18,16±1,78	18,7±1,78
Прямий білірубін	4,31±0,30	4,98±0,40	3,74±0,40
Непрямий білірубін	10,00±1,09	11,41±1,74	10,1±1,74
СРБ-високочутливий	4,01±0,80*	6,28±0,29	2,28±0,29
Сечова кислота	369.57±16.46*	442.40±15.04***	322.40±15,7
Сечовина	4.47±0.37	5.04±0.14	4.04±0,14
Лужна фосфатаза	74.59±3.75	78.40±4.28	69.40±4,28
Альбумін	45.24±0.88	43.33±1.20	36.33±1,20
Загальний білок	61.56±0.84	82.52±1.08	72.52±1,78
Індекс HOMA	3,2±0.45	3,6±1,23	2,5±1,34

Примітка:

1. Достовірність різниці до групи пацієнтів групи «Стеатоз» порівняно з показниками групи «Стеатогепатит» (* – p<0,05)
2. Достовірність різниці до групи пацієнтів групи «Стеатоз» порівняно з показниками групи «Контрольна група» (** – p<0,05)
3. Достовірність різниці до групи пацієнтів групи «Стеатогепатит», порівняно з показниками групи «Контрольна група» (*** – p<0,05)

Таблиця 5

Показники ліпідного спектру крові у пацієнтів із НАЖХП у порівнянні із пацієнтами контрольної групи

Показники	Основна група (n=152)	Контрольна група (n=86)	p, достовірність різниці
ЗХ, ммоль/л	6.2±0.21	5.2±0.28	*0.043
ТГ, ммоль/л	2.5±0.36	1.12±0.09	*0.000689
ЛПВЩ, ммоль/л	1.3±0.06	1.52±0.07	*0.01144
ЛПНЩ, ммоль/л	3.98±0.17	3.2±0.23	*0.047
ЛПДНЩ, ммоль/л	1.09±0.16	0.77±0.07	0.16

* - p<0,05, різниця достовірна; n – кількість хворих у групі

Таблиця 6

Рівень Toll-like-receptor-4 у пацієнтів із НАЖХП (n=76) у порівнянні з групою контролю (n=43)

Показник, норма	Основна група	Контрольна група
TLR4 (1,25-2,5 нг/мл)	2.67±3.05*	1.23±0.99

* - p<0,05, різниця вірогідна; n – кількість хворих у групі

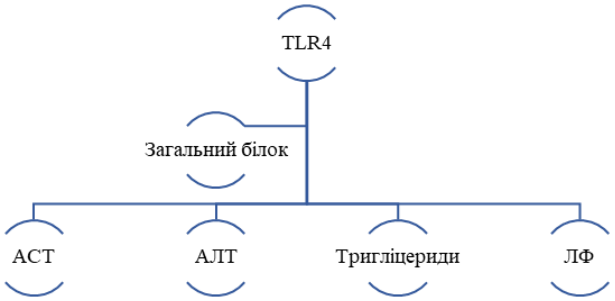

Рис 1. Кореляційні взаємозв'язки між біохімічними, антропометричними показниками та маркерами ліпідного обміну і TLR4.

Враховуючи, що активація TLR4 здебільшого здійснюється завдяки складовим грам негативної мікрофлори кишківника (ліпополісахаридам), що найчастіше спостерігається при такій формі дисбіозу кишківника, як СНБР, було важливо визначити поширеність синдрому надмірного бактерійного росту у пацієнтів обох груп.

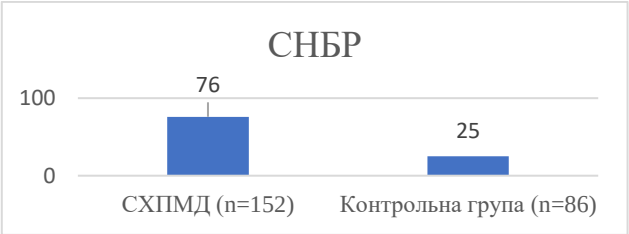

Рис. 2. Поширеність синдрому надмірного бактерійного росту у кишківнику у пацієнтів із НАЖХП та без патологічних змін у печінці

На рисунку 2 продемонстровано, що у 50% пацієнтів із НАЖХП було діагностовано СНБР. Водночас, лише у 29% пацієнтів без НАЖХП було визначено діагноз СНБР.

На підставі отриманих даних, було досліджено склад мікробіому кишківника серед пацієнтів обох груп – основної та контрольної, з метою визначити потенційні філотипи бактерій, які є більш типовими для мікробного складу за наявності НАЖХП (Таб. 7).

Таблиця 7

Стан мікробіому кишківника у пацієнтів із НАЖХП та групою контролю

Показник	НАЖХП (152)	Контрольна група (47)	p
Bacteroides	31.29±1.11	45.65±1.48	≥0,05
Firmicutes	50.3±2.46	25.17±1.51	≤0,05
Actinobacteria	15.34±2.87	10.9±1.867	≤0,05
Other	12.88±0.84	9.68±0.25	≥0,05
Firmicutes/Bacteroides індекс	2,02±2,61	0,55±1,74	≤0,05

Таблиця 8

Мікробіоценоз кишківника у пацієнтівз різними формами НАЖХП та контрольною групою

Показник	Стеатоз (n=65)	Стеатогепатит (n=46)	Контрольна група (n=47)
Bacteroides	28,61±0.73	32,37±0,7***	45,65±1.48
Firmicutes	47,6±0,28	51,9±0,10***	25,17±1,51
Actinobacteria	12,99±5,62*	16,98±4,12***	10,9±1,867
Firmicutes/Bacteroides індекс	1,94±1,61**	2,12±0,83	0,55±0,25***

Примітка:

1. Достовірність різниці до групи пацієнтів групи «Стеатоз» порівняно з показниками групи «Стеатогепатит» (* – p<0,05)
2. Достовірність різниці до групи пацієнтів групи «Стеатоз» порівняно з показниками групи «Стеатотичні зміни у печінці відсутні» (** – p<0,05)
3. Достовірність різниці до групи пацієнтів групи «Стеатогепатит», порівняно з показниками групи «Стеатотичні зміни у печінці відсутні» (*** – p<0,05)

Результати продемонстровані у таблиці 8 демонструють достовірне переважання частки Firmicutes серед пацієнтів із НАЖХП (50.3±2.46%) у порівнянні з групою контролю - 25.17±1.51%. Також, достовірно відрізнялось відсоткове співвідношення Actinobacteria 15.34±2.87 – у основній групі, 10.9±1.867 – у групі без жирової інфільтрації печінки. Різниця достовірності була також між показником Firmicutes/Bacteroides індекс. У групі НАЖХП показник становив 5,02±2,61, натомість у групі контролю - 2,1±1,74.

Отже, склад мікробіому у пацієнтів з НАЖХП та без змін жирової інфільтрації у печінці достовірно відрізнявся.

На підставі отриманих даних, було досліджено склад мікробіому кишківника у групі пацієнтів з НАЖХП з урахуванням різних типів даного захворювання – стеатозу та стеатогепатиту, а також, у порівнянні з групою контролю.

У таблиці 7 чітко відзначена достовірність різниці між показником Bacteroides у групі пацієнтів зі стеатогепатитом (32,37±0.7%) та групою без стеатотичних змін у печінці. Рівень Firmicutes був найвищим серед групи стеатогепатиту у порівнянні зі двома іншими групами. Показник Actinobacteria був

вищим серед пацієнтів зі стеатогепатитом також (16,98±4,12). Рівень F/B index достовірно відрізнявся у групі пацієнтів без стеатотичних змін у печінці у порівнянні з групами пацієнтів зі стеатозом та стеатогепатитом.

У групі пацієнтів зі стеатозом та стеатогепатитом рівень Actinobacteria перевищував верхню межу норми (12,99±5,62 та 16,98±4,12 відповідно).

Враховуючи достовірно вищий показник TLR4 у групі пацієнтів із НАЖХП, було досліджено ймовірну кореляцію між даним маркером, біохімічними показниками та складовими мікробіому кишківника серед пацієнтів із НАЖХП (Рис.3).

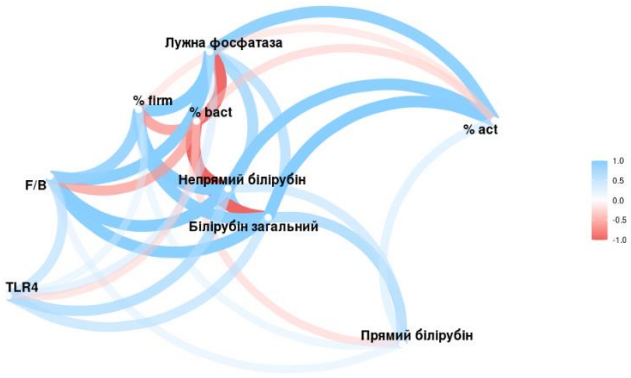

Рис. 3. Кореляційні взаємозв`язки між TLR4, складом мікробіому кишківника та біохімічними показниками у пацієнтів з НАЖХП

Позитивна кореляція середньої сили була встановлена між TLR4 та Firmicutes (r=0,67, p<0,05), Firmicutes/Bacteroidetes index (r=0,71, p<0,05).

Як продемонструвало наше дослідження, маркер TLR4 позитивно корелював із показниками біохімічного складу крові, які грають безпосередню роль у розвитку та прогресуванні НАЖХП (АСТ (r=0,57, p<0,05), АЛТ (r=0,72, p<0,05), тригліцеридами (r=0,82, p<0,05), ЛФ (r=0,71, p<0,05), а також, була відзначена позитивна кореляція між даним показником та філотипами бактерій Firmicutes (r=0,67, p<0,05), Firmicutes/Bacteroidetes index (r=0,71, p<0,05) (Рис.4).

Рис. 4. Кореляційні взаємозв`язки між рівнем TLR4 та філотипами мікробіому у пацієнтів з НАЖХП.

Рівень саме цих бактерій був достовірно вищим серед пацієнтів із НАЖХП у порівнянні із контрольною групою (Firmicutes 50.3±2.46 у порівнянні з 25.17±1.51, F/B index 2,02±2,61 у пацієнтів з НАЖХП, в той час коли у групі контролю 5,1±1,74). Важливо зазначити, що рівень бактерій філотипу Firmicutes був найвищим серед групи пацієнтів зі стеатогепатитом (а також, суттєво вищим саме у пацієнтів зі стеатогепатитом 51,9±0,10, що вдвічі перевищувало рівень у контрольній групі 25.17±1.51).

Водночас, поширеність СНБР у пацієнтів основної групи була вдвічі вища за поширеність у групі пацієнтів, у яких не було жирової інфільтрації печінки (50% проти 29%).

Таким чином, маркер TLR4 у поєднанні з показниками мікробіому, може використовуватись як потенційно важливий у прогнозуванні розвитку НАЖХП, особливо, при потенційному ризику прогресування від стадії стеатозу до стеатогепатиту.

Висновки.

1. Показник TLR4 достовірно вищий у групі пацієнтів із НАЖХП (2.67±3.05 нг/мл) у порівнянні із групою без жирової інфільтрації печінки (1.23±0.99 нг/мл) (p<0,05).
2. Підвищення рівня TLR4 призводить до підвищення таких показників як АСТ (r=0,57, p<0,05), АЛТ (r=0,72, p<0,05), тригліцериди (r=0,82, p<0,05), ЛФ (r=0,71, p<0,05) та зниження рівня загального білку загальним білком (r=-0.76) у пацієнтів з НАЖХП.
3. Поширеність СНБР у пацієнтів із НАЖХП становить 50%, в той час як поширеність серед пацієнтів групи контролю 29%.
4. У складі мікробіому пацієнтів із НАЖХП переважає філотип Firmicutes та достовірно відрізняється F/B index.
5. Зростання TLR4 позитивно корелює з рівнем Firmicutes та F/B index у пацієнтів із НАЖХП. TLR4 можна розглядати як компонент мультифакторних моделей прогнозування розвитку НАЖХП, які враховують також інші біомаркери запалення (АСТ, АЛТ, ЛФ) та метаболічного стану печінки (ТГ).

Перспективи подальших досліджень.

Подальші дослідження у сфері пошуку профілактики та лікування неалкогольної жирової хвороби печінки (НАЖХП) можуть зосередитися на кількох ключових аспектах, щоб поглибити розуміння механізмів розвитку цього захворювання, зокрема у контексті ролі TLR4 та мікробіому кишківника.

Зокрема, необхідно визначити точні механізми, через які ліпополісахариди (ЛПС) активують TLR4 і стимулюють розвиток запалення у печінці. Це включає детальне вивчення сигнальних шляхів, пов'язаних з активацією TLR4, та пошук можливих інгібіторів, які можуть знижувати його активацію та тим самим пригнічувати запальні процеси.

Зважаючи на встановлений взаємозв'язок між TLR4 і дисбіозом кишківника у пацієнтів із НАЖХП, важливим є дослідження можливостей модифікації складу мікробіому з метою зниження активації TLR4 та корекції співвідношення між філотипами Firmicutes та Bacteroidetes. Особлива увага має бути приділена дослідженню впливу зміни складу мікробіому на рівень запалення в печінці.

Дослідження взаємозв'язків між TLR4 та рівнями інших запальних і метаболічних маркерів може призвести до розробки нових діагностичних підходів,

спрямованих на більш раннє виявлення ризику прогресування НАЖХП.

Ці перспективні напрями можуть суттєво сприяти не лише розумінню патогенезу НАЖХП, але й розробці більш ефективних індивідуалізованих методів профілактики, діагностики та терапії, що є особливо важливим у боротьбі з поширеністю та тяжкістю цього захворювання.

References

1. Guo X, Yin X, Liu Z, Wang J. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) Pathogenesis and Natural Products for Prevention and Treatment. Int J Mol Sci. 2022 Dec 7;23(24):15489. doi: 10.3390/ijms232415489.

2. Zeigerer A. NAFLD - A rising metabolic disease. Mol Metab. 2021 Aug;50:101274. doi: 10.1016/j.molmet.2021.101274.

3. Maurice J, Manousou P. Non-alcoholic fatty liver disease. Clin Med (Lond). 2018 Jun;18(3):245-50. doi: 10.7861/clinmedicine.18-3-245.

4. Saiman Y, Duarte-Rojo A, Rinella ME. Fatty Liver Disease: Diagnosis and Stratification. Annu Rev Med. 2022 Jan 27;73:529-44. doi: 10.1146/annurev-med-042220-020407.

5. Lau LHS, Wong SH. Microbiota, Obesity and NAFLD. Adv Exp Med Biol. 2018;1061:111-25. doi: 10.1007/978-981-10-8684-7_9.

6. Kvit KB, Kharchenko NV. Gut microbiota changes as a risk factor for obesity. Wiad Lek. 2017;70(2):231-35.

7. Chen J, Vitetta L. Gut Microbiota Metabolites in NAFLD Pathogenesis and Therapeutic Implications. Int J Mol Sci. 2020 Jul 23;21(15):5214. doi: 10.3390/ijms21155214.

8. Bessone F, Razori MV, Roma MG. Molecular pathways of nonalcoholic fatty liver disease development and progression. Cell Mol Life Sci. 2019 Jan;76(1):99-128. doi: 10.1007/s00018-018-2947-0.

9. Mohammad S, Thiemermann C. Role of Metabolic Endotoxemia in Systemic Inflammation and Potential Interventions. Front Immunol. 2021 Jan 11;11:594150. doi: 10.3389/fimmu.2020.594150.

10. Kapil S, Duseja A, Sharma BK, Singla B, Chakraborti A, Das A, et al. Small intestinal bacterial overgrowth and toll-like receptor signaling in patients with non-alcoholic fatty liver disease. J Gastroenterol Hepatol. 2016 Jan;31(1):213-21. doi: 10.1111/jgh.13058.

11. Kvit KB, Kharchenko NV, Kharchenko VV, Chornenka OI, Chornovus RI, Dorofeeva US, et al. The role of small intestinal bacterial overgrowth in the pathogenesis of hyperlipidemia. Wiad Lek. 2019;72(4):645-49.

12. Solomentseva TA. Novi kryterii metabolichno-asotsiiovanoi zhyrovoi khvoroby pechinky: perevaha chy pytannia? Ohliad [New criteria for metabolically associated fatty liver disease: an advantage or a question? Review]. Suchasna hastroenterolohiia. 2023;4:84-90. (in Ukrainian).

Відомості про авторів

Квіт Христина Богданівна, кандидат медичних наук, доцент кафедри терапії №1, медичної діагностики, гематології та трансфузіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. https://orcid.org/my-orcid?orcid=0000-0003-1394-9429

Information about the author

Khrystyna Kvit, Ph.D, Department of Therapy №1, Medical Diagnostics, Haematology and Transfusion, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine. https://orcid.org/my-orcid?orcid=0000-0003-1394-9429.

Надійшла до редакції 15.08.24

Рецензент – проф. Присяжнюк В.П.

© Х.Б. Квіт, 2024