

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНА УСТАНОВА «ІНСТИТУТ ЕНДОКРИНОЛОГІЇ ТА ОБМІНУ
РЕЧОВИН ІМ. В.П. КОМІСАРЕНКА НАМН УКРАЇНИ»

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ШИШКАНЬ-ШИШОВА КАТЕРИНА ОЛЕКСАНДРІВНА

УДК-616.379-008.64:616.34-008.1:615.252.349.27:616-07

**«КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ЗАСТОСУВАННЯ
АГОНІСТІВ РЕЦЕПТОРІВ ГЛЮКАГОНОПОДІБНОГО ПЕПТИДУ-1
ЗАЛЕЖНО ВІД МЕТАБОЛІЧНОЇ АКТИВНОСТІ МІКРОБІОМУ
КИШКІВНИКА ТА МОРФО-ФЕНОТИПОВИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ
ПАЦІЄНТІВ З ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2 ТИПУ»**

222 – Медицина
22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело
Здобувач: Шишкань-Шишова К.О.

Науковий керівник: доктор медичних наук, Зінич Олеся Вадимівна

АНОТАЦІЯ

Шишкань-Шишова К.О. **Клініко-лабораторне обґрунтування застосування агоністів рецепторів глюкагоноподібного пептиду - 1 залежно від метаболічної активності мікробіому кишківника та морфо-фенотипових особливостей пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу** – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису. Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук (доктора філософії) за спеціальністю 14.01.14 «Ендокринологія». - ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка Національної академії медичних наук України», Київ, 2024.

Мета дисертаційної роботи полягала в дослідженні особливостей впливу агоністів рецепторів глюкагоноподібного пептиду-1 на метаболічну активність мікробіому кишківника залежно від морфо-фенотипових характеристик пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу.

Актуальність даного дослідження визначається тим, що дисметаболічні стани, до яких належать ожиріння та цукровий діабет 2 типу (ЦД 2), в сучасному світі є значною медичною та соціальною проблемою, зокрема через розвиток пов'язаних з ними хронічних ускладнень, які знижують якість життя, збільшують ризик госпіталізації та смертності серед населення [1,2]. Відомо, що ЦД 2 типу супроводжується ентероендокринною дисфункцією, що проявляється зниженням секреції глюкагоноподібного пептиду-1 (ГПП-1) – ентерогормону групи інкретинів, а також змінами складу та функції кишкової мікробіоти, зокрема зниженням продукції бактеріями коротколанцюгових жирних кислот (КЛЖК) та посиленням утворення триметиламіну (ТМА) – попередника ТМАО (триметиламін-N-оксиду) – ендотеліотоксичного метаболіту. Взаємодія мікробіальних метаболітів з кишковими епітеліальними

клітинами, кишковими резидентними або циркулюючими імунними клітинами регулює стан периферичних тканин і органів, зокрема через епігенетичну модифікацію експресії генів ключових ферментів та біологічно активних поліпептидів сприяючи формуванню фенотипу організму [3].

На сьогодні актуальним напрямком досліджень є вивчення механізмів взаємозв'язків між інкретиноювою системою та впливом мікробіальних метаболітів на морфо-метаболічний статус організму, а також оцінка терапевтичних ефектів сучасних протидіабетичних препаратів, зокрема інкретиноміметиків.

Основна гіпотеза даного дослідження базується на сучасних даних про роль низькомолекулярних мікробіальних метаболітів в патогенезі ЦД 2 типу та кардіометаболічних ускладнень, що здійснюється через вплив на такі патофізіологічні процеси, як дисфункція β -клітин, хронічне запалення низького ступеня, окислювальний стрес, дисметаболізм ліпідів і глюкози, за участі рецепторних механізмів та модуляції експресії генів метаболічно важливих процесів. Тому ключовим аспектом комплексного лікування морфо-метаболічних порушень при ЦД 2 типу може бути вплив на метаболічну активність кишкової мікробіоти за допомогою нормалізації її складу шляхом застосування протидіабетичних препаратів нової генерації – інкретиноміметиків, які доведено проявляють кардіопротекторні та антиобезогенні ефекти.

Проаналізовані результати обстеження 153 пацієнтів з ЦД 2 типу віком від 31 до 75 років, середній рівень HbA_{1c} становив $7,83 \pm 1,55$ % на тлі попереднього лікування. Обстеження пацієнтів проводили на початку дослідження та через 6 місяців прийому арГПП-1 (ліраглутид). Вимірювали антропометричні параметри, індекс маси тіла (ІМТ), композицію тіла (методом біоелектричного імпедансу визначали: % загального жиру та води, рівень вісцерального жиру (ВЖ), м'язову та кісткову масу), характеристики вуглеводного обміну, ліпідного спектру сироватки крові, рівні ГПП-1 та

мікробіальних метаболітів (КЛЖК і ТМАО), концентрацію в сироватці крові маркера оксидативного стресу 8-ізопростагландину F2 α (8-ізо-PGF2 α).

Когорту з 88 пацієнтів, після ранжування за значенням ІМТ, було розподілено на 4 групи, між якими провели порівняння рівнів 8-ізо-PGF2 α та КЛЖК. Встановлено, що одночасно зі збільшенням ІМТ, відсоткового вмісту жиру, рівня вісцерального жиру, спостерігалось підвищення концентрації 8-ізо-PGF2 α ($p < 0,05$). Виявлено зворотні кореляційні зв'язки між значеннями ІМТ та рівнями КЛЖК в копрофільтраті (для оцтової, пропіонової та масляної кислот $r = -0,28; -0,34; -0,31$, відповідно; $p < 0,05$), тобто виявлено зв'язок між ознаками фенотипу ожиріння, ступенем оксидативного стресу організму хворих на ЦД 2 типу та функціональною активністю кишкових бактерій, а саме синтезом КЛЖК. Збільшення ступеня ожиріння супроводжувалось найвищими рівнями глікемії, інсулінемії та НОМА-IR, більш важкими формами ЦД та ССЗ.

Як відомо, мікробіальні метаболіти, серед інших чинників, суттєво впливають на метаболічний статус, який у зі свого боку тісно пов'язаний з функцією нервової системи. У когорті з 101 хворого на ЦД 2 типу вивчали взаємозв'язки між фенотиповими морфологічними ознаками, функцією кишкової мікробіоти, оцінюваної за рівнем КЛЖК, та показниками тестів для оцінки психоемоційного стану за допомогою анкетування (Госпітальна шкала тривоги та депресії, Шкала дистресу при діабеті, Оцінка гормонального дисбалансу кортизолу, Опитувальник впорання зі стресом). Відзначено достовірну пряму кореляцію балів за оцінкою гормонального дисбалансу кортизолу з рівнями загального і вісцерального жиру $r = 0,36$ та $0,40$ відповідно ($p < 0,05$), які своєю чергою проявляли достовірну кореляцію з оцінками за шкалою тривоги та депресії (загальний бал $r = 0,49$, тривога $r = 0,47$, депресія $r = 0,41$) та дистресу при діабеті (сумарний бал $r = 0,42$, емоційне навантаження $r = 0,41$). Ці дані вказують на доцільність застосування даних тестів для оцінки ступеню психологічного дистресу у пацієнтів з різними фенотипами.

Встановлено, що в загальній групі хворих ($n = 88$) після лікування ліраглутидом в максимальній дозі спостерігалось покращення глікемічного

контролю та ліпідемії, поліпшення композиції тіла (зниження % загального та вісцерального жиру, підвищення СВІ, гідратації організму). Ці зміни супроводжувались достовірним підвищенням концентрації в копрофільтраті КЛЖК, зокрема до та після лікування середній рівень оцтової кислоти становив $1212,77 \pm 77,81$ мкг/мл та $1515,54 \pm 89,10$ мкг/мл, пропіонової - $535,28 \pm 40,06$ мкг/мл та $737,90 \pm 58,21$ мкг/мл, масляної - $382,32 \pm 30,37$ мкг/мл та $547,85 \pm 54,52$ мкг/мл відповідно, що може свідчити про покращення функції/складу кишкової мікробіоти, а саме бактерій-продуцентів КЛЖК. На тлі застосування ліраглутиду ($n=44$) виявлено приріст рівня ендogenous ГПП-1 в крові (середній рівень до та після лікування $1,15 \pm 0,15$ пмоль/л та $3,00 \pm 0,50$ пмоль/л відповідно, $p < 0,05$), що також може бути пов'язане зі зміною складу кишкової мікробіоти. Виявлено зниження рівня проатерогенного та протромботичного метаболіта ТМАО ($n=44$) в сироватці крові (середній рівень до та після лікування $7,51 \pm 0,23$ нг/мл та $6,38 \pm 0,24$ нг/мл відповідно, $p < 0,05$).

Після розподілення пацієнтів на 3 групи (ІМТ-1 $< 29,9$ кг/м², ІМТ-2 від 30,0 до 39,9 кг/м², ІМТ-3 ≥ 40 м²) виявлено, що у всіх групах спостерігались зниження ІМТ, вмісту загального і вісцерального жиру та позитивні зміни показників ліпідного обміну. У всіх підгрупах відзначено достовірне зниження концентрації ТМАО відносно вихідного рівня (ІМТ-1 – $6,94 \pm 0,56$ нг/мл та $5,43 \pm 0,57$ нг/мл, ІМТ-2 – $7,31 \pm 0,45$ та $6,20 \pm 0,61$ нг/мл, ІМТ-3 – $8,28 \pm 0,40$ нг/мл та $7,14 \pm 0,29$ нг/мл до та після лікування відповідно). Виявлено підвищення рівня оцтової ($1099,28 \pm 109,20$ мкг/мл та $1542,41 \pm 117,62$ мкг/мл, $p < 0,05$) та пропіонової ($498,20 \pm 64,15$ мкг/мл та $723,26 \pm 87,54$ мкг/мл, $p < 0,05$) кислот в групі ІМТ-1 та пропіонової ($507,31 \pm 73,09$ мкг/мл та $901,09 \pm 158,08$ мкг/мл, $p < 0,05$) і масляної ($354,08 \pm 56,81$ мкг/мл та $602,85 \pm 115,31$ мкг/мл) кислот – в групі ІМТ-2. В групі обстежених з морбідним ожиріннями не виявлено достовірних відмінностей рівнів КЛЖК у порівнянні з початковим значенням.

Завданням наступного фрагменту роботи було дослідження ефективності застосування у хворих на ЦД 2 типу препаратів арГПП-1 як засобів протидії розвитку нейропсихологічних порушень з урахуванням функціональної

активності мікробіоти. Психометричні характеристики (ступінь тривожності та депресії, оцінка дистресу, подолання стресу) у групах чоловіків і жінок з ЦД 2 типу аналізували за допомогою анкетування. Результати, отримані при обстеженні до і після лікування ліраглутидом, продемонстрували, що у пацієнтів обох статей покращились характеристики психоемоційного стану: знизилась загальні показники за госпітальною шкалою тривоги і депресії, сумарний рівень дистресу при діабеті, а також бали за шкалою оцінки гормонального дисбалансу кортизолу ($p < 0,05$).

Виявлені зміни здебільшого спостерігались у групі жінок, на відміну від чоловіків, що свідчить про особливо сприятливий ефект застосованої терапії на нейропсихологічний статус пацієнток, можливо, у зв'язку зі зменшенням впливу стресових гормонів. Відзначено прямий кореляційний зв'язок між рівнями КЛЖК та даними психометрії (r від 0,14 до 0,21).

Отже, отримані результати обґрунтовують доцільність застосування терапії арГПП-1 та доводять їх ефективність щодо впливу на метаболічну активність кишкової мікробіоти, зокрема зниження концентрації в сироватці крові пацієнтів проатерогенного та протромботичного метаболіту ТМАО, що сприятиме зменшенню кардіо-метаболічного ризику, а також терапія арГПП-1 сприяла підвищенню вмісту в копрофільтраті коротколанцюгових жирних кислот: ацетату, пропіонату, бутирату, що чинитиме позитивний вплив на секрецію ендогенних інкретинів.

Ключові слова: цукровий діабет 2 типу, ожиріння, метаболічний синдром, антропометричні та композиційні показники, вуглеводний та ліпідний обмін, глюкагоноподібний пептид-1, метаболіти кишкової мікробіоти, триметиламін-N-оксид, коротколанцюгові жирні кислоти, оксидативний стрес, 8-ізопростагландин F2 α , психоемоційні порушення, агоністи рецепторів ГПП-1, розмір клінічного ефекту.

SUMMARY

Shyshkan-Shyshova K.O. Clinical and laboratory validation of the use of glucagon-like peptide-1 receptor agonists depending on the metabolic activity of the intestinal microbiome and morpho-phenotypic features of type 2 diabetic patients - Qualification research paper with manuscript rights. Dissertation for getting the scientific degree of Philosophy Doctor according to the 14.01.14 – endocrinology. State institution «VP Komissarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Science», Kyiv, 2024.

The aim of the dissertation was to investigate the specifics of the effect of glucagon-like peptide-1 receptor agonists on the metabolic activity of the intestinal microbiome depending on the morpho-phenotypic characteristics of patients with type 2 diabetes mellitus.

The relevance of this problem is determined by the fact that dysmetabolic conditions, which include obesity and type 2 diabetes, in the modern world represent a significant medical and social problem, in particular due to the development of associated chronic complications that reduce the quality of life, increase the risk of hospitalization and mortality among the population [1,2]. It is known that metabolic (insulin-resistant) syndrome (MS) and type 2 diabetes are accompanied by enteroendocrine dysfunction, which is manifested by a decrease in the secretion of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) - an enterohormone of the incretin group, as well as changes in the composition and function of the intestinal microbiota, in particular, a decrease in the production of bacteria short-chain fatty acids (SCFAs) and increased formation of trimethylamine (TMA) - the precursor of TMAO (trimethylamine-N-oxide) - an endotheliotoxic metabolite. The interaction of microbial metabolites with intestinal epithelial cells, intestinal resident or circulating immune cells regulates the condition of distant tissues and organs, in particular through epigenetic modification

of gene expression of key enzymes and biologically active polypeptides, contributing to the formation of the organism's phenotype [3].

Today, a relevant area of research is the study of the mechanisms of interrelationships between the incretin system and the influence of microbial metabolites on the morpho-metabolic status of the body, as well as the assessment of the therapeutic effects of modern antidiabetic drugs, in particular incretinomimetics.

The main hypothesis of this study is based on modern data on the role of low-molecular-weight microbial metabolites in the pathogenesis of type 2 diabetes and cardiometabolic complications, which is carried out through the influence on such pathophysiological processes as β -cell dysfunction, low-grade chronic inflammation, oxidative stress, lipid and glucose dysmetabolism, with the participation of receptor mechanisms and modulation of gene expression of metabolically important processes. Therefore, a key aspect of the complex treatment of morpho-metabolic disorders in type 2 diabetes can be the influence on the metabolic activity of the intestinal microbiota by normalizing its composition through the use of new-generation antidiabetic drugs - incretinomimetics, which have been proven to have cardioprotective and antiobesogenic effects.

The results of the examination of 153 patients with type 2 diabetes aged from 31 to 75 years were analyzed, the average level of HbA1c was $7.83 \pm 1.55\%$ against the background of previous treatment. Patients were examined at the beginning of the study and after 6 months of taking arGLP-1 (liraglutide). Anthropometric parameters, body mass index (BMI), body composition were measured (the bioelectrical impedance method determined: % of total fat and water, visceral fat level (VF), muscle and bone mass), characteristics of carbohydrate metabolism, lipid spectrum of blood serum, levels GLP-1 and microbial metabolites (SCFAs and TMAO), serum concentration of oxidative stress marker 8-isoprostaglandin F₂ α (8-iso-PGF₂ α)

A cohort of 88 patients, after ranking by BMI, was divided into 4 groups, between which the levels of 8-iso-PGF₂ α and SCFAs were compared. It was established that in parallel with the increase in the BMI quartile, the percentage of fat content, and the level of visceral fat, there was a significant increase in the

concentration of 8-iso-PGF₂α. Inverse correlations were found between BMI values and levels of triglycerides in the coprofiltrate (for acetic, propionic and butyric acids $r = -0.28; -0.34; -0.31$, respectively; $p < 0.05$), i.e. it was found the relationship between the signs of the obesity phenotype, the degree of oxidative stress in the body of patients with type 2 diabetes and the functional activity of intestinal bacteria, namely the synthesis of triglycerides. An increase in the degree of obesity was accompanied by the highest levels of glycemia, insulinemia and HOMA-IR, more severe forms of diabetes and CVD.

As you know, microbial metabolites, among other factors, significantly affect the metabolic status, which in turn is closely related to the function of the nervous system. In a cohort of 101 patients with type 2 diabetes, we studied the relationships between phenotypic morphological features, the function of the intestinal microbiota, assessed by the level of SCFAs, and the indicators of tests for assessing the psycho-emotional state using questionnaires (Hospital Anxiety and Depression Scale, Diabetes Distress Scale, Evaluation hormonal imbalance of cortisol, Stress Coping Questionnaire). A reliable direct correlation of scores based on the assessment of the hormonal imbalance of cortisol with the levels of total and visceral fat $r = 0.36$ and 0.40 , respectively ($p < 0.05$), was noted, which in turn showed a reliable correlation with the scores on the scale of anxiety and depression (total score $r = 0.49$, anxiety $r = 0.47$, depression $r = 0.41$) and distress in diabetes (total score $r = 0.42$, emotional burden $r = 0.41$). These data indicate the expediency of using these tests to assess the degree of psychological distress in patients with different phenotypes.

It was established that in the general group of patients ($n = 88$) after treatment with liraglutide in the maximum dose, improvement in glycemic control and lipidemia, improvement in body composition (decrease in % of total and visceral fat, increase in SVI, body hydration) was observed. These changes were accompanied by a significant increase in the concentration in the coprofiltrate of SCFAs, in particular, before and after treatment the average level of acetic acid was 1212.77 ± 77.81 µg/ml and 1515.54 ± 89.10 µg/ml, propionic acid was 535.28 ± 40.06 µg/ml and 737.90 ± 58.21 µg/ml, oil - 382.32 ± 30.37 µg/ml and 547.85 ± 54.52 µg/ml, respectively,

which may indicate an improvement in the function/composition of the intestinal microbiota, namely bacteria-producers of SCFAs. Against the background of the use of liraglutide (n=44), an increase in the level of endogenous GLP-1 in the blood was found (average level before and after treatment 1.15 ± 0.15 pmol/l and 3.00 ± 0.50 pmol/l, respectively), which may also be associated with a change in the composition of the intestinal microbiota. A decrease in the level of proatherogenic and prothrombotic metabolite TMAO (n=44) in blood serum was detected (mean level before and after treatment 7.51 ± 0.23 ng/ml and 6.38 ± 0.24 ng/ml, respectively).

After dividing the patients into 3 groups (BMI-1 <29.9 kg/m², BMI-2 from 30.0 to 39.9 kg/m², BMI-3 ≥ 40 m²), it was found that a decrease in BMI was observed in all groups, total and visceral fat content and positive changes in lipid metabolism indicators. All subgroups showed a significant decrease in TMAO concentration relative to the initial level (BMI-1 - 6.94 ± 0.56 ng/ml and 5.43 ± 0.57 ng/ml, BMI-2 - 7.31 ± 0.45 and 6.20 ± 0.61 ng/ml, BMI -3 – 8.28 ± 0.40 ng/ml and 7.14 ± 0.29 ng/ml before and after treatment, respectively). A significant increase in the level of acetic (1099.28 ± 109.20 µg/ml and 1542.41 ± 117.62 µg/ml) and propionic (498.20 ± 64.15 µg/ml and 723.26 ± 87.54 µg/ml) acids was found in the group BMI-1 and propionic (507.31 ± 73.09 µg/ml and 901.09 ± 158.08 µg/ml) and butyric (354.08 ± 56.81 µg/ml and 602.85 ± 115.31 µg/ml) acids – in BMI-2 group. In the group of subjects with morbid obesity, no significant differences in the levels of triglycerides compared to the initial value were found.

The task of the next part of the work was to study the effectiveness of the use of arGLP-1 drugs in patients with type 2 diabetes as a means of counteracting the development of neuropsychological disorders. Psychometric characteristics (degree of anxiety and depression, assessment of distress, coping with stress) in groups of men and women with type 2 DM were analyzed using a questionnaire. The results obtained during the examination before and after treatment with liraglutide demonstrated that the characteristics of the psycho-emotional state improved in patients of both sexes: the overall indicators according to the hospital scale of anxiety

and depression, the total level of distress in diabetes, as well as the scores according to the scale of assessment of hormonal imbalance of cortisol decreased ($p < 0,05$).

The detected changes were mostly observed in the group of women, in contrast to men, which indicates a particularly favorable effect of the applied therapy on the neuropsychological status of the patients, possibly in connection with the reduction of the influence of stress hormones. A direct correlation was noted between the levels of SCFAs and psychometric data (r from 0.14 to 0.21).

Therefore, the obtained results substantiate the expediency of using arGLP-1 therapy and prove their effectiveness with regard to the influence on the metabolic activity of the intestinal microbiota, in particular, a decrease in the concentration in the blood serum of patients of the proatherogenic and prothrombotic metabolite TMAO, which will contribute to the reduction of cardio-metabolic risk, as well as arGLP-1 therapy contributed to an increase in the content of short-chain fatty acids in the coprofiltrate: acetate, propionate, butyrate, which will have a positive effect on the secretion of endogenous incretins.

Key words: type 2 diabetes, obesity, metabolic syndrome, anthropometric and compositional indices, glycolipid metabolism, glucagon-like peptide-1 (GLP-1), intestinal microbiota metabolites, TMAO, short-chain fatty acids, oxidative stress, 8-isoprostan F2 α , psycho-emotional disorders, GLP-1 receptor agonists, clinical effect size.

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень, символів, одиниць, скорочень і термінів	15
Вступ	16
Розділ 1. Огляд літератури	29
1.1. Епігенетичне програмування цукрового діабету 2 типу.....	29
1.1.1. Епігенетична регуляція формування метаболічних фенотипів ожиріння та цукрового діабету 2 типу	29
1.1.2. Роль кишкової мікробіоти в епігенетичних модифікаціях	32
1.1.2.1 Вплив кишкової мікробіоти на формування ожиріння та синдрому інсулінорезистентності.....	32
1.1.2.2. Взаємозв'язок між патогенетичними факторами розвитку цукрового діабету 2 типу та його ускладнень і змінами кишкового мікробіоценозу.....	36
1.2. Мікробіоценоз кишківника в нормі та при дисметаболических станах.....	38
1.2.1. Фізіологічне значення мікробіоценозу кишкового тракту та фактори впливу на сталість його природного балансу.....	38
1.2.2. Механізми модуляції метаболічних процесів за участю кишкової мікробіоти.....	41
1.2.2.1. Шляхи взаємодії мікробіоти з організмом	41
1.2.2.2. Взаємозв'язок між станом вуглеводного обміну та балансом кишкової мікробіоти.....	44
1.2.2.3. Зміни ліпідного обміну залежно від складу кишкової мікробіоти.....	46
1.2.2.4. Вплив мікробних метаболітів ТМАО і КЛЖК на метаболізм організму.....	48
1.3. Інкретинова дисфункція у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу та ефекти інкретиноміметиків	54

1.3.1. Механізми впливу мікробіотичного дисбіозу кишківника на секрецію інкретинів	57
1.4. Особливості дії фармакологічних засобів у хворих на цукровий діабет 2 типу за умов дисбіозу.....	59
1.4.1. Ефекти мікробіоти та фармакокінетика лікарських засобів інкретинової групи.....	59
1.4.2. Вплив пребіотиків/пробіотиків на секрецію інкретинів.....	63
РОЗДІЛ 2. Матеріали і методи дослідження	67
2.1. Загально-клінічна характеристика обстежених пацієнтів і дизайн дослідження.....	67
2.2. Антропометричні виміри та біоімпедансне дослідження.....	71
2.3. Біохімічні дослідження.....	71
2.3.1. Показники обміну вуглеводів.....	71
2.3.2. Показники ліпідного спектру сироватки крові	72
2.3.3. Розрахункові індекси.....	73
2.4. Імуноферментні методи (визначення концентрації ГПП-1, ТМАО, 8-iso-PGF2 α в крові).....	73
2.5. Визначення коротколанцюгових жирних кислот в копрофільтраті.....	74
2.6. Анкетування.....	75
2.7. Статистичний аналіз.....	77
РОЗДІЛ 3. Дослідження метаболічної активності кишкової мікробіоти та інкретинової забезпеченості у пацієнтів з ЦД 2 типу залежно від морфо-фенотипових особливостей	80
3.1. Оцінка рівня оксидативного стресу залежно від метаболічної активності кишкової мікробіоти та фенотипових особливостей у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу.....	80
3.2. Дослідження концентрації ТМАО та КЛЖК у пацієнтів з ЦД 2 типу залежно від рівня вісцерального жиру та ІМТ.....	85
3.3. Визначення рівнів мікробіальних метаболітів та композиційних показників у пацієнтів з ЦД 2 типу залежно від забезпеченості ГПП-1...92	92

РОЗДІЛ 4. Дослідження впливу арГПП-1 на функціональну активність мікробіоти кишківника залежно від фенотипу ожиріння.....	96
4.1. Вплив арГПП-1 на гормонально-метаболічні показники у пацієнтів з ЦД 2 типу залежно від конституційного складу тіла.....	97
4.2. Вивчення ефектів арГПП-1 на рівні мікробіальних метаболітів триметиламін-N-оксиду та коротколанцюгових жирних кислот	101
РОЗДІЛ 5. Дослідження ефектів кишкової мікробіоти та терапії арГПП-1 на ступінь психологічного дистресу у хворих на ЦД 2 типу.....	110
5.1. Вивчення взаємозв'язків рівнів мікробіальних КЛЖК з психологічним статусом пацієнтів з ЦД 2 типу залежно від фенотипу	111
5.2. Вплив терапії арГПП-1 на рівень дистресу у хворих на цукровий діабет 2 типу.....	113
РОЗДІЛ 6. АНАЛІЗ РОЗМІРУ КЛІНІЧНОГО ЕФЕКТУ ТЕРАПІЇ арГПП-1 НА ГОРМОНАЛЬНО-МЕТАБОЛІЧНІ ПОКАЗНИКИ ТА РІВЕНЬ ПСИХОЛОГІЧНОГО ДИСТРЕСУ У ПАЦІЄНТІВ З ЦД 2 ТИПУ.....	121
6.1 Клінічні ефекти терапії арГПП-1 на морфо-метаболічні показники пацієнтів з ЦД 2 типу.....	121
6.2. Клінічні ефекти терапії арГПП-1 на рівень дистресу пацієнтів з ЦД 2 типу.....	122
Аналіз та узагальнення отриманих результатів.....	125
Висновки	133
Практичні рекомендації	135
Список використаних джерел	136

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

арГПП-1 – агоністи рецепторів	ССЗ – серцево-судинні
глюкагоноподібного пептиду типу 1;	захворювання;
АГ – артеріальна гіпертензія;	СВІ – скелетно-вісцеральний індекс
АМК – активні метаболіти кисню;	(skeletal-to-visceral ratio);
ВЖ – вісцеральний жир;	ОС – оксидативний стрес;
ГГА – гіпоталамо-гіпофізарно-адреналова система;	ТГ – тригліцериди;
ДЛП – дисліпопротеїнемія;	ТМА – триметиламін;
ЖК – жирні кислоти;	ТМАО – триметиламін-N-оксид;
ЗХС – загальний холестерин;	8-ізо-PGF _{2α} – ізопростагландин F _{2α}
ГПП-1 – глюкагоноподібний пептид	ПЦЗ – пероральні цукрознижувальні
тип 1;	засоби;
ІМТ – індекс маси тіла;	ХС – холестерин;
ІР – інсулінорезистентність;	ХС-ЛПВІЩ – холестерин
КЛЖК – коротколанцюгові жирні	ліпопротеїнів високої щільності;
кислоти;	ХС-ЛПДНІЩ – холестерин
КО – ксантиноксидаза;	ліпопротеїнів дуже низької
ЛПВІЩ – ліпопротеїни високої	щільності;
щільності;	ХС-ЛПНІЩ – холестерин
ЛПДНІЩ – ліпопротеїни дуже	ліпопротеїнів низької щільності;
низької щільності;	ЦД 2 типу – цукровий діабет 2 типу;
ЛПНІЩ – ліпопротеїни низької	ДАМ – метаболіти, пов’язані з
щільності;	небезпекою (“danger-associated
ЛПС – ліпополісахариди;	metabolites”)
МС – метаболічний синдром;	НbA _{1c} – глікований гемоглобін;
НЗКТГ2 – натрій-залежний	НОМА ІР – коефіцієнт
котранспортер глюкози 2 типу;	інсулінорезистентності (Homeostatic
ОТ – об’єм талії;	Model Assessment of Insulin
	Resistance, модель базального
	гомеостазу).

ВСТУП

Актуальність теми.

Зважаючи на те, що ожиріння та асоційовані з ним дисметаболичні захворювання, такі як цукровий діабет (ЦД) 2 типу, на сьогодні повсюдно досягли масштабів «неінфекційної епідемії», розробка ефективних профілактичних та терапевтичних заходів становить загальносвітовий інтерес у галузі охорони здоров'я. Відомо, що ЦД 2 типу виникає внаслідок інсулінорезистентності (ІР) периферичних тканин і супроводжується множинними гормональними та метаболічними порушеннями. Характерною для ЦД 2 типу є ентероендокринна дисфункція, зокрема зниження активності ГПП-1 – ентерогормону групи інкретинів, який виділяється клітинами кишківника у відповідь на прийом їжі та регулює вивільнення панкреатичних гормонів і ферментів [4,5].

У дослідженнях останніх десятирічь доведено, що мікробіота кишківника відіграє ключову роль у регуляції метаболічних, ендокринних та імунних функцій. Низькомолекулярні продукти життєдіяльності кишкової мікробіоти беруть участь у регуляції функції кишківника та метаболізму організму в цілому та впливають на функцію ентероендокринних клітин, а саме на синтез ГПП-1 [6, 7]. Якісне та кількісне порушення складу кишкової мікробіоти (дисбіоз) відіграє вагомую роль серед причин прогресування метаболічних захворювань, а також випадків недостатньої ефективності антигіперглікемічної терапії [8-13].

Препарати групи інкретиноміметиків імітують ефекти ендogenous ГПП-1, глюкозозалежно знижуючи рівень глікемії шляхом впливу на секрецію інсуліну та пригнічення глюкагону. Завдяки успішному використанню агоністів рецепторів глюкагоноподібного пептиду 1 (арГПП-1) та інгібіторів натрій-залежного транспортера глюкози 2 (НЗКТГ-2) було досягнуто суттєвих клінічних переваг у лікуванні пацієнтів з ЦД 2 типу, ускладненим ССЗ, серцевою та нирковою недостатністю [14,15]. Ці нові досягнення в

фармакотерапії окреслили нові терапевтичні можливості для покращення серцево-судинних прогнозів. Так, препарати інкретинової групи дозволяють частково компенсувати знижену при ЦД 2 типу секрецію інкретинів, тим самим сприяючи відновленню балансу секреції інсуліну та глюкагону панкреатичними β - та α -клітинами, а також здатні зменшувати масу тіла та проявляти кардіовазо-гепато-нейро- та нефропротекторну дію [5, 16-19]. Разом з тим, не у всіх випадках ефективність даного класу препаратів відповідає очікуванням. Резистентність до аналогів ГПП-1 може бути пов'язана з різними причинами, і однією з них може бути порушення балансу кишкової мікробіоти [9, 18, 20].

Отже, нові відкриття свідчать про те, що порушення мікробіоти кишківника є одним із ключових патофізіологічних механізмів у розвитку ожиріння, метаболічного синдрому та ЦД 2 типу. Діяльність кишкової бактеріальної мікрофлори може забезпечувати деякі механізми метаболічних та біологічних ефектів пероральних протидіабетичних засобів, а також пояснити причини варіабельності терапевтичної відповіді та розвитку шлунково-кишкових ускладнень, які спостерігаються в деяких пацієнтів. Тому дослідження функції мікробіому кишківника та розробка методів корекції мікробіоценозу на сьогодні є одним із перспективних напрямків у створенні ефективних схем лікування ЦД 2 типу й запобігання розвитку його ускладнень [21]. Хоча за останні роки значно розширились знання про мікробіом, сьогодні актуальними залишаються питання щодо механізмів взаємозв'язків між інкретиною системою та впливом мікробіальних метаболітів на гормонально-метаболічний статус організму, при цьому залишаються недостатньо вивченими морфо-метаболічні ефекти фармакологічних препаратів групи арГПП-1 та їх вплив на психоемоційний стан хворих на ЦД 2 типу залежно від фенотипових особливостей. Також нагальним завданням клінічної ендокринології є пошук об'єктивних критеріїв ранньої клініко-лабораторної діагностики з метою розробки цілеспрямованих диференційованих схем

корекції порушень метаболізму при цукровому діабеті типу 2 з урахуванням морфологічних та метаболічних аспектів фенотипу пацієнтів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Тема дисертації виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт відділу вікової ендокринології та клінічної фармакології ДУ "Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка НАМН України" у рамках виконання тем, затверджених Президією НАМН України:

1. НДР № 514 «Розробка персоніфікованих підходів у діагностиці та фармакотерапії цукрового діабету 2 типу» (2016–2018 рр., № держреєстрації 0116U002164);
2. НДР № 538 «Дослідити фенотипові гормональні і метаболічні особливості застосування інкретиноміметиків та інгібіторів натрій-залежного котранспортеру глюкози-2 у хворих на цукровий діабет 2 типу у постковідному періоді» (№ держреєстрації 0107U000619, 2022-2024 рр.);
3. НДР № 528 «Дослідити гормонально-метаболічні показники та особливості фармакотерапії у хворих на цукровий діабет II типу з нормальною масою тіла» (№ держреєстрації 0110U001189, 2019-2021 рр.). Автор є співвиконавцем вказаних науково-дослідних робіт.

Мета дослідження

Дослідження особливостей впливу агоністів рецепторів глюкагоноподібного пептиду-1 на метаболічну активність мікробіому кишківника залежно від морфо-фенотипових характеристик пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу.

Завдання дослідження

1. Вивчити особливості проявів оксидативного стресу (шляхом визначення концентрації в сироватці крові 8-ізо-простагландину F_{2α}) залежно від функціональної активності кишкової мікробіоти та гормонально-

метаболических показателей у пациентов с ЦД 2 типа с различными фенотипами ожирения.

2. Исследовать изменения концентрации оцтовой, пропионовой та масляной кислот в копрофильtrate у пациентов с ЦД 2 типа в зависимости от антропометрично-композиционных параметров тела.
3. Оценить характер изменений метаболитов кишечной микрофлоры при длительном применении арГПП-1.
4. Установить особенности взаимосвязей между метаболической активностью кишечной микробиоты та инкретиновой обеспеченностью у пациентов с ЦД 2 типа в зависимости от морфо-фенотипических особенностей.
5. Определить возможность применения ТМАО в оценке эффективности та индивидуализации лечения препаратами группы арГПП-1.
6. Оценить влияние терапии арГПП-1 на степень психологического дистресса с помощью анкетирования у пациентов с ЦД 2 типа с различными фенотипами с учетом метаболической активности микробиоты кишечника.
7. Провести анализ размера клинического эффекта терапии арГПП-1 у больных на ЦД 2 типа на функциональную активность кишечной микробиоты.

Объект исследования – сахарный диабет 2 типа, инкретины, кишечная микробиота, микробные метаболиты, морфо-метаболический фенотип, нейропсихологический статус, фармакотерапия арГПП-1.

Предмет исследования – антропометрические данные, композиция тела, маркер оксидативного стресса, микробные метаболиты ТМАО, КЛЖК, показатели углеводного, липидного обмена, показатели качества жизни, размер клинического эффекта терапии арГПП-1.

Методы исследования – общеклинические (общее обследование пациентов та сбор анамнеза), антропометрические (масса тела, рост, объем талии); биоимпедансный анализ композиции тела (содержание общего та висцерального жира, мышечная та костная масса, гидратация, базальный метаболизм); биохимические (определение липидного спектра сыворотки крови, уровней гликемии та HbA1c), иммуноферментные

(визначення ТМАО, ГПП-1 в крові), газова хроматографія (визначення КЛЖК в копрофільтраті); анектування; статистичні (оцінка достовірності отриманих результатів).

Наукова новизна одержаних результатів

1. Вперше проведено комплексне дослідження метаболічної активності кишкової мікробіоти залежно від морфо-фенотипових особливостей хворих на цукровий діабет 2 типу на тлі застосування арГПП-1, результати якого продемонстрували підвищення рівнів КЛЖК (оцтової, пропіонової та масляної кислот) в копрофільтраті після прийому арГПП-1 та зростання концентрації нативного ГПП-1 в крові, що свідчить про позитивний вплив на склад і метаболічну активність кишкової мікробіоти та секрецію ендогенних інкретинів у хворих на ЦД 2 типу.
2. Вперше продемонстровано зниження концентрації проатерогенного та протромботичного мікробіального метаболіта ТМАО на фоні застосування арГПП-1, що може слугувати потенційною терапевтичною мішенню, спрямованою на мінімізацію частоти розвитку та прогресування атеросклеротичних захворювань у пацієнтів з ЦД 2 типу.
3. Вперше встановлено, що концентрація в сироватці крові маркера оксидативного стресу 8-ізо-PGF₂ α зростає при збільшенні ступеня загального ожиріння, що обґрунтовує доцільність призначення арГПП-1 у хворих на цукровий діабет з метою корекції рівня загального та вісцерального жиру, що буде чинити позитивний вплив на антиоксидантну систему та знижувати ризик прогресування серцево-судинних ускладнень.
4. При аналізі даних опитувальників вперше відзначено зниження балів оцінки гормонального дисбалансу кортизолу у хворих на ЦД 2 типу на тлі застосування арГПП-1, особливо у жінок, що свідчить про

сприятливий вплив на психологічний статус, що може бути пов'язано зі зменшенням впливу стресових гормонів.

Практичне значення одержаних результатів

Аргументовано застосування оригінального комплексу клініко-лабораторних методів, який включає антропометрію, біоімпедансне визначення показників композиції тіла, характеристики вуглеводного та ліпідного метаболізму, визначення біомаркерів метаболічної активності кишкової мікробіоти (КЛЖК в копрофільтраті та ТМАО в сироватці крові), забезпеченості ентерогормоном ГПП-1 та маркера оксидативного стресу 8-ізо-PGF2 α у моніторингу стану пацієнтів з ЦД 2 типу з метою оцінки ефективності застосування персоніфікованих підходів у лікуванні метаболічних порушень.

Науково обґрунтовано застосування арГПП-1 в комплексному лікуванні ЦД 2 типу, що може сприяти нормалізації складу кишкового мікробіоценозу та його метаболічної активності, а також покращенню ендогенної секреції інкретинів ентероендокринними клітинами кишківника.

Основна гіпотеза даного дослідження

Останні наукові дослідження продемонстрували участь мікробіальних метаболітів в патогенезі ЦД 2 типу та кардіометаболічних ускладнень шляхом модуляції патофізіологічних процесів, таких як дисфункція β -клітин, хронічне запалення низького ступеня, окислювальний стрес і дисметаболізм ліпідів і глюкози. Бактеріальні метаболіти, включаючи КЛЖК та ТМАО, потрапляючи в системний кровотік, діють як сигнальні молекули через рецептори, які в подальшому регулюють численні метаболічні шляхи через модуляцію експресії генів метаболічно важливих процесів. Відхилення концентрацій цих метаболітів від фізіологічної норми відіграє важливу роль у патогенезі кардіометаболічних розладів при ЦД 2 типу, включаючи порушення імунного гомеостазу та хронічне запалення (метазапалення). Шляхом модулювання метаболізму жирової тканини, ендокринних клітин підшлункової залози,

судинного ендотелію, мікробіальні метаболіти впливають на формування гормонально-метаболического і композиційного фенотипу організму людини, що визначає серцево-судинний ризик, тому визначення концентрації мікробіальних метаболітів у взаємозв'язку з морфологічними параметрами набуває особливого значення для діагностики, профілактики та оцінки ефективності терапії дисметаболических станів, зокрема ЦД 2 типу та його серцево-судинних ускладнень.

Особистий внесок автора. Здобувачем самостійно виконано патентно-інформаційний пошук та проаналізовано значний об'єм наукової літератури за темою наукового дослідження, спільно з науковим керівником визначено мету і завдання дослідження. Дисертантом самостійно проведено первинне обстеження та підбір пацієнтів згідно критеріїв включення і виключення, антропометричні та композиційні виміри, збір біохімічних даних; здійснено призначення протидіабетичної терапії, організовано консультування пацієнтів, контроль за виконанням призначеного лікування та спостереження в динаміці лікування. Проведено статистичну обробку одержаних результатів, узагальнення та науковий аналіз отриманих даних, сформульовано основні положення і висновки для наукових публікацій, здійснено підготовку матеріалів до друку, доповідей на конференціях, виступів на конференціях, виконано написання дисертаційної роботи.

Об'єм і структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 165 сторінках друкованого тексту, складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, 4-х розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку літератури, який включає 255 джерел. Робота ілюстрована 22 таблицями та 11 рисунками.

Апробація результатів дисертації. Результати досліджень та основні положення дисертаційної роботи доповідалися, обговорювалися і отримали

позитивну оцінку спеціалістів на спеціалізованих наукових конференціях і з'їздах.

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 22 наукових праць, з яких 4 статті у фаховому науковому журналі категорії А та 9 – у журналах категорії В (включаючи 1 моноstatтю), 9 публікацій у збірниках доповідей конгресів і науково-практичних конференцій, 3 усних і стендових доповідей на конференціях.

ПЕРЕЛІК ДРУКОВАНИХ РОБІТ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЙНОЇ РОБОТИ

Статті в журналах категорії А

1. Шишкань-Шишова КО, Зінич ОВ, Кушнар'ова НМ, Ковальчук АВ, Прибила ОВ. Вплив інкретиноміметиків на рівень мікробіального метаболіта триметиламін-N-оксиду — маркера серцево-судинного ризику у хворих на цукровий діабет 2-го типу. Міжнародний ендокринологічний журнал. 2023;19(7):523-528. doi: 10.22141/2224-0721.19.7.2023.1330.
2. Шишкань-Шишова КО, Зінич ОВ, Кушнар'ова НМ, Ковальчук АВ, Прибила ОВ. Вплив пробіотиків та інкретиноміметиків на рівні глюкагоноподібного пептиду 1 у сироватці крові пацієнтів із цукровим діабетом 2-го типу. Міжнародний ендокринологічний журнал. 2021; 17(8): 604-612. doi: 10.22141/2224-0721.17.8.2021.246792.
3. Прибила ОВ., Зінич ОВ, Кушнар'ова НМ, Ковальчук АВ, Шишкань-Шишова КО. Кардіометаболічні особливості пацієнтів із цукровим діабетом 2-го типу залежно від фенотипів ожиріння. Міжнародний ендокринологічний журнал. 2024;20(1):33-40. doi: 10.22141/2224-0721.20.1.2024.1355.
4. Прибила, О., Зінич, О., Кушнар'ова, Н., Ковальчук, А., Шишкань-Шишова, К. Функціональна активність надниркових залоз у хворих на цукровий діабет 2 типу з різними гормональними та метаболічними

фенотипами. Міжнародний ендокринологічний журнал. 2023; 19(2): 94–99. <https://doi.org/10.22141/2224-0721.19.2.2023.1252>.

Статті в журналах категорії В

1. Olesia Zynych, Yurii Stepanov, Kateryna Shyshkan-Shyshova, Inna Klenina, Nataliia Kushnarova, Alla Kovalchuk, Olha Prybyla. Study of the influence of GLP-1 receptor agonists on the metabolic activity of the intestinal microbiota in patients with type 2 DM. Scientific Journal «ScienceRise: Medical Science» 2023; 6(57): 24-30. DOI: 10.15587/2519-4798.2023.297535.
2. Кушнарёва НН, Зиныч ЛВ, Ковальчук АВ, Прибила ОВ, Шишкань-Шишова ЕА. The influence of therapy with incretinomimetics and glyflosins on the function of alpha and beta cells of the pancreas in patients with type 2 DM (Оценка влияния терапии инкретиномиметиками и глифлозинами на функцию альфа и бета-клеток поджелудочной железы у пациентов с СД2 типа). World Science. 2021; 3(64): 1-13. doi: 10.31435/rsglobal_ws/30032021/7507.
3. Шишкань-Шишова КО, Зінич ОВ. Роль кишкової мікробіоти в регуляції інкретинових ефектів. Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. 2020; №1: 64-71. DOI: <https://doi.org/10.30978/CEES-2020-1-64>.
4. Шишкань-Шишова КО, Зінич ОВ. Кишкова мікробіота як чинник епігенетичного програмування фенотипів ожиріння та цукрового діабету 2 типу. Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. 2021; №2: 74-81. DOI: <https://doi.org/10.30978/CEES-2021-2-75>.
5. Кушнарёва НМ, Зінич ОВ, Корпачев ВВ, Ковальчук АВ, Прибила ОВ, Шишкань-Шишова КО. Зниження ефективності агоністів рецепторів глюкагоноподібного пептиду 1: у чому причина? Міжнародний

ендокринологічний журнал. 2021; 17(8): 638-646. doi: 10.22141/2224-0721.17.8.2021.246799

6. Шишкань-Шишова КО, Зінич ОВ. Модуляція мікробіоти кишечника на тлі застосування цукрознижувальної терапії. Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. 2022; 1 (77): 68-79. DOI: <http://doi.org/10.30978/CEES-2022-1-68>.
7. Корпачева-Зинач ЛВ, Кушнарєва НН, Ковальчук АВ, Прибила ОВ, Шишкань-Шишова КА, Гурина НМ, Корпачев ВВ. В унісон с мировыми тенденциями: клинические аспекты применения лираглутида в комбинации с инсулином у пациентов с сахарным диабетом. Международный эндокринологический журнал. 2016; 7(79): 35-43. DOI: 10.22141/2224-0721.7.79.2016.86417.
8. Шишкань-Шишова КО, Зінич ОВ. Продукт метаболічної активності кишкового мікробіому триметиламін-N-оксид (ТМАО) — біомаркер прогресування атеросклерозу й серцево-судинних ускладнень у хворих на цукровий діабет 2-го типу. Міжнародний ендокринологічний журнал. 2022; 18(4): 232-238. DOI: <https://doi.org/10.22141/2224-0721.18.4.2022.1177>.

Моно статті в журналах категорії В

1. Шишкань-Шишова КО. Дослідження психоемоційних та фенотипічних особливостей хворих на цукровий діабет 2 типу під впливом терапії інкретиноміметиками. Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. 2023; 2 (82): 47-53. DOI <http://doi.org/10.30978/CEES-2023-2-47>.

ПЕРЕЛІК ВИСТУПІВ НА КОНФЕРЕНЦІЯХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЙНОЇ РОБОТИ

Усні доповіді

1. Шишкань-Шишова КО. «Актуальність та перспективи подальшого вивчення ролі агоністів рецепторів глюкагоноподібного пептиду-1 в модуляції мікробіоти кишковика у хворих на цукровий діабет 2 типу», ІХ З'їзд ендокринологів України, м. Харків, 21.11.2019.

Стендові доповіді

1. Шишкань-Шишова КО. Вплив пробіотикотерапії на рівень ендogenous глюкагоноподібного пептиду - 1 у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу. Науково-практична конференція з міжнародною участю «YOUNG SCIENCE 3.0» (м. Київ, 26 березня 2021 року).

2. Шишкань-Шишова КО. Особливості застосування агоніста рецепторів глюкагоноподібного пептиду -1 у хворих на цукровий діабет 2 типу залежно від статі та фенотипу. Науково-практична конференція з міжнародною участю. «YOUNG SCIENCE 4. 0» (м. Київ, 30 травня 2022 року).

Тези доповідей

1. Шишкань-Шишова КО, Зінич ОВ, Кушнарєва НМ, Ковальчук АВ. Показники композиції тіла у хворих на цукровий діабет 2 типу при застосуванні агоністів рецепторів глюкагоноподібного пептиду з урахуванням фенотипових особливостей. Проблеми ендокринної патології. ІХ з'їзд ендокринологів України 2019: 243-244.
2. Прибила ОВ, Зінич ОВ, Кушнарєва НМ, Ковальчук АВ, Шишкань-Шишова КО. Особливості композиційних та біохімічних показників пацієнтів із цукровим діабетом 2 типу в залежності від метаболічного фенотипу. Проблеми ендокринної патології. Спеціальний випуск. - Тези доповідей ІХ з'їзду ендокринологів України, що присвячений 100-річному ювілею ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я.Данилевського НАМН України», 19-22 листопада 2019 р., Харків 2019: 208-209.

3. Кушнар'ова Н.М., Зінич О.В., Ковальчук А.В., Прибила О.В., Шишкань-Шишова К.О. Корекція показників композитної будови тіла та ранніх проявів ниркової дисфункції у хворих на цукровий діабет 2 типу при застосуванні інкретиноміметиків та інгібіторів натрій-глюкозного транспортера. Проблеми ендокринної патології. ІХ з'їзд ендокринологів України 2019: 177-178.
4. Прибила ОВ, Зінич ОВ, Шишкань-Шишова КО. Особливості композиції тіла, показників ліпідного комплексу у хворих на цукровий діабет 2 типу в залежності від маси тіла та рівня вісцерального ожиріння. Збірник матеріалів науково-практичної конференції з міжнародною участю «YOUNG SCIENCE 3.0» (в онлайн режимі) (м. Київ, 26 березня 2021 року): 105-107.
5. Прибила ОВ, Зінич ОВ, Кушнар'ова НМ, Ковальчук АВ, Корпачев ВВ, Шишкань-Шишова КО, Шупрович АА. Особливості гормонального і метаболічного профілю у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу в залежності від фенотипу ожиріння та рівня вісцерального жиру. Науково-практична конференція з міжнародною участю «YOUNG SCIENCE 4.0» (м. Київ, 30 травня 2022 року): 110-111.
6. Шишкань-Шишова К. О., Зінич О. В., Кушнар'ова Н. М., Ковальчук А. В., Прибила О. В. Вплив пробіотикотерапії на рівень ендогенного глюкагоноподібного пептиду - 1 у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу. Збірник матеріалів науково-практичної конференції з міжнародною участю «Young science 3,0». 2021: 139-140.
7. Шишкань-Шишова К.О., Зінич О.В., Кушнар'ова Н.М., Ковальчук А.В., Прибила О.В., Шупрович А.А. Особливості застосування агоніста рецепторів глюкагоноподібного пептиду -1 у хворих на цукровий діабет 2 типу залежно від статі та фенотипу. Збірник тез матеріалів науково-практичної конференції з міжнародною участю. «YOUNG SCIENCE 4. 0» 2022: 121-122.
8. Шишкань-Шишова К.О., Зінич О.В., Кушнар'ова Н.М., Ковальчук А.В., Прибила О.В. Дослідження когнітивно-поведінкових показників у хворих на

цукровий діабет 2 типу при застосуванні інкретинотерапії. Міжнародний електронний науково-практичний журнал «WayScience» II міжнародна науково-практична інтернет конференція «RECENT TRENDS IN SCIENCE» Дніпро 2023; 302-303.

9. Шишкань-Шишова К.О., Зінич О.В., Кушнарєва Н.М., Ковальчук А.В., Прибила О.В. Рівні метаболіту кишкового мікробіому триметиламін-N-оксиду (ТМАО) - маркера серцево-судинного ризику у хворих на цукровий діабет 2-го типу при застосуванні синбіотика або інкретинотерапії. Міжнародний електронний науково-практичний журнал «WayScience» I Міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Achievements of 21st Century Scientific Community» Дніпро 2023; 488-490.

Результати впроваджені в діяльність лікувальних та навчальних установ: Державна установа «Інститут геронтології ім. Д.Ф. Чеботарьова Національної Академії медичних наук України», Державна установа «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка Національної Академії медичних наук України».

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Епігенетичне програмування цукрового діабету 2 типу

1.1.1. Епігенетична регуляція формування метаболічних фенотипів ожиріння та цукрового діабету 2 типу

Стрімке зростання в усьому світі поширеності метаболічних захворювань не може пояснюватись лише за рахунок впливу факторів навколишнього середовища і генетичних факторів. За останні роки досягнуто значного прогресу у цій міждисциплінарній галузі, опубліковано результати багатьох робіт, які досліджували різні аспекти метаболічного синдрому та пов'язані з ним епігенетичні зміни. Важливу роль в опосередкуванні впливу факторів навколишнього середовища на експресію генів відіграє епігенетика – спадкові стійкі зміни в експресії генів за рахунок механізмів, що не змінюють нуклеотидну послідовність ДНК геному. Молекулярні основи епігенетичної регуляції включають процеси метилювання ДНК, модифікації гістонів (метилювання, ацетилювання тощо) та некодуючих РНК (MicroRNA, lncRNA), зміни просторової структури хроматину [22]. Кожен з них причетний до клітинних подій, що стосуються асоціацій між епігенетичними модифікаціями та діабетом, ожирінням, іншими порушеннями обміну речовин [23-27].

Цукровий діабет 2 типу належить до важких метаболічних розладів, що розвиваються на підґрунті метаболічного синдрому (МС). Останній є результатом складної взаємодії факторів середовища, генетики та епігенетики, які перетинаються між собою у циклах зворотного зв'язку, що в кінцевому підсумку викликає вісцеральне ожиріння, ССЗ та ЦД 2 типу [23,25, 28].

ЦД 2 типу характеризується гіперглікемією, спричиненою недостатньою секрецією інсуліну або інсулінорезистентністю (ІР). ІР призводить до

зменшення засвоєння глюкози скелетними м'язами та жировою тканиною у поєднанні з підвищеним продукуванням та секрецією глюкози з печінки. Як наслідок, збільшується потреба в секретії інсуліну з β -клітин підшлункової залози. Однак, коли острівці підшлункової залози врешті не можуть задовольнити підвищену потребу в секретії інсуліну, розвивається ЦД 2 типу [29].

Підвищений ризик розвитку ЦД 2 типу пов'язаний з такими негенетичними факторами, як старіння, наявність ожиріння, високоенергетична дієта та низька фізична активність. Було продемонстровано, що фактори навколишнього середовища можуть впливати на глобальний епігенетичний статус і змінювати експресію сприйнятливих генів, тим самим сприяючи формуванню відповідного фенотипу [30].

Під фенотипом організму розуміють комплекс зовнішніх і гормонально-метаболических характеристик, який формується на основі успадкованого генотипу в процесі індивідуального розвитку кожного індивіда під впливом умов навколишнього середовища. Варіабельність фенотипічних ознак на базі одного генотипу зумовлюється так званими епігенетичними модифікаціями – стійкими змінами експресії генів, що не зачіпають базової послідовності нуклеотидів ДНК) [23, 24, 31].

Сучасні дані підтверджують важливу роль епігенетики в патогенезі ЦД 2 типу та ожиріння, особливо у похилому віці. Численні дослідження виявили диференційоване метилювання ДНК та експресію генів у скелетних м'язах, жировій тканині, печінці та острівцях підшлункової залози у пацієнтів із ЦД 2 типу порівняно з особами без діабету [22, 29,30, 32].

Епігеном описує модифікації геному, які не впливають на послідовність ДНК, але призводять до зміни експресії генів. Епігенетичні модифікації включають метилювання ДНК і модифікацію гістонів, які змінюють спосіб упаковки ДНК у хроматин. КЛЖК відіграють важливу роль в модифікації гістонів у різних тканинах. Встановлено, що хроматин містить нуклеосоми, в яких ДНК навита навколо центрального гексамеру з метильованих гістонів

H3/H4 та H2A/H2B, що зумовлює неактивний стан хроматину. Конденсований хроматин може зазнавати релаксації під впливом специфічних клітинних та зовнішніх сигналів, до яких належить ацетилювання, яке робить можливими реплікацію та транскрипцію ДНК. Ацетилювання гістонів є динамічним станом, який регулюється двома типами ферментів: гістонацетилтрансферазами (ГАТ) та гістондеацетилазами (ГДА) [33]. Встановлено, що такі метаболіти кишкових бактерій, як КЛЖК, зокрема бутират та пропіонат, є інгібіторами активності ГДА, яка каталізує деацетилювання гістонів, тобто ці КЛЖК підтримують доступ ДНК до механізмів транскрипції та стимулюють експресію генів [34]. Роль КЛЖК у модифікації гістонів була продемонстрована на моделі безбактеріальних мишей, у яких введення до раціону ацетату, пропіонату і бутирату, а також мікробна колонізація, посилювали ацетилювання гістонів H4 і H3 тканиноспецифічним способом [35]. Ацетил-КоА, необхідний кофактор для ферментів гістонацетилтрансферази (ГАТ), може бути утворений з ацетату або в результаті окислення пропіонату та бутирату. Збільшення внутрішньоклітинного пулу ацетил-КоА може збільшити активність ГАТ. Зазначені механізми опосередковують епігенетичні ефекти впливу КЛЖК на біосинтез і секрецію біологічно активних пептидних сполук, таких як гастроінтестинальні гормони групи інкретинів.

Інший бактеріальний метаболіт – ТМАО, який пов'язаний із ризиком ССЗ, утворюється шляхом метаболізації холіну, бетаїну (похідного холіну) і L-карнітину, що містяться в продуктах тваринного походження та перетворюються бактеріями на триметиламін (ТМА). Потім ТМА поглинається та транспортується до печінки, де метаболізується флавіновмісним ферментом монооксигеназою (FMO) до ТМАО. Даний метаболіт є потенційним маркером серцево-судинних захворювань, пов'язаних з атеросклерозом і утворенням атеромних бляшок [36]. В експерименті на культурах гепатоцитів і макрофагів людини виявлено, що ТМАО модулює експресію мікроРНК кластера miR-17/92, пов'язаних із серцево-судинними захворюваннями та запаленням, і що така модуляція може сприяти запаленню через IL-12A та згортання крові через

експресію PAI-1 (інгібітора активатора плазміногену, SERPINE1), що в кінцевому підсумку може сприяти атеросклерозу та ССЗ [37, 38, 39].

Спостереження свідчать, що здоровий спосіб життя зменшує поширеність ЦД 2 типу і може запобігти діабету у людей із підвищеним ризиком захворювання. Фізична активність та різні дієти можуть впливати на епігеном і, отже, на ризик захворювання. Встановлено, що фізичні вправи та різні дієти дійсно спричиняють епігенетичні зміни, що можуть вплинути на ризик захворювання. Деякі з виявлених змін профілю метилювання в генах-кандидатах для ЦД 2 типу (наприклад, PDX1, CDKN1A та GLRA1) були пов'язані з диференційованою експресією генів [40-42].

Таким чином, сучасні дані підтверджують важливу роль епігенетики в патогенезі ЦД 2 типу через порушення секреції та дії інсуліну. Дослідження за типом випадок-контроль та інтервенційні дослідження виявили епігенетичні зміни генів-кандидатів, які можуть сприяти захворюванню. Про важливу роль епігенетики у виникненні ЦД 2 типу свідчать дані щодо метилювання деяких ділянок ДНК, отримані в проспективних дослідженнях у когортах з високим ризиком. Перспективними напрямками досліджень на сьогодні вважають вивчення причинно-наслідкового зв'язку між епігенетикою та ЦД 2 типу, а також розробку нових підходів до терапії метаболічних захворювань, орієнтованих на епігенетичні механізми. Тому представляє великий науковий і практичний інтерес порівняно новий напрямок досліджень, пов'язаний з епігенетичними ефектами кишкової мікробіоти при ЦД 2 типу, що може бути перспективним біомаркером та засобом для кращого прогнозування, профілактики та лікування ЦД 2 типу [43].

1.1.2. Роль кишкової мікробіоти в епігенетичних модифікаціях

1.1.2.1. Вплив кишкової мікробіоти на формування ожиріння та синдрому інсулінорезистентності

Дієта є одним з головних факторів способу життя, що піддаються модифікації та надають можливості профілактики та боротьби з діабетом, ожирінням та кардіометаболічними захворюваннями [44]. Розвитку ІР та переходу до ЦД 2 типу сприяють дієтичні звички, зокрема розповсюдження продуктів з високим вмістом очищених вуглеводів та жирів, з низьким вмістом харчових волокон. Недостатнє споживання харчових волокон може знизити продукцію коротколанцюгових жирних кислот в товстій кишці за рахунок зменшення бактеріальної ферментації неперетравлюваних харчових волокон, що в свою чергу може порушити ліпідний гомеостаз і збільшити утворення глюкози в печінці. Ці метаболічні зміни опосередковані секрецією шлунково-кишкових гормонів, таких як грелін, пептид YY (PYY), глюкозо-залежний інсулінотропний пептид (ГПП), глюкагоноподібні пептиди 1 і 2 (ГПП-1 і -2) [45].

Західна дієта пов'язана зі зменшенням загального бактеріального навантаження та кількості корисних комменсалів, таких як *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* та *Eubacterium*. І навпаки, у суб'єктів, які вживають веганські та вегетаріанські дієти, багаті ферментованими продуктами на рослинній основі, було зафіксовано стан мікробіоти, що характеризується меншою кількістю *Bacteroides* sp. та *Bifidobacterium* sp. [47, 48].

Середземноморська дієта має сприятливий вплив через підвищений вміст мононенасичених та поліненасичених жирних кислот, а також високий вміст антиоксидантів, волокон та рослинного білка. Мікробіота кишківника людей, які вживають середземноморську дієту, характеризується високою колонізацією *Lactobacillus* sp., *Bifidobacterium* sp., *Prevotella* sp. та низьким рівнем *Clostridium* sp. – видами, які пов'язані зі зниженням ваги, поліпшенням ліпідного профілю та зменшенням запалення [49].

Окремі харчові інгредієнти, забруднювачі навколишнього середовища та лікарські засоби можуть викликати епігенетичні зміни, пов'язані з розвитком діабету та ожиріння, що передаються наступним поколінням. Дослідження (експериментальні та за участю людей) продемонстрували, що статус

харчування одного покоління може змінити епігенетичний профіль у наступних поколіннях. Крім того, дієти з високим вмістом жиру та обмеженням білків негативно впливають на епігенетичну регуляцію генів, змінюючи статус метилювання ДНК. Обезогенні дієти, харчові продукти з високим вмістом жирів і калорій, на жаль, є найбільш доступними для широкої популяції, отже, їх будуть споживати й наступні покоління, які звикають вживати "найбільш доступну" дієту [50].

Механізми впливу кишкової мікробіоти на розвиток метаболічних захворювань. Кишечник є життєво важливим органом, де мікробіота може впливати на функцію імунних та ентероендокринних клітин. Роль мікробіоти кишківника як у здорових людей, так і при різних захворюваннях, сьогодні є об'єктом інтенсивного вивчення. Дослідження виявили що зміна мікробіоти відіграє певну роль в розвитку і проявах захворювань, оскільки трансплантація до стерильних тварин мікробіоти від хворих людей або мишей призводить до переносу деяких аспектів патологічного фенотипу [51].

Накопичені дані свідчать про зв'язок між порушеннями складу і функції мікробіома кишківника (дисбіозом) та ожирінням, дисглікемією, дисліпідемією, а отже, патофізіологією ЦД 2 типу. Ці індуковані епігенетичні модифікації регулюються метаболітами, що виробляються мікробіотою кишківника, включаючи коротколанцюгові жирні кислоти (КЛЖК), фолати, біотин та ТМАО. Повідомляють про потенційну роль цих мікробних метаболітів у патофізіології ожиріння та діабету [20,52-54].

Раніше вважалось, що сприятливий ефект харчових волокон та розчинної клітковини може бути опосередкований через повільне всмоктування та перетравлення вуглеводів, що призводить до зниження потреби в інсуліні, а також повідомлялось про важливу роль жирних кислот (а не накопичення ліпідів) в розвитку резистентності до інсуліну [55, 56]. Сьогодні, з огляду на останні дані про важливу роль жирних кислот, що їх продукують кишкові бактерії з целюлози неперетравлюваних харчових волокон, можна пояснити захисний протидіабетичний ефект дієтичних волокон саме через вироблення

цих бактеріальних метаболітів (КЛЖК) та їх вплив на синтез інкретинів у кишківнику.

Вплив кишкових бактерій на епігенетичні процеси опосередкований кількома механізмами. Деякі інфекційні агенти (вірус папіломи людини, віруси гепатиту В і С, вірус Епштейна-Барра, поліомавіруси, *Chlamydia pneumoniae*, *Campylobacter rectus*, *Streptococcus bovis*, *Helicobacter pylori* та мікробіоти кишківника є епігенетичними факторами, які пов'язані з етіопатогенезом метаболічного синдрому. Наприклад, індигенні (корінні) бактерії кишківника здатні впливати на біодоступність дієтичних метильних груп, викликаючи гіпометилування декількох шляхів, пов'язаних з епігенетичними модифікаціями. Зменшення метилування ДНК може призводити до зниження вмісту S-аденозилметіоніну (SAM) – основного донора метильних груп в організмі. Такі бактерії, як біфідобактерії та лактобактерії виробляють фолат, який підтримує генерацію SAM. Встановлено, що стан метилування ДНК у конкретних генах, пов'язаних з адипогенезом, ліпідним обміном та запаленням може частково пояснити деякі особливості метаболічних порушень при МС [57]. Дієтичний метіонін модулює склад мікробіоти, а також бактеріальний метаболізм, надаючи субстрати для синтезу SAM. Дефіцит деяких субстратів (бетаїну, метіоніну, холіну) та / або кофакторів (вітаміни В12, В2, В6, фолати), утворених мікробіотою, є прикладом непрямой дії мікробних низькомолекулярних сполук на ремоделювання хроматину [58].

Мікробіота сприяє біодоступності, перетворенню, абсорбції та/або виведенню низки хімічних елементів, включаючи селен, цинк, кобальт та йод, які є кофакторами для різних ферментів, що беруть участь у епігенетичних модифікаціях. Низькомолекулярні сполуки, що утворюються під час мікробного метаболізму, включаючи КЛЖК, цистеїн / N-ацетил-цистеїн та аллілмеркаптан / диаллілсульфід, можуть перешкоджати діяльності ферментів, відповідальних за епігенетичні модифікації. Також мікробіота кишківника є основним донором ацетильних груп для утворення ацетил-КоА, який залучений

до реакцій епігеномного ацетилювання, що беруть участь у ремоделюванні хроматину та посттрансляційних модифікаціях білка [59, 60].

Останні дослідження демонструють, що епігенетичними ефектами володіють деякі протидіабетичні препарати та блокатори ренін-ангіотензин-альдостеронової системи (РААС), крім своєї основної гіпоглікемічної та антигіпертензивної функцій, відповідно. Є дані про те, що лікуванню дисметаболических патологій може сприяти як безпосередня модуляція мікробіоти (антимікробними препаратами, дієтою, пребіотиками та/або пробіотиками, трансплантацією фекальної мікробіоти, сигнальними молекулами або мікробними метаболітами), так і опосередкована модуляція (наприклад, при імунотерапії) [61-63].

Регуляція взаємодії між мікробіомом кишківника та епігенетичними процесами в регуляції розвитку ожиріння та діабету може мати потенціал як новий профілактичний або терапевтичний підхід для ряду метаболічних та інших захворювань людини [7].

1.1.2.2. Взаємозв'язок між патогенетичними факторами розвитку цукрового діабету 2 типу та його ускладнень і змінами кишкового мікробіоценозу

Епігенетичні механізми, такі як модифікація гістонів та метилювання ДНК, відіграють ключову роль у розвитку ожиріння. Прямий зв'язок між дієтою, кишковими бактеріями та епігенетичними модифікаціями опосередкований через мікробіальні метаболіти [7, 64].

Зміни у складі мікробних спільнот в основному виникають через різницю в режимах харчування. Відомо, що дієти на рослинній основі пов'язані з мікрофлорою кишківника, яка включає роди *Bifidobacterium*, *Alloprevotella* та *Allobaculum*. Різноманітний склад мікробіоти кишківника призводить до утворення метаболітів, таких як коротколанцюгові жирні кислоти (КЛЖК). Дані метаболіти взаємодіють з епітеліальними клітинами і допомагають

підтримувати метаболізм організму. З іншого боку, дієти, збагачені жирами та вуглеводами, призводять до зменшення різноманітності та змін у складі мікробіоти кишківника, таких як зниження рівня Bacteroidetes та підвищення рівня Firmicutes. Вищезазначені зміни складу та функції кишкових бактерій (дисбактеріоз) викликають продукцію метаболітів, які індукують специфічні епігенетичні зміни, які в свою чергу сприяють розвитку ожиріння [65].

Основні механізми, за допомогою яких кишкова мікробна спільнота може модулювати метаболізм організму та провокувати розвиток IP та ЦД 2 типу, здійснюються двома шляхами: а) – через ліпополісахариди (ЛПС); б) – через КЛЖК [7].

Припускають, що за умов великої кількості грамнегативних бактерій, таких як кишкова паличка, відбувається значне відшарування ліпополісахаридного зовнішнього шару стінки цих бактерій. Вивільнений ЛПС зв'язується з Toll-подібним рецептором 4 (TLR4) та активує прозапальні імунні шляхи, що призводить до запалення низького ступеня та подальшого зниження чутливості до інсуліну [66,67].

В імунних клітинах зв'язування КЛЖК з рецепторами GPR сприяє меншому розвитку запалення. Одночасно це призводить до збільшення секреції ГПП-1 та пептиду PYY ентероендокринними L-клітинами в товстій кишці, що покращує чутливість до інсуліну. Продемонстровано, що підвищення рівня ГПП-1 шляхом зміни складу мікробіоти кишківника сприяє поліпшенню толерантності до глюкози, резистентності до інсуліну та зростання рівня корисних метаболітів, таких як бурштинова кислота. Крім того, виявлено, що КЛЖК регулюють метаболізм глюкози шляхом кишкового глюконеогенезу [68, 69].

Таким чином, дані літератури свідчать про те, що мікробіом кишківника регулюється багатьма чинниками, такими як дієта, навколишнє середовище, генетичні та епігенетичні фактори. Результати досліджень, які стосуються взаємодії мікробіома кишківника з епігеномом, вказують на потенційну роль мікробіоти в регуляції метаболізму організму. Модуляція епігенома через

мікробіоту кишківника може бути обумовлена різними метаболітами, що утворюються в кишківнику та походять від мікробів. Наприклад, КЛЖК, що виробляються в кишківнику, переважно ацетат, бутират і пропіонат, взаємодіють з рецепторами клітинної поверхні та з епітеліальним та підслизовим шарами товстої кишки, впливаючи тим самим на ожиріння та контроль діабету. КЛЖК мають вирішальне значення для епігенетичних процесів організму людини через їх вплив на метилювання ДНК та модифікацію гістонів. Подальші дослідження, орієнтовані на конкретні мікробні метаболіти кишківника, що впливають на епігеном організму, дадуть нові уявлення про здоров'я та метаболічні захворювання людей. Крім того, з'являються дослідження, зосереджені на епігенетичних механізмах мікробіому кишківника та його впливі на ожиріння, діабет та серцево-судинні захворювання. У перспективі це може мати значення у розкритті нових терапевтичних механізмів, які можуть відновити змінений мікробіом кишківника до здорового стану та допомогти у профілактиці та лікуванні ожиріння, а також діабету [59].

1.2. Мікробіоценоз кишківника в нормі та при дисметаболічних станах

1.2.1. Фізіологічне значення мікробіоценозу кишкового тракту та фактори впливу на сталість його природного балансу

Актуальність кишкової мікробіоти, не є випадковою. Ще в 460–377 рр. до н.е. батько сучасної медицини Гіппократ заявляв, що «Всі хвороби починаються в кишківнику». Довгий час вважалося, що організм людини є в основному стерильним, і лише близько десяти видів мікробів вивчалися як патогени, з якими пов'язані запальні процеси в шлунково-кишковому тракті (ШКТ). Приблизно в 2000 р., з початком використання технології ДНК-секвенування, було отримано несподівані результати: молекулярний аналіз виявив наявність в організмі людини сотень видів мікробів, які раніше не ідентифікувалися методами лабораторної культури. Ці нещодавно виявлені

мікробні спільноти – мікробіоми містять не тільки бактерії, але й численні види вірусів, бактеріофагів та грибів [70].

В ранніх дослідженнях мікробіому розглядалися мікробні екосистеми людського кишківника та слизової оболонки, але подальший молекулярний аналіз виявив широкі мікробні співтовариства в різних тканинах і в крові людини. Сьогодні вважається, що мікробіомічні популяції знаходяться практично в кожній ділянці організму людини. Геноми цих мікробів, які можуть бути як комменсальними (від лат. *commensalis* – співтрапезник), так і патогенними, постійно взаємодіють з геномом людини та здатні впливати на метаболізм організму. У зв'язку з цим людину можна вважати суперорганізмом, в якому людські та мікробні геноми взаємодіють, здійснюючи регулювання метаболізму [71]. Нова інформація щодо значення мікробіальної екосистеми змусила переглянути патогенез хронічних запальних та аутоімунних процесів з точки зору загальних механізмів, асоційованих з дисбіозом та взаємодією між мікробами та організмом.

У кишківнику людини містяться близько 100 трильйонів бактерій, які мають спільну назву мікробіота (мікрофлора) кишківника. Ледерберг в 2001 році визначив мікробіоту як "екологічну спільноту коменсальних, симбіотичних та патогенних мікроорганізмів, що поділяють простір нашого тіла". Сукупність генів, які кодують всі бактерії, відома як мікробіом [72]. Загальна довжина генів бактерій у кишківнику в 150 разів більша, ніж у геномі людини, а маса бактерій в організмі може досягати 1,5 кг, або ~ 2% від ваги середньостатистичної 75-кг людини [73].

Нещодавні наукові досягнення, зокрема впровадження в практику молекулярно-генетичних методик ("omics"), дозволили ідентифікувати склад мікробіоти та виявити специфічні мікроорганізми, що населяють кишківник [48]. Кишкова мікробіота складається з близько 2000 різноманітних бактеріальних видів. Бактеріальне навантаження в шлунку значно нижче, і воно збільшується в геометричній прогресії в травній системі від шлунку до

дванадцятипалої кишки, порожньої кишки та клубової кишки, а в кінцевому підсумку – до товстої кишки, яка містить від 10^9 до 10^{13} бактерій [72].

Коменсальні кишкові бактерії головним чином належать до чотирьох різних груп (філ), кожна з яких має свої біохімічні особливості: Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, Proteobacteria. У будь-якому мікробіоценозі, в тому числі і кишкового, завжди є види бактерій, які мешкають постійно (облігатна, основна, індигенна, резидентна мікрофлора), вони становлять 90% від загального числа усіх мікроорганізмів. Близько 10% становить підгрупа додаткової (супутньої, факультативної) мікрофлори. Невелику частку (0,01%) складають транзиторні види (випадкові, залишкова мікрофлора). Основна мікробіота товстої кишки включає в себе анаеробні бактерії родів Bacteroides, Bifidobacterium, непатогенні штами клостридій. Аеробні бактерії (кишкові палички, лактобацили, ентерококи та ін.) складають супутню мікрофлору. До залишкової мікрофлори відносять стафілококи, клостридії, протеї, гриби [72].

Фактори, що впливають на склад кишкової мікробіоти.

Експериментальні дослідження та за участю людей виявили, що на склад і функції мікробіома кишківника може суттєво впливати дієта. Інші фактори, такі як генетика, навколишнє середовище, режим пологів при народженні та метод годування немовлят, використання ліків, особливо антибіотиків, також впливають на кишковий мікробіом [74, 75].

Загальновідомо, що прямий вплив на кишкові бактерії має дієта, особливо споживання кисломолочних продуктів, що містять різноманітні пробіотичні бактерії. Відзначені в деяких дослідженнях вплив йогурту на енергетичний баланс і контроль маси тіла, а також зменшення маркерів запалення та втрата ваги, можуть опосередковуватись саме зміною мікробіоти кишківника [76-78].

Модуляторами складу та стабільності мікробіоти виступають ентероендокринні пептиди та інші продукти ендогенної секреції. Також важливе значення мають продукти харчування та інші фактори, такі як пробіотики, пребіотики, медикаменти та різні захворювання. Незважаючи на

той факт, що в складі мікробіома кишківника людини є певні постійні енетеротипи, існує величезна індивідуальна мінливість, і деякі з цих відмінностей пов'язані з хронічними захворюваннями.

Дисбіоз – це стан, при якому порушується гомеостаз мікробіома кишківника, що часто призводить до негативних змін в організмі. Однією з причин дисбіозу є дієта, яка може змінити склад мікробіоти кишківника та сприяти ожирінню та діабету [47]. Ожиріння та ЦД 2 типу характеризуються зміненою мікробіотою кишківника, запаленням та порушенням кишкового бар'єру. При цьому може існувати такий мікробіотичний профіль, який сприяє запаленню кишківника та подальшому системному запаленню низького ступеня, що, в свою чергу, сприяє розвитку ЦД 2 типу [73,79-81].

Отже, через складну метаболічну взаємодію з організмом людини мікробіота відіграє важливу роль у збереженні здорового стану організму та в патогенезі захворювань. Зокрема, мікробіота кишківника взаємодіє з імунною системою, сприяючи її нормальному розвитку та забезпечуючи стимулюючі та модулюючі сигнали впродовж усього життя. Між організмом людини та мікробіотою відбувається постійний біохімічний обмін, який підтримує метаболічне здоров'я суперорганізму, а його дисрегуляція є ознакою метаболічних розладів та запалення. Накопичені дані свідчать про те, що мікробіота кишківника відіграє важливу роль у розвитку ожиріння, пов'язаного з ним системного запалення ("метаболічної ендотоксемії") та резистентності до інсуліну. Проникність кишківника регулюють різноманітні сигнальні шляхи, які змінюються при ожирінні, сприяючи запаленню. Порушення мікробіального складу кишківника (дисбіоз) або відновлення його природної сталості за допомогою пробіотиків чинять суттєвий вплив на метаболізм і фізіологічні процеси та на здоров'я організму в цілому.

1.2.2. Механізми модуляції метаболічних процесів за участю кишкової мікробіоти

1.2.2.1. Шляхи взаємодії мікробіоти з організмом

Взаємодія між мікробіотою кишківника та організмом включає складну мережу метаболічних шляхів і біологічно активних молекул, секретованих кишковими бактеріями. Виявлено, що деякі з цих сполук упаковані в наночастинки, відомі як зовнішні мембранні везикули (ЗМВ). ЗМВ можуть потрапляти до системного кровообігу і переноситись в різні органи, включаючи головний мозок та лімфовузли, викликаючи при цьому різні імунологічні та метаболічні реакції. Останні дослідження демонструють, що ЗМВ можуть відігравати вирішальну роль в імунному гомеостазі та при гострих і хронічних запальних реакціях [81, 82].

В кишківнику існують різні механізми, що забезпечують сприятливий мікробіотичний склад, а також регулювання надмірного росту мікробіонтів і обмеження колонізації патогенів. Інтестинальний бар'єр, разом з ентероцитами, виділяє слиз і прозапальні молекули, які сприяють створенню вродженого та адаптивного імунітету. Епітеліальні клітини кишківника вистилають поверхню кишкового просвіту та відокремлюють мікробіоту кишок від імунної системи. Частину бар'єру складають келихоподібні епітеліальні клітини, які виділяють глікопротеїни, утворюючи слизовий шар, що безпосередньо контактує з бактеріями [83].

Мікробіота кишківника бере участь у засвоєнні поживних речовин та продукування енергії, а також різноманітних обмінних процесах, таких як перетворення холіну, бродіння та поглинання неперетравлюваних вуглеводів, продукції вітамінів, жирних кислот та амінокислот, абсорбції важливих мікроелементів, утворення вторинних жовчних кислот [71, 84]. Імунна система кишківника, кишкова мікробіота та її метаболіти формують кишковий імунітет, який слугує важливим модулятором гомеостазу глюкози та резистентності до інсуліну, пов'язаної з фенотипом ожиріння, а також впливає на такі процеси, як кишкова проникність, обмін імунними клітинами та доступність кишкових гормонів. Розуміння цих шляхів може виявити механізми, що лежать в основі

лікування інсулінорезистентності, наприклад, застосування метформіну та бариатричної хірургії, допомогти в розробці нових методів лікування [85, 86].

Згідно з цим обґрунтуванням, взаємодія між організмом і кишковим мікробіоценозом, що зв'язує метаболічну регуляцію та імунну систему, є новою концепцією, яка пропонує новий погляд на сприйняття кардіометаболічних ризиків. Ця взаємодія охоплює каскад імунних реакцій, активованих нещодавно визнаним класом метаболітів, які називаються «метаболіти, пов'язані з небезпекою» (“danger-associated metabolites”, DAM), оскільки вони спричиняють метазапалення [87]. Термін метазапалення визначається як хронічне запалення низького рівня в метаболічно активних органах, характерне для метаболічних захворювань. Хоча метазапалення відіграє вагомий роль у відновленні та регенерації тканин, хронічне запалення є шкідливим та може призвести до метаболічних аномалій.

Кишкова мікробіота взаємодіє з імунною системою, широко представлена в кишківнику. Ріст потенційно патогенних мікроорганізмів може викликати місцеву запальну реакцію шляхом локальної активації рецепторів вродженого імунітету, з наступною продукцією прозапальних цитокінів або токсичних сполук, що призводить до підвищення проникності слизової оболонки кишківника та сприяє системному запаленню, яке, в свою чергу, виступає одним з основних патофізіологічних факторів інсулінорезистентності та ЦД 2 типу.

Один з механізмів того, як спрямована модуляція мікробіоти кишківника може попередити дисметаболічні захворювання, пов'язується зі зниженням прозапального статусу шляхом впливу на транслокацію і системні концентрації ендотоксину ліпополісахариду (ЛПС) – компоненту зовнішньої клітинної стінки грамнегативних бактерій. Встановлено, що підвищений рівень в периферичній крові ЛПС асоційований з низькоступеневим запаленням та окислювальним стресом, що називається «метаболічною ендотоксемією». ЛПС є домінуючим екзогенним лігандом рецептора розпізнавання образів на поверхні імунних клітин – Toll-подібного рецептора 4 (TLR-4), який активує

вроджену імунну систему, ініціюючи вироблення прозапальних цитокінів. В клінічних дослідженнях у хворих на ЦД 2 типу спостерігали велику кількість *Escherichia coli* – бактеріального штаму, який вважають одним з головних джерел ЛПС у людини [58]. В експериментальних дослідженнях встановлено, що зниження проникності кишківника, модульоване пребіотичним лікуванням, корелювало з нижчими концентраціями в порталній плазмі прозапального середника ЛПС, при цьому спостерігали зменшення системного та печінкового запалення. [88].

Отже, склад мікробіоти кишківника людини є результатом двонаправленої взаємодії організму з його мікробним консорціумом. Експериментальні дослідження і клінічні дослідження за участю людей надають все більше доказів щодо наявності причинно-наслідкових взаємозв'язків між змінами складу мікробіома кишківника та розвитком ожиріння та ЦД 2 типу [89, 90].

1.2.2.2. Взаємозв'язок між станом вуглеводного обміну та балансом кишкової мікробіоти

Дослідження, проведені протягом останніх 20 років, вивчали роль мікробіоти кишківника як патофізіологічного фактора, який впливає на багато компонентів метаболічного синдрому, в тому числі на ступінь ІР та компенсацію вуглеводного обміну в хворих на ЦД 2 типу.

Дисбіоз асоціюється з важливими метаболічними наслідками та глибокою дерегуляцією: більш високою експресією мікробних генів, що кодують ферменти, пов'язані з вуглеводним обміном, і тенденцією до надмірного росту бактерій, які ефективніше отримують енергію з їжі, викликаючи надмірне накопичення жиру.

Опубліковано результати порівняльного вивчення профілів мікробіоти кишківника у 134 дорослих мешканців Данії з діабетом та 134 здорових осіб із нормальним глікемічним контролем (дослідження за типом випадок-контроль). Продемонстровано, що чисельність п'яти бактеріальних родів та 36 операційних таксономічних одиниць (ОТУ) була змінена у осіб, які страждають

на діабет, порівняно з тими, які мають нормальну регуляцію глюкози. Зокрема, бактерія *Akkermansia muciniphila*, що руйнує муцин, була виявлена у меншій кількості у мікробіоті осіб з предіабетом. Ці висновки дозволяють припустити, що зміни мікробіоти кишківника можуть являти собою ознаку захворювання та потенційний інструмент для виявлення осіб, які мають стан предіабету [91].

З використанням метагеномних підходів визначали склад мікробіоти кишківника у хворих на ЦД 2 типу залежно від порушення глікемічного контролю та інсуліночутливості. Глибоке секвенування мікробіальної ДНК кишківника у 345 осіб виявило, що пацієнти з ЦД 2 типу характеризувалися помірним ступенем мікробного дисбактеріозу кишківника, зменшенням кількості бактерій, що продукують бутират, та збільшенням різних умовно-патогенних збудників [58].

Той факт, що мікробіом кишківника людини впливає на метаболізм сироватки крові та асоціюється з резистентністю до інсуліну, продемонстровано у 277 датчан, які не страждають на діабет. Підвищений рівень амінокислот з розгалуженим ланцюгом (branched-chain amino acids – ВСАА) у людей з ІР корелював з мікробіомом кишківника, який характеризувався високим потенціалом для біосинтезу ВСАА і відсутністю генів, що кодують бактеріальні внутрішні транспортери цих амінокислот. Зв'язок між біосинтезом ВСАА та ІР забезпечували *Prevotella copri* та *Bacteroides vulgatus*. В експериментальному дослідженні за участю мишей було встановлено, що вищезазначені бактерії можуть індукувати ІР, посилювати непереносимість глюкози та збільшувати рівень ВСАА у крові [91].

Численні дослідження продемонстрували, що дієта з високим вмістом жиру може призвести до дисбіозу мікробіоти кишківника, що сприяє підвищенню проникності кишківника та розвитку метаболічної ендотоксемії. Це, в свою чергу, сприяє виникненню низькорівневого запалення та резистентності до інсуліну і, зрештою, ожиріння, діабету та інших порушень обміну речовин. Припускають, що споживання пробіотичних бактерій може благотворно вплинути на склад мікробіому кишківника. Залишаються не

вирішеними питання, чи існує такий стан кишківника, який сприяє його запаленню, системному запаленню низького ступеня та ЦД 2 типу, і якими найефективнішими методами, включаючи дієтичні втручання, можна змінити мікробіом кишківника на такий, що сприяє профілактиці захворювань.

Отримані на сьогодні дані в сукупності чітко свідчать про те, що склад/функція мікробіоти кишківника може сприяти регулюванню рівня глікемії та чутливості до інсуліну. Крім того, було виявлено, що антидіабетичні препарати, які знижують масу тіла та покращують метаболізм глюкози, при цьому значно змінюють склад мікробіоти кишківника [51]. Так, декілька доклінічних та клінічних досліджень встановили, що метформін модифікує склад мікробіоти кишківника, індукуючи ріст кількох бактерій, таких як *Akkermansia muciniphila* [92]. Крім того, перенесення фекалій від пацієнтів, які отримували метформін, до мишей, що не містять мікробів, покращило гомеостаз глюкози у тварин-реципієнтів [94]. Ці дані вказують на те, що мікробіота кишківника бере участь у зниженні рівня глюкози під впливом антидіабетичних засобів і свідчать, що мікробіота є перспективною терапевтичною мішенню при лікуванні ЦД 2 типу у контексті порушення глікемічного контролю. Оскільки ці препарати мають великий вплив на склад мікробіоти в кишківнику, це може частково пояснити суперечливі результати, виявлені в дослідженнях складу мікробіоти кишківника у пацієнтів із ожирінням та хворих на ЦД 2 типу. Це підкреслює актуальність розробки стандартизованих підходів до дослідження кишкового мікробіому з урахуванням вживання певних препаратів.

1.2.2.3. Зміни ліпідного обміну залежно від складу кишкової мікробіоти

Порушення ліпідного та енергетичного обміну є важливою ознакою метаболічного фенотипу, характерного для МС та фактором ризику розвитку ЦД 2 типу, що проявляється у змінах процесів абсорбції, транспортування, поглинання, депонування та метаболізму ліпідів [70].

Нові дослідження демонструють, що мікробіота може впливати на збільшення ваги та розвиток ожиріння за допомогою таких механізмів, як вироблення мікробних метаболітів, вплив на запальні реакції та на вісь кишечник – мозок [94].

Дослідження складу мікробіоти у людей з ожирінням та у мишей *ob/ob*, виявили, що збільшення маси тіла пов'язано зі зниженням різноманітності бактеріальної спільноти кишківника, а також зі зміною співвідношення *Bacteroidetes* / *Firmicutes* у бік зменшення фірмікутів та збільшення бактероїдів [95, 96].

Дефекти метаболізму ліпідів при ЦД 2 типу проявляються у вигляді дисліпідемії та характеризуються підвищенням рівня циркулюючого холестерину (ХС) та/або тригліцеридів (ТГ), підвищеним рівнем атерогенної фракції ліпопротеїдів низької щільності (ЛПВЩ) та зниженим – антиатерогенних ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ). Дисліпідемія є важливим фактором ризику судинних ускладнень та кардіометаболічних захворювань [96, 97].

Нещодавні дослідження за участю людей продемонстрували зв'язок між циркулюючими рівнями ТГ, ЛПНЩ, ХС та ЛПВЩ та складом мікробіому в кишківнику та виявили кілька таксонів, що корелюють із рівнями ліпідів. Вони включали *Eggerthella*, *Pasteurellaceae*, *Butyricimonas*. Виявлено негативну кореляцію між рівнями ТГ та різноманітністю кишкових мікробіонтів хворих на ЦД 2 типу, що може бути загальним показником стану здоров'я кишківника. Було встановлено, що вищий рівень ТГ у осіб із ожирінням та ЦД 2 типу пов'язаний з меншою чисельністю видів *Clostridium* незалежно від індексу маси тіла (ІМТ). Зафіксовано негативні кореляції між різноманітністю мікробіому кишківника та рівнем ХС-ЛПНЩ, а також позитивний зв'язок між ХС-ЛПВЩ та багатством мікробних видів *Clostridium* [96, 99].

Дослідження зв'язків між мікробним складом кишківника та ліпідами серед загальної популяції (893 особи) з використанням секвенування 16s rRNA встановило, що мікробіом кишківника пояснив 6% варіації тригліцеридів та 4%

варіації ЛПВЩ. Різноманітність мікробіому кишківника негативно корелювала з рівнем ТГ та позитивно – з рівнями ЛПВЩ. Збільшення різноманітності асоціювалось з більш сприятливими кардіометаболічними прогнозами. Також виявлено кілька таксонів, пов'язаних з ТГ та ЛПВЩ незалежно від ІМТ. До них належать *Eggerthella*, *Pasteurellacea*, *Butyrivimonas* [99].

У дослідженні 30 осіб із гіперхолестеринемією та 27 здорових контрольних осіб було виявлено різницю в коменсальних бактеріальних профілях між суб'єктами з гіперхолестеринемією та контролем. Профіль ліпідів цільної крові та профілі бактеріальних спільнот аналізували шляхом денатураційного градієнтного гель-електрофорезу. Як і слід було очікувати, у пацієнтів з гіперхолестеринемією рівень загального ХС, ТГ та ХС-ЛПНЩ був вищим, ніж у контролі, при цьому вони мали менше багатство та різноманітність мікробіоти кишківника, що вказує на потенційну роль мікробіоти кишківника у розвитку гіперхолестеринемії [100].

1.2.2.4. Вплив мікробних метаболітів ТМАО і КЛЖК на метаболізм організму

Мікробні метаболіти можуть безпосередньо впливати на обмін ліпідів та вуглеводів. В науковій літературі останнім часом надається увага потенційній участі триметиламіну-N-оксиду (ТМАО) як сполучної ланки між дієтою, мікробіотою кишківника та ССЗ.

ТМАО, що утворюється кишковими бактеріями переважно з харчового холіну та карнітину (через проміжні продукти триметиламін – ТМА та бетаїн), за умов хронічного підвищення його рівня може сприяти кардіометаболічним захворюванням [101].

Зростання рівня ТМАО може сприяти прогресуванню серцево-судинних захворювань через механізми окиснювального стресу та запалення ендотелію, активацію рецепторів-поглиначів, інгібування зворотного транспорту холестерину, сприяння кальцифікації судин та серцево-судинну дисфункцію. Виявлено, що ТМАО може посилити процес атерогенезу через

метаорганізмений метаболічний шлях, зокрема посилюючи запалення судин, погіршуючи функції судин і порушуючи гомеостаз холестерину на різних рівнях. ТМАО має зв'язок з виникненням артеріальних тромботичних розладів, із ризиком венозної тромбоемболії, включаючи тромбоз глибоких вен і легеневу емболію [102].

При фізіологічній концентрації в плазмі ТМАО зв'язується зі стрескіназою PERK ендоплазматичного ретикулуму і індукує експресію FoxO1 – основного фактора метаболічних розладів [103]. ТМАО активує інфламмасому NLRP3, що сприяє поляризації макрофагів M1 з подальшою диференціацією Th1 і Th17, що індукує прогресування реакції «трансплантат проти організму» під час прийому холіну [104]. Помірне підвищення ТМАО може бути непатогенним наслідком різноманітних факторів ризику (старіння, ожиріння, дисліпідемія, IP / ЦД, дисфункція нирок), що опосередковано відображує ризик ССЗ. ТМАО може перевищити патогенний поріг за умов ССЗ, вторинно сприяючи прогресуванню захворювання. Таким чином, ТМАО може являти собою прогностичний біомаркер раннього ризику ССЗ або вторинну мішень при встановленій хворобі [105, 106].

Існує багато механізмів, за допомогою яких ТМАО підвищує опосередкований кишковою мікробіотою ризик ССЗ. ТМАО впливає на ліпідний склад [107, 108], змінює склад і транспорт жовчних кислот, індукує вироблення С-реактивного білка, сприяє ендотеліальній дисфункції та підвищує сироваткові рівні прозапального ендотоксину ліпополісахариду (ЛПС). Крім того, ТМАО сприяє вивільненню Ca^{2+} із внутрішньоклітинних запасів і викликає протромботичний ефект *in vivo*, сприяє агрегації тромбоцитів шляхом активації шляхів Toll-подібних рецепторів (TLR) [109, 110].

В клінічному дослідженні вивчались зміни в кількості *Lactobacillus delbrueckii* (*L. delbrueckii*) і *Faecalibacterium prausnitzii* (*F. prausnitzii*) через 1 тиждень після введення арГПП-1 при лікуванні ЦД 2 типу [111]. Виявлено, що вид *F. prausnitzii*, на відміну від *L. delbrueckii*, мав значно вищу чисельність ($P = 0,002$) і значну негативну кореляцію з рівнем глюкози натще ($R = -0,689$, $P <$

0,001), але не корелював з ІМТ ($R = -0,056$, $P = 0,796$). Встановлено, що *F. prausnitzii* може бути одним із шляхів, через які глюкоза регулюється при лікуванні діабету 2 типу арГПП-1. В експериментальному дослідженні за участю мишей з ожирінням, зумовленим дієтою, вивчали стимуляцію на тлі терапії рецепторів ГПП-1 та ГПП-2 на склад мікробіоти кишківника. Комплексне профілювання змін мікробіома шляхом секвенування 16S рДНК після лікування ліраглутидом виявило дискретні зрушення у малопоширених видах і відповідних бактеріальних метаболічних шляхах, що свідчить про потенційний взаємозв'язок змін мікробіому з конвергентними біологічними ефектами сигналізації рецепторів ГПП-1 і ГПП-2 щодо споживання калорій, метаболізму глюкози та ліпідів [112].

Однією з найважливіших метаболічних функцій мікробіоти є вироблення КЛЖК (ацетату, пропіонату та бутирату) шляхом ферментації складних вуглеводів, наприклад, олігосахаридів і матеріалу стінок рослинних клітин. Потрапивши в кровообіг, КЛЖК можуть використовуватись для синтезу ліпідів або глюкози *de novo*, а також як енергетичні субстрати [70, 113-115].

КЛЖК – приклад взаємозв'язку між мікробіомом кишківника та організмом: дієта забезпечує неперетравлювані харчові волокна для росту бактерій, а кишкові бактерії, в свою чергу, продукують КЛЖК. Переважаючи коменсальні бактерії, що виробляють КЛЖК, представлені *Akkermansia muciniphilia*, *Prevotella* spp., *Ruminococcus* spp., *Coprococcus* sp., *Faecalibacterium prausnitzii*, *Eubacterium rectale* та *Roseburia* spp. КЛЖК є важливими модуляторами здоров'я кишківника та імунної функції, секреції кишкових гормонів та ліпогенезу, а також відіграють вирішальну роль у підтримці кислотного рН, що сприяє розповсюдженню певних видів бактерій.

Спочатку вважалося, що вільні жирні кислоти (ВЖК) служать лише джерелом енергії, тепер відомо, що ВЖК діють як ліганди для групи рецепторів клітинної поверхні, які називаються рецепторами ВЖК (free fatty acid receptors, FFAR), таким чином індукуючи внутрішньоклітинну передачу сигналів для здійснення різноманітних клітинних і тканинних ефектів. Усі FFAR є

рецепторами, пов'язаними з білком G (GPCR), які відіграють невід'ємну роль у регуляції метаболізму, імунітету, запалення, секреції гормонів / нейротрансмітерів тощо. На сьогодні відомо чотири різних типи FFAR [Blaak 2020]. FFAR3 і FFAR2 по суті є рецепторами КЛЖК, які реагують на всі КЛЖК, включаючи оцтову, пропіонову і масляну кислоти.

Рецептори FFAR2 беруть участь в регуляції секреції інсуліну в β -клітинах підшлункової залози. В умовах *in vitro* продемонстровано, що FFAR2 безпосередньо опосередковує стимулюючі ефекти ацетату і пропіонату на секрецію інсуліну, а також їх захисний ефект від апоптозу острівців підшлункової залози [116, 117]. За останні роки доведено важливу роль рецепторів КЛЖК (FFAR2 і FFAR3) у фізіології та при різних захворюваннях серцево-судинної системи, що здійснюється через нейрогормональний контроль кровообігу та гомеостазу жирової тканини [118, 119].

Сигнальна функція КЛЖК здійснюється також через їх взаємодію з поєднаними з G-протеїном рецепторами (GPCR, G protein-coupled receptors), які поширені в клітинах різних органів і тканин, таких як печінка, м'язи, ентеральні нейрони, а також в імунних клітинах. Така широка експресія чутливих до КЛЖК рецепторів вказує на важливість їх потенційних взаємодій по всьому організму. Зв'язування КЛЖК з рецепторами протеїну G веде до збільшення секреції ГПП-1 та пептиду РҮҮ ентероендокринними L-клітинами в товстій кишці, що покращує чутливість до інсуліну [113, 114, 120-122]. У багатьох дослідженнях повідомлялося про підвищення секреції інсуліну після впливу на КЛЖК, але в кількох інших дослідженнях існують суперечливі дані [116].

Так, передача сигналу КЛЖК через GPCR в ентероендокринних клітинах, клітинах підшлункової залози та адипоцитах відіграє важливу роль у регуляції метаболізму, через стимульовану бутиратом і пропіонатом секрецію глюкагоноподібного пептиду-1 і регулюючого апетит гормону РҮҮ [123, 124].

Ентероендокринні клітини вивільняють також ГПП-2 у відповідь на парентеральне введення бутирату, підвищуючи концентрацію ГПП-2 у плазмі. ГПП-2 збільшує площу поверхні епітелію в тонкій кишці шляхом посилення

проліферації та інгібування апоптозу. ГПП-2 також посилює експресію транспортерів глюкози, дипептидів і амінокислот в епітеліальних клітинах кишківника [125]. Отже підвищення вмісту бутирату в копрофільтраті пацієнтів після лікування арГПП-1 може відображати секрецію ендогенних інкретинів – ГПП-1, ГПП-2, РУУ, що одночасно сприяє покращенню функції кишкового епітелію, вуглеводного і ліпідного обміну, інсуліносекреторної функції.

На рис. 1 представлено деякі механізми дії мікробіальних метаболітів, через які кишковий мікробіом здійснює свій вплив на організм, у тому числі через епігенетичні модифікації експресії певних генів та дію на біосинтез їх білкових продуктів – ферментів і біоактивних пептидів. Вплив на зазначені шляхи може забезпечувати позитивні ефекти протидіабетичної фармакотерапії, зокрема із застосуванням препаратів групи арГПП-1.



Рис. 1. Метаболомічні ефекти КЛЖК та ТМАО мікробіального походження (СНС – симпатична нервова система).

Численні дослідження підтверджують високу ефективність препаратів групи арГПП-1, які сприяють поліпшенню вуглеводного та ліпідного обмінів, зменшенню ступеня загального та вісцерального ожиріння, зниженню серцево-судинного ризику. В цих ефектах задіяний вплив на вищевказані механізми, опосередковані бактеріальними метаболітами [126].

Передача сигналу КЛЖК через GPCR в ентероендокринних клітинах, клітинах підшлункової залози та адипоцитах відіграє важливу роль у регуляції метаболізму, зокрема, через стимульовану бутиратом і пропіонатом секрецію ГПП-1 і регулюючого апетит гормону PYY в ентероендокринних клітинах кишківника [123, 124].

КЛЖК можуть надходити в портальну циркуляцію та є важливими джерелами енергії для нашого організму. Печінка є основним місцем метаболізму головної КЛЖК – пропіонової кислоти, що походить з кишківника. Оскільки ~ 90% пропіонату поглинається з ворітної вени, пропіонат бере участь в активації глюконеогенезу та діє як прямий субстрат для регулювання споживання їжі та метаболізму глюкози через стимуляцію секреції кишкових гормонів YY (PYY) та ГПП-1 [119, 121, 127- 129]. Крім того, пропіонат зменшує рівень печінкових тригліцеридів, покращує чутливість до інсуліну та сприяє метаболічному гомеостазу. Тривале надходження пропіонату в кишківник зменшує приріст внутрішньочеревного жиру, вміст ліпідів у гепатоцитах та синтез холестерину в печінці у людей [119]. Отже, пропіонат

являє собою модель взаємовигідних взаємодій між організмом та мікробіотою. *Akkermansia muciniphila*, бактерія, що руйнує муцин, продукує пропіонат та ацетат, зменшує масу жиру, метаболічну ендотоксемію, запалення жирової тканини та резистентність до інсуліну, спричинену метаболічним розладом, пов'язаним з дієтою. Дані результати свідчать про те, що *A. muciniphila* може відігравати важливу роль в профілактиці та лікуванні метаболічних розладів [88].

Пропіонат, бутират та ацетат викликають місцеве вивільнення пептиду YY (PYY) та ГПП-1 з ентероендокринних L-клітин, регулюючи травлення та функцію печінки, модулюючи ліпідний обмін з непрямим впливом на зберігання жирних кислот у печінці. ГПП-1 і PYY мають рецептори, що експресуються в мозку, які беруть участь у регуляції енергетичного балансу [51, 114, 130, 131].

Хоча модуляція гомеостазу ліпідів та ліпопротеїнів мікробіотою кишківника в основному ще не повністю досліджена, нові дані свідчать про важливу роль мікробіоти в регулюванні всмоктування жиру з їжі та у подальшому метаболізмі ліпідів. Докази також свідчать про потенційну роль у регулюванні накопичення ліпідів у печінці та розвитку стеатозу печінки. Ці потенційні зв'язки пояснюються опосередкованою мікробіотою регуляцією кишкової ентероендокринної системи та секрецією певних кишкових пептидів [132, 133].

Таким чином, останні молекулярно-генетичні досягнення дозволили ідентифікувати склад мікробіальної спільноти кишківника (мікробіоти) та дослідити її значення в нормі і при патології, включаючи ожиріння, діабет та запальні захворювання. Мікробіота кишківника знаходиться у постійній взаємодії з організмом, що включає складну мережу метаболічних шляхів і біологічно активних молекул, секретованих кишковими бактеріями (коротколанцюгові жирні кислоти, жовчні кислоти, вітаміни, амінокислоти, ліпополісахариди та ін.). Ці механізми беруть безпосередню участь у регуляції метаболічних процесів та формуванні гормональних, метаболічних та

конституційних ознак, які складають кінцевий фенотип організму. Зокрема, склад кишкової мікрофлори має велике значення у регуляції маси тіла, рівня глікемії, чутливості до інсуліну, секреції ентерогормонів, метаболізму ліпідів і пуринових сполук у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу, що підкреслює актуальність досліджень у даному напрямку.

1.3. Інкретинова дисфункція у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу та ефекти інкретиноміметиків

Відомо, що при метаболічному синдромі та етіологічно пов'язаному з ним ЦД 2 типу мають місце мультиорганні метаболічні та функціональні порушення. Якщо спочатку в якості основних органів-мішеней захворювання розглядали «тріумвірат» тканин (м'язи, печінка та β -клітини), то з часом цей список розширився до 8 компонентів, включивши жирові клітини (прискорений ліполіз), нирки (підвищена реабсорбція глюкози), мозок (резистентність до інсуліну), α -клітини (гіперглюкагонемія), шлунково-кишковий тракт (дефіцит/резистентність до інкретину), які всі відіграють важливу роль у розвитку непереносимості глюкози у хворих на ЦД 2 типу. Разом вищезазначені компоненти складають «зловісний октет», і цей список з часом дедалі розширюється [134, 135].

За останні десятиліття встановлено, що роль ШКТ в підтримці гомеостазу значно більша, ніж вважалось раніше. Це зумовлено, з одного боку, секрецією інкретинів локалізованими в кишковому епітелії ентероендокринними клітинами, з іншого боку – присутністю мікробіальної спільноти, яка відіграє ключову роль у багатьох метаболічних процесах [136].

Гормони інкретинової групи секретуються у відповідь на прийом їжі ентероендокринними клітинами кишківника, які є частиною внутрішньої фізіологічної системи регуляції гомеостазу глюкози. Існує 2 види ендогенних інкретинів: глюкозозалежний інсулінотропний поліпептид – ГІП та ГІП-1. При нормальному або підвищеному рівні глюкози крові ГІП-1 і ГІП сприяють збільшенню синтезу й секреції інсуліну бета-клітинами підшлункової залози та

пригнічують секрецію глюкагону. Ефект інкретинів при ЦД 2 типу знижений або відсутній, що сприяє порушенню глікемічного контролю [137, 138].

ГПП-1 є продуктом гена препроглюкагону, який експресується в ентероендокринних L-клітинах кишківника, в α -клітинах підшлункової залози та в деяких нейронах у стовбурі мозку. L-клітини, що розташовуються в слизовій оболонці клубової та товстої кишок, секретують ГПП-1 ендокринно (у кровотік) або паракринно, безпосередньо в клітини-мішені, через клітинні відростки [139].

ГПП-1 здійснює інсулінотропну дію через 2 механізми: 1) ГПП-1, що виділяється з кишківника, активує рецептори, експресовані в вузлових гангліях мозку, що посилює глюкозозалежну секрецію інсуліну через блукаючі нерви, і 2) ГПП-1, що виділяється α -клітинами підшлункової залози, активує рецептори, експресовані в β -клітинах, паракринним чином [140]. ГПП-1 проявляє інсулінотропну та глюкагоностатичну дію, тобто відповідає за функціональний баланс α - і β -клітин підшлункової залози та стимуляцію першої фази секреції інсуліну, сприяючи зниженню як базальної, так і постпрандіальної глікемії.

ГПП-1 за рахунок рецепторів, розташованих в головному мозку, бере участь у регуляції харчової поведінки, будучи анорексигенним фактором, і таким чином забезпечує короткотривалий контроль регуляції енергобалансу і як наслідок зниження маси тіла [141]. Через взаємодію з рецепторами ГПП-1, які широко експресовані в багатьох тканинах, ГПП-1 також виявляє цілий ряд позаглікемічних (плейотропних) ефектів, включаючи дію на швидкість просування хімусу в ЖКТ, артеріальний тиск, ліпідний спектр плазми крові, рівні маркерів запалення. ГПП-2 посилює функцію кишкового епітеліального бар'єру через пара-клітинні і транс-клітинні шляхи, зміцнюючи тісні контакти між клітинами епітелію [137, 139, 142].

Агоністи рецептора ГПП-1 (арГПП-1) є ефективними сучасними протидіабетичними засобами у терапії ЦД 2 типу. АрГПП-1 чинять плейотропну дію на підшлункову залозу, мозок та інші органи-мішені, діючи через системні або ентеральні нейроендокринні клітинні шляхи; ефекти ГПП-1

включають вплив на глікемію та зниження маси тіла, протизапальну дію, тому арГПП-1 рекомендовані пацієнтам із ЦД 2 типу з серцево-судинними факторами ризику [137, 143].

Отже, порушення секреції та дії інкретинових гормонів відіграє суттєву роль в патогенезі ожиріння та ЦД 2 типу. Обидва ці стани характеризуються хронічним слабким запаленням, яке асоціюється з розвитком резистентності до інсуліну. Існують докази того, що мікробіота кишківника та деякі метаболіти, які вони виробляють, можуть сприяти розвитку ІР при ожирінні та ЦД 2 типу, можливо, через вплив на ентероендокринну секрецію інкретинів та ініціацію хронічного низькорівневого запалення (метазапалення) [87]. Взагалі, тристороння взаємодія між мікробіотою кишківника, імунною системою та метаболізмом є важливим фактором у підтримці гомеостазу, а порушення цих взаємозв'язків може спричиняти ожиріння та ЦД 2 типу [137, 255].

1.3.1. Механізми впливу мікробіотичного дисбіозу кишківника на секрецію інкретинів

Клінічними та експериментальними дослідженнями продемонстровано, що певна частина ефекту інкретинів може бути зумовлена впливом кишкової мікробіоти. Так, виявлено, що ферментаційна дія мікробіоти кишківника в товстій кишці може впливати на кількість ентероендокринних клітин. Додавання до раціону неперетравлюваних вуглеводів, таких як олігофруктоза, покращувало толерантність до глюкози, реакцію на інсулін та зменшувало споживання їжі у мишей та у людей. Ці корисні метаболічні ефекти були пов'язані з більш високим рівнем ГПП-1 у плазмі крові [88, 144].

Мікробіотичний дисбактеріоз кишківника, навпаки, знижував експресію рецептора ГПП-1 (ГПП-1R) та нейрональної синтази оксиду азоту (nNOS) в ентеральній нервовій системі та перешкоджав індукованому ГПП-1 виробленню оксиду азоту (NO) через механізм, залежний від рецептора розпізнавання образів (pattern recognition receptor – PRR), отже, запобігав

активації осі кишечник-мозок-периферія, що необхідна для контролю секреції інсуліну та спорожнення шлунка [144].

Деякі бактерії можуть безпосередньо регулювати секрецію інкретинів метаболічними сполуками, які вони виробляють. Так, сірководень (H_2S) – біоактивний метаболіт, що виробляється в товстій кишці сульфат-відновлюючими бактеріями, може стимулювати кишкову продукцію ГПП-1. В експерименті на мишах, яким додавали в їжу пребіотик хондроїтинсульфат, сприяло збагаченню мікробіоти кишок сульфаторедуруючими бактеріями. Після 4 тижнів прийому пребіотиків у тварин підвищувався рівень ГПП-1, покращувалась реакція на інсулін та контроль глікемії, зменшувалось споживання їжі [145].

У гризунів зміни композиції мікробіоти впливали на секрецію кишкового гормону ГПП-2, а також на інсулінотропні інкретини ГПП-1, GIP і PYY. Після введення пребіотиків у мишей збільшувався також рівень ГПП-2, це призводило до зниження проникності кишківника, що відбувалося за рахунок підвищення експресії таких білків, як окклюдин і зонулін, які забезпечують тісні контакти кишкових епітеліальних клітин [88, 146]. Збільшення вивільнення ГПП-2, ймовірно, було опосередковано змінами в кишківнику рівнів коротколанцюгових жирних кислот (КЛЖК), зокрема бутирату, утворюваного при ферментації пребіотиків кишковою мікробіотою [122]

Активация сполучених з протеїном G рецепторів Gpr41 та Gpr43 (FFAR2 та FFAR3) в культивованих кишкових ентероендокринних L-клітинах за допомогою КЛЖК (ацетату і пропіонату) викликала вивільнення ГПП-1, що також може впливати на чутливість до інсуліну через інкретинову відповідь [147].

В останні десятиліття було виявлено, що розвитку IP та прогресуванню до ЦД 2 типу сприяє хронічне низькорівневе «метаболічне» запалення (місцеве та системне), яке також називають «мета-запаленням». М'яке запалення при ЦД 2 типу пов'язане як із порушенням дії інсуліну, так і з його зниженою секрецією,

хоча тригери цих шляхів поки що залишаються невідомими. Спільнота мікроорганізмів у ШКТ відіграє вагомую роль в метаболізмі людини, зокрема, діючи як імуномодулятор, що може бути рушійним фактором запалення при ожирінні та ЦД 2 типу, які характеризуються зміненим складом мікробіоти кишківника [136, 148].

Отже, враховуючи роль інкретинів у підтримці гомеостазу в організмі, набуває особливого значення дослідження механізмів їх дії, пов'язаних з функцією мікробіоти кишківника. Останнім часом з'ясовано, що частина ефектів інкретинів зумовлена впливом кишкової мікробіоти, опосередкованим утворюваними бактеріями метаболітами, серед яких коротколанцюгові жирні кислоти (ацетат, пропіонат, бутират та ін.), похідні жовчних кислот, сірководень тощо. Ці метаболіти можуть стимулювати секрецію ГПП-1, взаємодіяти з рецепторами або модулювати експресію генів деяких структурних та рецепторних білків, зокрема рецепторів ГПП-1. Нові відкриття свідчать про те, що мікробіота кишківника відіграє важливу роль у розвитку ожиріння, метаболічного синдрому та ЦД 2 типу, а також бере участь у здійсненні багатьох ефектів пероральних протидіабетичних засобів. В клінічних та експериментальних дослідженнях виявлено, що лікування діабету агоністами рецепторів ГПП-1 може викликати зміни профілю кишкової мікробіоти на такий, що відповідає більш худорлявому фенотипу, тобто ефект зниження маси тіла може частково зумовлюватись саме мікробіальними механізмами. У той же час, випадки резистентності до аналогів ГПП-1 можуть бути пов'язані з несприятливими змінами складу мікробіоти кишківника. Залишається недостатньо вивченим питання про те, які біомаркери можуть бути використані в клінічних умовах для прогнозування ефективності протидіабетичних препаратів, а також як впливає корекція мікробіоти на ці процеси. Тому дослідження складу мікробіоценозу кишківника та розробка методів його корекції сьогодні є одним з перспективних напрямків у створенні ефективних схем лікування ЦД 2 типу й попередження розвитку його ускладнень.

1.4. Особливості дії фармакологічних засобів у хворих на цукровий діабет 2 типу за умов дисбіозу

В дослідженнях останніх десятиріччів встановлено, що якісне та кількісне порушення складу кишкової мікробіоти (дисбіоз) відіграє вагомий роль у прогресуванні метаболічних захворювань, зокрема ЦД 2 типу. При цьому вплив кишкової мікробіоти поширюється на ефекти багатьох протидіабетичних засобів, включаючи вплив на біодоступність пероральних препаратів, їх фармакокінетичні та фармакодинамічні властивості [20, 45, 52, 71, 149 - 151].

1.4.1. Ефекти мікробіоти та фармакокінетика лікарських засобів інкретинової групи

У сучасних міжнародних рекомендаціях з лікування ЦД 2 типу, що ґрунтуються на результатах новітніх клінічних досліджень з високим рівнем доказовості, наголошується на необхідності всебічного управління захворюванням, включаючи вплив не тільки на параметри глікемічного контролю, а й на інші чинники ризику, в першу чергу з боку серцево-судинної системи і нирок [1, 2, 152]. Значний прогрес, досягнутий у розумінні патофізіологічних механізмів розвитку ЦД 2 типу, сприяв появі нових антигіперглікемічних препаратів, зокрема агоністів рецепторів глюкагоноподібного пептиду-1 (арГПП-1), в основі дії яких лежить вплив на секрецію інсуліну і глюкагону через рецептори ентероендокринних гормонів – інкретинів.

Препарати групи аналогів ГПП-1 (глутиди) демонструють ефективне зниження глікозильованого гемоглобіну та низький ризик гіпоглікемій, а також проявляють виражені плейотропні ефекти, включаючи анорексигенну дію та гальмування спорожнення шлунка. Враховуючи дані про те, що порушення ефектів ГПП-1 відіграє значну роль у формуванні фенотипових особливостей

(за типом ожиріння), терапія з використанням аналогів ГПП-1 може забезпечити успішний клінічний підхід до управління надмірною вагою тіла та перебігом ЦД 2 типу. Низкою рандомізованих контрольованих клінічних досліджень та мета-аналізів доведено, що різні представники препаратів даної групи здатні не лише знижувати рівень глюкози крові та сприяти зменшенню маси тіла, але і достовірно зменшувати ризик розвитку серцево-судинних подій і порушення ниркової функції в пацієнтів з ЦД 2 типу, незалежно від фармакокінетичних властивостей цих препаратів (короткої або подовженої дії) [151, 153 - 155, 156 - 161].

Агоністи рецепторів ГПП-1 відрізняються за своїми фармакокінетичними властивостями, тривалістю дії та клінічною ефективністю. Засоби короткої дії, які вводяться 1-2 рази на день (екзенатид, ліксисенатид), мають більший ефект щодо зниження прандіального рівня глюкози в крові, вони переважно гальмують спорожнення шлунка, і цей вплив зберігається під час тривалого лікування. Аналоги ГПП-1 тривалої дії (ліраглутид, екзенатид один раз на тиждень, дулаглутид, альбіглутид, семаглутид) чинять вплив переважно на базальний рівень глюкози плазми крові і HbA1c за рахунок інсулінотропної та глюкагоностатичної дії, проте ефект на спорожнення шлунка знижується з часом (ефект тахіфілаксії – толерантність рецепторів ГПП-1) [7, 137, 162].

Оскільки дисглікемія у хворих на ЦД 2 типу нерідко супроводжується недостатністю секреції ГПП-1, ефективними у цих хворих можуть бути адекватні дози агоністів рецепторів ГПП-1 (арГПП-1). Результати клінічних досліджень продемонстрували, що застосування арГПП-1 може спричинити більшу втрату ваги, ніж можна досягти, лише обмеживши споживання їжі. До додаткових механізмів, які лежать в основі ефекту схуднення, можуть належати ефекти кишкової мікробіоти, про що свідчать, наприклад, результати дослідження, в якому прийом ліраглутиду 11 пацієнтами з ЦД 2 типу протягом 6 тижнів сприяв зниженню рівня глікемії паралельно зі зменшенням утворення газів (водню і метану) при лактулозному дихальному тесті, що є непрямим свідченням позитивних змін мікрофлори кишківника [163].

Проте в деяких випадках спостерігається резистентність до аналогів ГПП-1, однією з причин якої може бути дисбіоз кишкової мікробіоти. Дисбіоз призводить до зменшення експресії рецептора ГПП-1 та синтази оксиду азоту в нервовій системі кишківника та запобігає індукованому ГПП-1 виробленню оксиду азоту. Блокування сигналів рецепторів ГПП-1 перешкоджає активації осі «кишечник — мозок», що здійснює контроль секреції інсуліну та спорожнення шлунка [164, 165].

Як у досліджах на тваринах, так і в клінічних дослідженнях за участю людей, було встановлено, що ожиріння та дисліпідемія пов'язані зі зміною чисельності, різноманітності та метаболічної функції мікробіоти кишківника, зокрема відзначено більшу чисельність Firmicutes та зменшення кількості Bacteroidetes [131, 166, 167].

Агоніст рецептора ГПП-1 тривалої дії ліраглутид був визнаний перспективним засобом проти ожиріння за його «додатковий вплив» на зниження ваги у людей з ожирінням та/або діабетом за рахунок зменшення споживання їжі та гальмування спорожнення шлунка, викликаного ГПП-1.

Встановлено, що продукти мікробного бродіння, такі як КЛЖК, можуть стимулювати вивільнення ГПП-1 і сприяти глікемічному гомеостазу. Результати експериментів з введення ліраглутиду щурам-самцям із діабетом продемонстрували, що ліраглутид підвищував вміст бактерій, що продукують КЛЖК, таких як Bacteroides, Lachnospiraceae, та пробіотичних бактерій, включаючи Bifidobacterium [168, 169].

В експериментальних дослідженнях було виявлено, що ліраглутид збільшував чисельність *A. muciniphila*, *Allobaculum*, *Anaerostipes*, *Blautia*, *Butyrivibrio*, *Desulfovibrio*, *Lactobacillus*, *Turicibacter* та бактерій, що продукують КЛЖК, та зменшував кількість Bacteroidales, Clostridiales, Proteobacteria [170-172].

У хворих на ЦД 2 типу також зафіксовані позитивні зміни профілю мікробіоти, пов'язані з лікуванням арГПП-1. Так, в групі з 40 пацієнтів виявлено, що рівень *Megamonas* суттєво корелював із старшим віком,

тривалістю діабету та діабетичною ретинопатією, Clostridium – з сімейною історією діабету, а Oscillospira – з діабетичною ретинопатією та периферичною нейропатією [173].

Таким чином, на сьогодні встановлено існування двонаправленого взаємозв'язку між кишковою мікробіотою та ентероендокринною функцією кишечника: бактеріальні метаболіти можуть стимулювати продукцію інкретинових гормонів, які проявляють інсулінотропні та глюкагоностатичні ефекти. В свою чергу, ендогенні інкретини або препарати аналогів інкретинів (агоністи рецепторів ГПП-1) чинять позитивний вплив на склад кишкового мікробіоценозу, сприяють збагаченню продуцентами КЛЖК та пробіотичними бактеріями. Отримані експериментальні та клінічні дані дозволяють припустити, що значні зміни мікробіоти кишківника, пов'язані з лікуванням арГПП-1, незалежно від їх фармакокінетичних властивостей, можуть зменшити системне запалення та сприяти прояву протидіабетичних ефектів терапії на основі інкретинів.

1.4.2. Вплив пребіотиків/пробіотиків на секрецію інкретинів

Важливим механізмом впливу мікробіоти кишківника на гормонально-метаболічні процеси в організмі є модуляція ентероендокринної секреції, тобто утворення специфічними клітинами ендотелію кишківника біологічно активних пептидних сполук – ентерогормонів, які регулюють залежно від надходження їжі виділення інсулярних та контрінсулярних гормонів та впливають на деякі центральні механізми, що регулюють харчову поведінку та просування хімусу [174].

На сьогодні накопичено багато доказів того, що модуляція кишкової мікробіоти за допомогою пробіотиків (корисних бактеріальних штамів) у сполученні з пребіотиками (мікробіальними продуктами або дієтичними інгредієнтами) може забезпечити покращення контролю ЦД 2 типу, надаючи можливість впливу на основні патогенетичні аспекти дисметаболічного стану [141, 175].

Коли пробіотики надходять до кишківника, вони сприяють зброджуванню неперетравлюваних вуглеводів з їжі та підвищенню в кишківнику вмісту КЛЖК, головним чином ацетату, пропіонату та бутирату. Встановлено, що КЛЖК, гідролаза солей жовчних кислот (BSH), метаболічні ендотоксини (ЛПС) та система ендоканабіноїдів (eCB) відіграють важливу роль в регулюванні адипогенезу, секреції інсуліну, накопичення жиру, гомеостазу енергії та рівня холестерину. Тому мікробіота кишківника може служити потенційною терапевтичною мішенню для впливу на ініціювання та розвиток метаболічного синдрому та ЦД 2 типу [176].

Повідомлялося, що пробіотичні втручання, що стимулювали секрецію інкретинів, забезпечували покращення контролю рівня глюкози та стану хворих на ЦД 2 типу. Виявлено, що бактеріальні метаболіти ацетат, пропіонат та бутират стимулювали секрецію кишкових гормонів через два сполучені G-протеїном рецептори, відомі як рецептори вільних жирних кислот FFAR3 та FFAR2 (або GPR41 та GPR43). Активація цих рецепторів стимулює секрецію кишкових гормонів: ГПП-1 і 2, 5-НТ, PYY [150].

Вивільнення цих ентерогормонів чинить позитивний вплив на кишкову функцію. Так, ГПП-1 зменшує інсулінорезистентність та метаболічне запалення; ГПП-2, який секретується спільно з ГПП-1, може посилити проліферацію епітелію кишківника та зменшити проникність кишок, а також уповільнює спорожнення шлунка та моторику кишківника, сприяє поліпшенню поглинання поживних речовин та посиленні імунної функції; у центральних нейронах ГПП-2 підвищував чутливість печінки до інсуліну та відігравав ключову роль у контролі гомеостазу глюкози. 5-НТ (5-гідрокситриптамін) – важливий нейромедіатор, який бере участь у регулюванні шлунково-кишкової моторики та секреторних функцій, що регулюють кишкову проникність, сприяють перистальтиці кишківника та зменшують засвоєння організмом харчової енергії. Пептид YY (PYY) (продукт гена глюкагону в ентероендокринних L-клітинах) в шлунково-кишковому тракті, регулює такі фізіологічні ефекти травної системи, як екзокринна секреція підшлункової

залози, секреція шлункової кислоти, моторика шлунково-кишкового тракту, скорочення жовчного міхура та всмоктування води та електролітів у товстій кишці [122, 129].

З використанням мишей, вивчених у стерильних умовах (germfree – GF), вивчали вплив мікробіоти кишківнику на взаємозв'язок експресії ГПП-1/рецепторів ГПП-1 та моторики травного тракту. Тваринам GF перорально вводили бактеріальну суспензію з фекалій тварин, що не мають патогенів, тим самим відновлюючи кишковий мікробіом. З використанням імуногістохімічних методів виявлено, що після відновлення мікробіоти кишківнику у мишей GF кількість ГПП-1R-позитивних клітин по всій внутрішній стінці травного тракту була значно меншою, ніж у контрольних мишей GF без відновлення. Час транзиту травним трактом був значно коротшим у мишей GF з відновленою мікробіотою, ніж у контрольних мишей GF, і корелював із кількістю GLP-1R-позитивних клітин. Результати засвідчили, що мікробіота кишківнику може прискорити або принаймні змінити моторику травного тракту, пригнічуючи експресію рецепторів ГПП-1 у нервових клітинах ендотелію по всьому травному тракту [177].

Ефективність індукції секреції інкретинів за допомогою декількох бактеріальних штамів була підтверджена у людей. У проспективному рандомізованому дослідженні, що включало 21 особу з глюкозотолерантістю, щоденне споживання *Lactobacillus reuteri* SD5865 протягом 4 тижнів підвищило стимульовану глюкозою відповідь на ГПП-1 на 76% порівняно з контрольною групою. Посилена секреція ГПП-1 була пов'язана зі збільшенням концентрації інсуліну та С-пептиду на 49 та 55% відповідно [178].

Експериментально доведено, що споживання пребіотиків може регулювати ентероендокринну диференціацію L-клітин та відповідь на ГПП-1 у мишей з індукованим дієтою ожирінням. Підвищена продукція ГПП-2 після пребіотичної дієти у тварин була пов'язана зі збільшенням кількості корисних бактерій кишківника, поліпшенням цілісності кишкового бар'єру та зменшенням метаболічного запалення та ендотоксемії [88].

Продукти мікробного бродіння, такі як КЛЖК, що утворюються завдяки пребіотичним бактеріям, можуть стимулювати вивільнення ГПП-1 і сприяти глікемічному гомеостазу. Так, введення ліраглутиду щурам-самцям із діабетом виявило підвищення кількості бактерій, що продукують КЛЖК, таких як *Bacteroides*, *Lachnospiraceae*, та пробіотичних бактерій, включаючи *Bifidobacterium* [168].

Іншими ключовими кишковими регуляторами ліпідного та холестеринового обміну є жовчні кислоти, які беруть участь у полегшенні кишкової абсорбції та транспортуванні харчових поживних речовин, вітамінів та ліпідів. У моделях на тваринах жовчні кислоти сприяли вивільненню ГПП-1 з ентероендокринних L-клітин за рахунок активації рецептора, зчепленого з білком Takeda-5 (TGR5), тим самим впливаючи на секрецію інсуліну та чутливість до інсуліну в організмі [99].

Таким чином, велика кількість даних свідчить про взаємозв'язки між секрецією L-клітинами ентероендокринних пептидів, таких як ГПП-1, ГПП-2, PYY, та процесом ферментації мікробіотою кишківника специфічних пребіотиків або інших неперетравлюваних вуглеводів. Останні результати демонструють, що дієтичне маніпулювання мікробіотою кишківника з використанням поживних речовин або специфічних мікробів може стимулювати секрецію ГПП-1 у гризунів та людини [80, 179].

Накопичені на сьогодні наукові дані свідчать про те, що мікробіота кишківнику виконує в організмі низку функцій, пов'язаних з регуляцією ендокринної секреції, засвоєнням та депонуванням поживних речовин, підтримкою метаболічного гомеостазу та самопочуття, а також виступає епігенетичним чинником формування метаболічного фенотипу. Отже, мікробіота кишківника може служити потенційною терапевтичною мішенню для впливу на розвиток ожиріння, МС та ЦД 2 типу. Залишається недостатньо вивченим в клінічних умовах вплив протидіабетичної терапії агоністами рецепторів ГПП-1 на кишковий мікробіотичний склад у пацієнтів з ЦД 2 типу літнього віку залежно від фенотипових особливостей, таких як ступінь ожиріння, рівень

вісцерального жиру, ентеросекреторна функція кишківника та підшлункової залози, стан компенсації вуглеводного, ліпідного та пуринового обмінів.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Загально-клінічна характеристика обстежених пацієнтів і дизайн дослідження

За час підготовки роботи було обстежено загалом 530 хворих на ЦД 2 типу. До дослідження включено 153 пацієнта (84 жінок та 69 чоловіків), віком від 31 до 75 років ($54,59 \pm 10,6$ років, $M \pm SD$), тривалість ЦД 2 типу від 1 до 29 років ($7,06 \pm 5,77$ років, $M \pm SD$), які проходили клінічне обстеження у відділі вікової ендокринології та клінічної фармакології ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка» НАМН України. Усі пацієнти підписували «Інформовану добровільну згоду пацієнта на проведення діагностики, лікування та на проведення операції та знеболення» відповідно до наказу Міністерства охорони здоров'я України 14 лютого 2012 року № 110, розробленого на основі Гельсінської декларації 1975 року та її зміненого й доповненого варіанта 2000 року.

Критерії включення: підписана інформована згода, діагноз ЦД 2 типу (тривалість понад 6 місяців), прийом стабільної протягом 6 місяців пероральної цукрознижувальної терапії (метформін, похідні сульфанілсечовини, іНЗКТГ), антигіпертензивної та гіполіпідемічної терапії, сталий раціон харчування на час проведення дослідження.

Критерії виключення: прийом аналогів людського глюкагоноподібного пептиду-1 (ГПП-1), наявність активних запальних процесів, гострого або хронічного панкреатиту в анамнезі, важких уражень печінки та жовчних шляхів (підвищення АЛТ, АСТ більш ніж у 2,5 рази), жовчно-кам'яної хвороби, ШКФ нижче 30 мл/хв; діабетичний кетоз; артеріальна гіпертензія, не контрольована прийомом лікарських засобів або ендокринного генезу; інфаркт міокарда, інсульт, госпіталізація з приводу нестабільної або транзиторної ішемічної стенокардії протягом 60 днів до дня включення в дослідження, серцева недостатність III-IV ФК за NYHA; онкологічні захворювання в анамнезі, зокрема наявність в сімейному анамнезі випадків медулярної карциноми або множинної ендокринної неоплазії (у т.ч. МЕН-2); нестабільна діабетична ретинопатія, макулопатія; вагітність.

Обстеження пацієнтів включало наступні аспекти (табл. 2.1):

Таблиця 2.1. Протокол обстеження

	Візит1 (скринінг)	Візит 2 (на тлі лікування)
Оцінка критеріїв включення в дослідження	x	
Підписання інформованої згоди	x	
Анамнез	x	
Оцінка антропометричних даних (ОТ, ІМТ), параметрів композиції тіла (вісцеральний жир, %жиру, %води, м'язева маса, метаболічний вік) за допомогою методу	x	x

біоімпедансу		
Біохімічний аналіз крові: глікований гемоглобін, глюкоза натще, ліпідний профіль, індекс НОМА	x	x
Імуноферментний аналіз: ТМАО, ГПП-1	x	x
Визначення 8-iso-PGF2 α ІФА методом	x	
Визначення коротколанцюгових жирних кислот методом хроматографії у копрофільтраті	x	x
Оцінка якості життя шляхом анкетування *	x	x
Небажані явища	x	x

Примітка: * - госпітальна шкала тривоги та депресії; опитувальник впорання зі стресом; шкала дистресу при діабеті; оцінка гормонального дисбалансу кортизолу

На початку дослідження середній рівень HbA1c у 153 обстежених пацієнтів становив $7,83 \pm 1,55$ % (M \pm SD). Концентрація глюкози в крові натще $8,06 \pm 2,37$ ммоль/л (M \pm SD) (рис.2.1.)

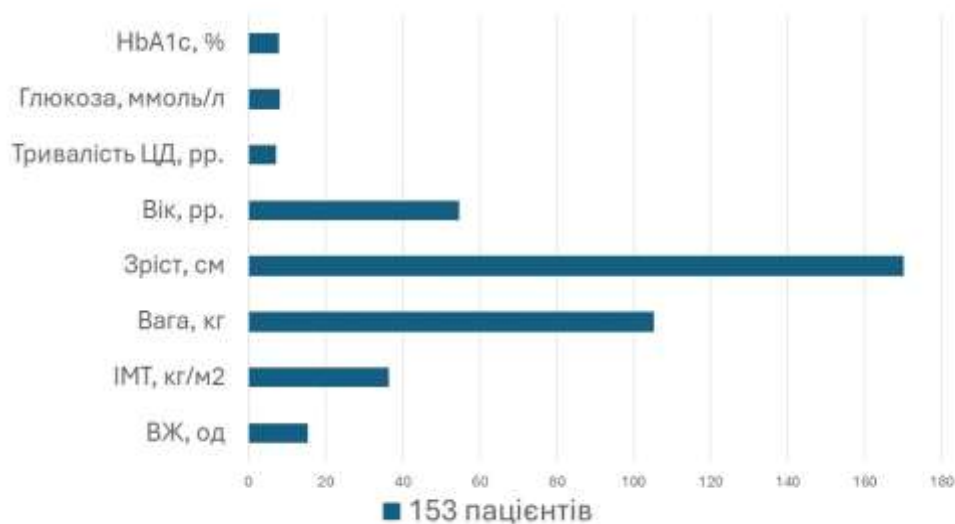


Рисунок 2.1. Характеристика пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу за морфо-фенотиповими та гормонально-метаболічними показниками (візит 1)

Загальна кількість хворих дозволила виділити достатнє число груп залежно від індексу маси тіла та рівня вісцерального жиру. Після ранжування за величиною ІМТ пацієнтів (n=88) було розподілено на групи, в яких оцінювали взаємозв'язки характеристик ожиріння з прооксидантним статусом:

- 1 – ІМТ- 1 ($< 29,9$ кг/м²); n=22, ч/ж 14/8;
- 2 – ІМТ- 2 (ІМТ від 30,0 до 33,9 кг/м²); n=22, ч/ж 9/13;
- 3 – ІМТ- 3 (ІМТ від 34,0 до 39,3 кг/м²); n=22, ч/ж 10/12;
- 4 – ІМТ- 4 (ІМТ від 40,0 до 55,1 кг/м²); n=22, ч/ж 5/17.

З метою оцінки зв'язків фенотипічних ознак з рівнями мікробіальних метаболітів (ТМАО і КЛЖК) обстежених пацієнтів (n=44) було розподілено на 3 групи: ІМТ-1 – без ожиріння; n=14; ІМТ-2- ожиріння I-II ступеня; n=16; ІМТ-3– морбідне ожиріння; n=14.

Враховуючи вагому роль абдомінального жиру в розвитку метаболічних порушень, проведено ранжування за рівнем ВЖ: група ВЖ1 – пацієнти з нормальним рівнем ВЖ (від 7,5 до 12,0 од), n=11; група ВЖ2 – пацієнти з помірно підвищеним ВЖ (від 12,5 до 15,5 од), n=15; група ВЖ3 – пацієнти з високим ВЖ (від 16,0 до 26,5 од), n=18.

Для аналізу рівнів мікробіальних метаболітів та композиційних показників у пацієнтів з ЦД 2 типу залежно від забезпеченості ГПП-1 розподілено за ранговою оцінкою значень відносно медіани на 2 групи згідно з рівнем ГПП-1:

- 1) – група 1, з рівнем ГПП-1 < 1 пмоль/л (n=21);
- 2) – група 2, з рівнем ГПП-1 > 1 пмоль/л (n=23).

Дизайн дослідження:



Рисунок 2.2. Графік візитів пацієнтів

2.2. Антропометричні виміри та біоімпедансне дослідження

У обстежених пацієнтів визначали антропометричні параметри: зріст, вагу, об'єм талії (ОТ), обчислювали ІМТ (за формулою: $ІМТ = \text{маса тіла (кг)} / \text{зріст}^2 (\text{м}^2)$). Наявність і тип ожиріння визначали згідно з критеріями ВООЗ для метаболічного синдрому: при $ІМТ \geq 30 \text{ кг/м}^2$ діагностували загальне ожиріння; при $ІМТ < 30 \text{ кг/м}^2$ – вважали, що хворі не мають ожиріння. Абдомінальне ожиріння встановлюється згідно з рекомендаціями ВООЗ при $ОТ > 88 \text{ см}$ у жінок та $> 102 \text{ см}$ у чоловіків.

Композицію тіла оцінювали методом біоелектричного імпедансу (аналізатор TANITA BC-545N, Японія). Визначали такі параметри, як відсотковий вміст загального жиру та води в організмі, частку абдомінального жиру, м'язову та кісткову масу, а також сегментарну масу жирових відкладень та показники % жиру і м'язової маси (кг) по сегментах: корпус, ліва рука (ЛР),

права рука (ПР), ліва нога (ЛН), права нога (ПН), сегментарну м'язову масу в корпусі та у кожній кінцівці.

Рівень вісцерального жиру оцінювали в інтервалі від 1 до 59 од; кожна одиниця відповідає 10 см² на поверхні внутрішніх органів; нормальний рівень становить від 1 до 12 од жиру. Фізичний тип (будову тіла) оцінювали за шкалою від 1 до 9 балів (прихована повнота – 1, повний – 2, міцна статура – 3, тренований – 4, нормальний – 5, стандартно-м'язистий – 6, худий – 7, худий і м'язистий – 8, дуже м'язистий – 9).

2.3. Біохімічні дослідження

2.3.1. Показники обміну вуглеводів

Стан вуглеводного обміну характеризували за показниками глікозильованого гемоглобіну (HbA1c, %), інсуліну (мкОд/мл), глюкози натще (ммоль/л). Референтні значення визначалися за даними лабораторних наборів та літератури [253].

У крові, зібраній вранці натще, вимірювали рівні глікованого гемоглобіну HbA1c) імунотурбодиметричним методом на аналізаторі Cobas 6000 (Roche Diagnostics (Швейцарія) у сертифікованих лабораторіях із присвоєннями унікальних лабораторних номерів кожному зразку. Референтні рівні HbA1c для здорових людей становить 4,8–5,9 % від рівня вільного гемоглобіну в крові, при цьому рівень глікозильованого гемоглобіну може не залежати від концентрації гемоглобіну в крові.

Концентрацію глюкози визначали у плазмі венозної крові з використанням сертифікованих діагностичних смужок та глюкометра One Touch (LifeScan Inc, Швейцарія).

Концентрацію інсуліну в сироватці крові натще визначали з використанням сертифікованих діагностичних наборів реактивів для кількісного твердофазного імуноферментного аналізу («Insulin ELISA») виробництва DiaMetra (Італія) у лабораторії радіології та радіобіології ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка» НАМН

України та за допомогою імунохімічного аналізу з хемілюмінесцентною детекцією (ECLIA) на аналізаторі Cobas 6000 (Roche Diagnostics (Швейцарія) у сертифікованих лабораторіях (із присвоєнням унікальних лабораторних номерів). Референтні величини концентрації інсуліну в сироватці (плазмі) крові здорових людей встановлені від 2 до 25 мкОд/мл.

2.3.2. Показники ліпідного спектру сироватки крові

Концентрації ліпідних фракції в сироватці крові пацієнтів оцінювали за допомогою аналізатора біохімічного автоматичного виробництва Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co.ltd (Китай) у клініко-діагностичній лабораторії ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка» НАМН України та за допомогою методу гомогенної ензиматичної колориметрії. Визначали рівні ЗХС, ТГ, ХС-ЛПНЩ, ХС-ЛПВЩ. Межі норми вказані згідно з даними сертифікованих лабораторій, які проводили аналіз:

- ЗХС, нормальні величини < 5,2 ммоль/л;
- ТГ, норма < 1,7 ммоль/л;
- ХС-ЛПНЩ, середній нормальний рівень < 3 ммоль/л; для хворих на ЦД 2 типу < 2,5 ммоль/л;
- ХС-ЛПВЩ, норма > 1,2 ммоль/л;
- ХС-ЛПДНЩ, нормальний рівень 0,26–1,04 ммоль/л.

Показник ХС-ЛПНЩ розраховували за формулою Фридвальда:

$$\text{ХС ЛПНЩ} = \frac{\text{ЗХС} - \text{ХС ЛПВЩ} - \text{ТГ}}{2,2 \text{ (ммоль/л)}}.$$

2.3.3. Розрахункові індекси

За даними рівнів глікемії та інсулінемії натще розраховували індекс інсулінорезистентності НОМА ІR згідно з моделлю базального гомеостазу за формулою:

$$\text{НОМА IR} = \frac{\text{Інсулін натще (мкОд/мл)} \times \text{Глюкоза крові натще (ммоль/л)}}{22,5}$$

Індекс НОМА IR у здорової людини не перевищує 3,8.

Скелетно-вісцеральний індекс (СВІ) (skeletal-to-visceral ratio) розраховували як відношення маси скелетних м'язів (кг) до площі ВЖ (од).

2.4. Імуноферментні методи застосовували для визначення концентрації ГПП-1, триметиламін-N-оксиду, 8-iso-PGF2 α в крові. Показники досліджували на базі ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»:

1) Концентрацію глюкагоноподібного пептиду-1 (ГПП-1) визначали за допомогою імуноферментного аналізу з використанням набору Glucagon-Like Peptide-1 (7-36) active ELISA (IBL International GmbH, Німеччина) на аналізаторі StatFax 3200, Awareness Technology (США), референтні значення 0,5 - 3,1 пмоль/л.

2) Концентрацію триметиламін-N-оксиду (ТМАО) в сироватці крові визначали з використанням набору Human Trimethylamine-N-Oxide ELISA Kit (BTlab, Китай) на аналізаторі StatFax 3200, Awareness Technology (США). Діапазон вимірювання набору ТМАО для людини становив від 0,2 нг/мл – 60 нг/мл, чутливість – 0,119 нг/мл, референтні значення - 7,13-12,8 нг/мл.

3) Дослідження вмісту 8-ізопростагландину F2 α в сироватці крові проводили методом ІФА з використанням набору Human 8-iso-PGF2 α (8-isoprostane) ELISA Kit (FineTest®). Діапазон вимірювання набору становив 15,625-1000 пг/мл.

2.5. Визначення коротколанцюгових жирних кислот (КЛЖК) в копрофільтраті.

Визначення вмісту КЛЖК в копрофільтраті пацієнтів проводили з використанням апаратно-програмного комплексу для медичних досліджень на

базі газового хроматографа «Chromatek-Crystal», який був обладнаний капілярною колонкою RESTEK Rtx-2330 (60 м довжина × 0,25 мм діаметр × 0,2 мкм плівка) з полум'яно-іонізаційним детектором (220 С⁰), з азотом як газом-носієм, зі швидкістю потоку 0,4 мл/хв та тиском 97,74 кПА. Додаткові параметри методики становили: витрата водню – 20 мл/хв, витрата повітря – 200 мл/хв, температура колонки 140 С⁰, температура випарювача 230 С⁰. Площі під піками були розраховані за допомогою апаратно-програмного забезпечення Chromatek, яке підключено до газового хроматографа. Виділення КЛЖК із копрофільтрату проводили згідно методики Guohua Zhao [180]. Відбір зразків калу проводився до стерильної пробірки, 1 г калу гомогенізували в 3 мл дистильованої води, до гомогенату додавали 2 мл 1 N розчину соляної кислоти, перемішували і центрифугували при 7000 об/хв протягом 10 хв. Мікрошприцем вводили 5 мкл надосадової рідини до випарювача хроматографа. Ідентифікацію кожної кислоти проводили шляхом порівняння їх часу утримування з часом їхнього відповідного еталонного стандарту фірми «Rastek», США. Показники КЛЖК досліджували на базі науково-дослідного сектору ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України», м. Дніпро.

2.6. Анкетування

Проаналізовані опитувальники у 101 пацієнта з ЦД 2 типу.

За допомогою анкетування у пацієнтів вивчали психоемоційний стан, рівень психологічного дистресу, проводили оцінку нейропсихологічних порушень із застосуванням відповідних опитувальників.

- **Госпітальна шкала тривоги та депресії** (The Hospital Anxiety and Depression Scale, HADS) складається з 14 пунктів, які обслуговують 2 підшкали – Тривога (непарні пункти) і Депресія (парні пункти). Кожному твердженню відповідають 4 варіанти, які відображають градації вираженості ознаки та кодуються за зростанням важкості симптому від 0 (відсутність) до 3 (максимально виражений). При інтерпретації

результатів враховується сумарний показник за кожною субшкалою, у кожній виділяються 3 області його значень: • 0-7 - норма (відсутність достовірно виражених симптомів тривоги та депресії), • 8-10 - субклінічно виражена тривога/депресія, • 11 і вище – клінічно виражена тривога/депресія [181].

- **Опитувальник для оцінки дистресу при діабеті (The Diabetes Distress Screening Scale, DDS)** [182] складається з 17 пунктів (окремих проблем), за кожним з яких пацієнт обирає ступінь серйозності (оцінка від 1 - «нема проблеми» до 6 – дуже значна проблема»). Результати оцінюють за загальною шкалою (середня сума балів по 17 пунктах) і окремо з 4-ма субшкалами:

- 1) Емоційне навантаження: середня кількість балів по 5 запитанням (суму балів за № 1, 3, 8, 11, 14 розділити на 5);
- 2) Дистрес, пов'язаний з режимом: середня кількість балів по 5 запитанням (суму балів за № 5, 6, 10, 12, 16 розділити на 5);
- 3) Дистрес, пов'язаний з лікарем: середня кількість балів по 4 запитанням (суму балів за № 2, 4, 9, 15 розділити на 4);
- 4) Міжособистісний дистрес: середня кількість балів по 3 запитанням (суму балів за № 7, 13, 17 розділити на 3);

Інтерпретація даних DDS за субшкалами: середній бал <2,0 – відсутній дистрес; між 2,0 до 2,9 – помірний дистрес; >3,0 – сильний дистрес.

- **Опитувальник для оцінки подолання стресу (Coping Scale – COPE)** [182, 183]

Опитувальник складається з 60 питань, об'єднаних у 15 шкал (кожній з яких відповідають по 4 пункти):

F1. Активне подолання – активні кроки чи прямі дії задля подолання стресової ситуації (№ 5, 25, 47, 58).

F2. Планування – обдумування того, як діяти щодо важкої життєвої ситуації, розробка стратегій поведінки (№ 19, 32, 39, 56).

- F3. Пригнічення конкуруючої діяльності – уникнення відволікання іншими видами активності та, можливо, ігнорування інших речей, аби активніше впоратися зі стресовою ситуацією (№ 15, 33, 42, 55).
- F4. Стимування подолання – очікування придатного для дій моменту та утримання від надто поспішних, імпульсивних дій (№ 10, 22, 41, 49).
- F5. Пошук соціальної підтримки інструментального характеру – прагнення отримати пораду, допомогу чи інформацію (№ 4, 14, 30, 45).
- F6. Пошук соціальної підтримки з емоційних причин прагнення знайти емоційну, моральну підтримку, співчуття та розуміння (№ 11, 23, 34, 52).
- F7. Концентрація на емоціях та їх активне вираження – фокусування на неприємних емоціях, неприємностях та вираженні почуттів (№ 3, 17, 28, 46).
- F8. Позитивне переформулювання та особистісне зростання – спроби переосмислити стресову ситуацію в позитивному ключі (№ 1, 29, 38, 59).
- F9. Заперечення – відмова вірити в те, що трапилося, або спроби заперечувати його реальність (№ 6, 27, 40, 57).
- F10. Прийняття – прийняття дійсності, стресової ситуації (13, 21, 44, 54).
- F11. Звернення до релігії – звернення до допомоги Бога, віри, релігії (№ 7, 18, 48, 60).
- F12. Використання «заспокійливих» – використання алкоголю, лікарських засобів або наркотиків як спосіб уникнення проблеми та покращення самопочуття (№ 12, 26, 35, 53).
- F13. Гумор – жарти та сміх з приводу ситуації (№ 8, 20, 36, 50).
- F14. Поведінкове уникнення проблеми – відмова від досягнення мети, регулювання зусиль, спрямованих на взаємодію зі стресором (№ 9, 24, 37, 51).
- F15. Уникнення проблеми подумки – використання різних видів активності для відволікання від неприємних думок, пов'язаних із проблемою, наприклад, фантазування, сон (№ 2, 16, 31, 43).
- Підрахунок виконується за сумою балів у кожній шкалі, що відповідають відповідям на запитання (ні =1, зрідка =2, іноді = 3, часто = 4).

- **Опитувальник для оцінки гормонального дисбалансу кортизолу** (Questionnaire for assessment of hormonal imbalance of cortisol), включає перелік 30 ознак, що можуть супроводжувати гіперкортизолемію. На кожне питання пацієнт відповідає «так» або «ні». Підраховується кількість позитивних відповідей.

2.7. Статистичний аналіз

Описова статистика. Статистичний аналіз базувався на застосуванні описової статистики та методів порівняльного аналізу.

Для узагальненої характеристики досліджуваних параметрів пацієнтів використовували методи варіаційної статистики.

Якісні параметри представлено через характеристику частотних розподілів із представленням результатів у вигляді абсолютних значень (числа пацієнтів) та розподілу у відсотках.

Порівняння частотних розподілів характеристик якісних параметрів між групами проводилось за допомогою критерія Хі-квадрат (χ^2) чи критерія Фішера для випадків числа спостережень в підгрупах до 5.

Для кількісних ознак розраховували середні значення показників та визначали їх варіабельність через розрахунок таких показників: середнє арифметичне (M), середнє квадратичне (стандартне) відхилення (SD), середня похибка для середніх величин (m), медіани та міжквартильного інтервалу (25% та 75%). Для первинних даних кількісних ознак проведена оцінка відповідності параметрам нормального розподілу (тест Шапіро-Уїлка) з метою обґрунтування доцільності використання параметричних чи непараметричних методів порівняльного аналізу.

За умов відповідності характеристик нормальному розподілу даних для порівняння використовували t-тест для порівняння підгруп чи парний t-тест для оцінки результатів в динаміці.

За умови невідповідності первинних характеристик параметрам нормального розподілу порівняльний аналіз між групами проводили за

непараметричним критерієм Манна-Уїтні (Mann - Whitney U-test) та тестом Вілкоксона для порівняння пов'язаних сукупностей (Wilcoxon rank test).

Для оцінки статистичної значущості різниці використано граничний рівень похибки першого роду не вище 5% ($P < 0,05$).

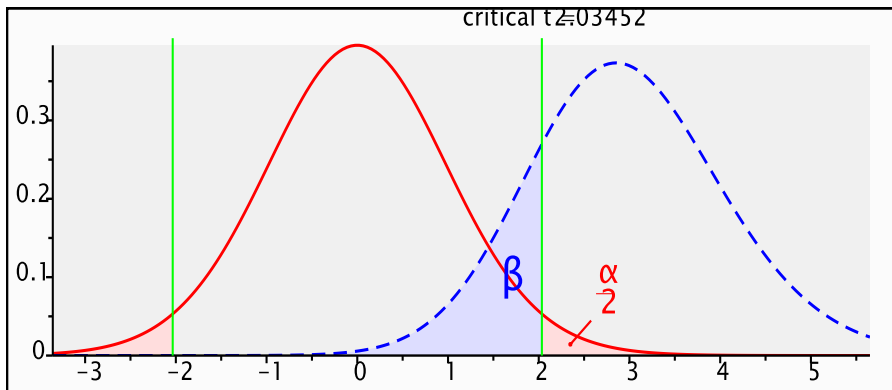


Рисунок 2.3. Характеристики нормальності розподілу для кількісних показників.

Для кількісної оцінки динаміки окремих показників і можливості співставлення динаміки показників із різними одиницями вимірювання визначалась стандартизована різниця середніх, що відображає величину клінічного ефекту. Шкала оцінки для динаміки показників із величиною ефекту більше 0,8 визначалась як значний (високий) ефект, 0,5–0,8 – середній ефект, до 0,5 – слабкий ефект і менше 0,2 – відсутність ефекту.

Первинна електронна база сформована в Excel. Аналіз проводили з використанням ліцензійного статистичного пакету Stata 12.1 (серійний №40120578442), MedStat v 5.2.

РОЗДІЛ 3. ДОСЛІДЖЕННЯ МЕТАБОЛІЧНОЇ АКТИВНОСТІ КИШКОВОЇ МІКРОБІОТИ ТА ІНКРЕТИНОВОЇ ЗАБЕЗПЕЧЕНОСТІ У ПАЦІЄНТІВ З ЦД 2 ТИПУ ЗАЛЕЖНО ВІД МОРФО-ФЕНОТИПОВИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ

3.1. Оцінка рівня оксидативного стресу залежно від метаболічної активності кишкової мікробіоти та фенотипових особливостей у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу

Ожиріння часто асоціюється з ризиком хронічного запалення та інших метаболічних захворювань, таких як діабет, серцево-судинні захворювання. Склад і активність кишкової мікробіоти відіграють важливу роль у вищезазначених станах впливаючи на низку фізіологічних процесів, таких як всмоктування поживних речовин та енергетичний обмін, імунну систему кишківника. Остання є важливим модулятором гомеостазу глюкози та резистентності до інсуліну, тісно пов'язаної з ожирінням. Через свої низькомолекулярні метаболіти мікробіота модулює кишкову проникність, обмін імунними клітинами, доступність кишкових гормонів, впливаючи на системну резистентність до інсуліну.

Відомо, що внаслідок модифікації дії бактерій, а також гіпоксії та запальних реакцій, відбувається зростання продукції активних метаболітів кисню (АМК), тоді як несвоєчасне їх знешкодження сприяє розвитку оксидативного стресу (ОС), який, у свою чергу, стимулює рецептори клітин, що індукують продукцію прозапальних цитокінів та експресію адгезивних молекул [184, 185].

Нещодавні дослідження продемонстрували взаємозв'язок кишкової мікробіоти та функції мозку, зокрема асоціацію патогенезу неврологічних розладів з дисрегуляцією кишково-мозкової осі. Встановлено, що деякі метаболіти кишкових бактерій безпосередньо пов'язані зі збільшенням рівня активних форм кисню, одного з найважливіших факторів ризику

нейродегенерації [186]. Продемонстровано, що модифікації кишкового мікробіому та його метаболітів впливають на реакції, пов'язані зі стресом, і соціальну поведінку у пацієнтів з депресивними розладами шляхом модуляції дозрівання імунних клітин і нейрогенезу в мозку, опосередкованого епігенетичними модифікаціями [187].

Інформативним показником інтенсивності ОС останнім часом вважається концентрація в крові або сечі 8-ізопростагландину (ізопростану) [188, 189]. За сучасними уявленнями, ОС є основним патофізіологічним механізмом розвитку багатьох захворювань, у тому числі серцево-судинних та патології з боку гепатобіліарної системи [190]. У формуванні патології важливу роль відіграє надлишкова кількість вільних жирних кислот у крові, а також зниження чутливості тканин до інсуліну – ІР. ОС, поряд з такими складовими метаболічними порушень, як ІР, вісцеральне ожиріння, гіпертригліцеридемія може відігравати значну роль у хронічному запаленні, що сприяє розвитку атеросклерозу та ЦД 2 типу [191 - 193].

Вважають, що розуміння цих взаємозв'язків може виявити механізми, що сприяли розвитку інсулінорезистентності та допомогти в розробці нових підходів до лікування [85, 122].

Ступінь ожиріння, що оцінюється за показником ІМТ, являється важливим компонентом МС, що визначає морфо-метаболічний фенотип людини. Після ранжування за рівнем ІМТ, 88 обстежених пацієнтів з ЦД 2 типу були розподілені на 4 групи, в яких було визначено концентрацію в сироватці крові маркера оксидативного стесу – 8-ізопростагландину F2 α (8-ізо-PGF2 α) та проаналізовано взаємозв'язки з рівнями КЛЖК (оцтової, пропіонової, масляної) в корпрофільтраті пацієнтів утворених груп (по 22 особи в кожній групі).

Групи ІМТ-1–4 не відрізнялись за віком та тривалістю захворювання ($p > 0,05$). Отримані результати продемонстрували, що, паралельно зі збільшенням ІМТ, відсоткового вмісту жиру, рівня вісцерального жиру, мало місце достовірне збільшення концентрації 8-ізо-PGF2 α (табл. 3.1, рис. 3.1).

Таблиця 3.1. Композиційні показники та рівні 8-ізопростагландину F2 α в сироватці крові в групах пацієнтів з ЦД 2 типу залежно від ступеня ожиріння (n=88)

Характеристики та статистичні показники		Група ІМТ-1 n=22	Група ІМТ-2 n=22	Група ІМТ-3 n=22	Група ІМТ-4 n=22	р
ІМТ, кг/м ²	М	28,44	32,09	36,22	43,60	p 1-2<0,001 p 1-3<0,001
	±m	0,35	0,19	0,35	0,81	p 2-3<0,001 p 1-4<0,001
% жиру	М	29,67	37,31	39,96	46,65	p 1-2=0,022 p 1-3<0,001
	±m	1,14	1,21	1,43	1,22	p 2-3=0,208 p 1-4<0,001
ВЖ, од	М	11,61	13,45	15,76	18,39	p 1-2<0,001 p 1-3<0,001
	±m	0,66	0,84	0,82	0,80	p 2-3<0,001 p 1-4<0,001
8-ізо-PGF2 α , пг/мл	М	252,62	330,43	336,01	515,13	p 1-2=0,044 p 1-3= 0,087
	±m	19,11	38,84	41,80	37,75	p 2-3 =0,751 p 1-4<0,001

Примітка: р - достовірність різниці показників між групами (р<0,05)

Це відповідає даним літератури про зростання оксидативного навантаження в організмі за наявності ожиріння, особливо його морбідної форми. Оксидативний стрес є станом, за якого продукція вільних радикалів перевищує здатність організму їх інактивувати. Дисбаланс між активними формами кисню та антиоксидантною захисною системою пов'язаний з порушенням регуляції вуглеводного та ліпідного обмінів. ОС може відігравати значну роль у хронічному запаленні, що сприяє розвитку атеросклерозу та ЦД 2 типу [184].

Розрахунки виявили пряму кореляцію між рівнями 8-ізо-PGF2 α та віком пацієнтів (r=0,17), з % жиру в організмі (r=0,15), табл.3.2.

Наукові дослідження, спрямовані на вивчення впливу мікробіоти кишківника на інтенсивність ОС, підтверджують такі взаємозв'язки. Наприклад, в експерименті було продемонстровано зворотній кореляційний зв'язок між інтенсивністю ОС та складом мікробіоти кишківника тварин (з нормальним вмістом *Lactobacillus* і *Bifidobacterium*), а також прямий зв'язок з надмірною

кількістю кишкової палички. Існує припущення, що нормальна мікрофлора товстої кишки відіграє вирішальну роль у захисті від кишкової інфекції за рахунок індукції прозапальних та прооксидантних реакцій [194].

Таблиця 3.2. Кореляційні зв'язки між рівнями 8-ізопростагландину F2 α , клініко-антропометричними показниками та КЛЖК у хворих на ЦД 2 типу (коефіцієнт Пірсона r; n=88)

Досліджувані показники	Вік, роки	Стаж ЦД, роки	ІМТ, кг/м ²	% жиру	ВЖ, од	КЛЖК			8-ізо-PGF2 α , пг/мл
						Оцтова, мкг/мл	Пропіонова, мкг/мл	Масляна, мкг/мл	
Вік, роки	1,00								
Стаж ЦД, роки	0,32	1,00							
ІМТ, кг/м ²	-0,37	-0,11	1,00						
% жиру	-0,18	-0,19	0,73	1,00					
ВЖ, од	-0,02	0,05	0,56	0,19	1,00				
Оцтова, мкг/мл	0,00	0,08	-0,16	0,02	0,07	1,00			
Пропіонова, мкг/мл	0,02	0,12	-0,23*	0,07	0,07	0,77	1,00		
Масляна, мкг/мл	-0,08	0,02	-0,21*	0,09	0,02	0,79	0,72	1,00	
8-ізо-PGF2 α , пг/мл	0,17	-0,07	-0,10	0,15	-0,07	-0,02	0,00	0,01	1,00

Примітка: * – достовірність коефіцієнту кореляції (p<0,05)

В обсерваційному дослідженні за участі 64 жінок з пієлонефритом встановлено, що інтенсивність ОС (оцінювана шляхом визначення співвідношення сумарних змін активності оксидативних процесів до показника антиоксидантної ємності крові) була підвищеною у осіб з дефіцитом лактобактерій. У порівнянні з групою пацієток з нормальним вмістом лактобактерій, ОС супроводжувався підвищеним рівнем малонового діальдегіду, фактора некрозу пухлини альфа (ФНП- α) та інтерлейкіну 10 (ІЛ-10), а також локальним запаленням (підвищенням вмісту С-реактивного протеїну) та активності лізосомальних гідролаз у сечі. Результати підтверджують дані експериментальних досліджень про провідну роль індигенної мікробіоти кишківника в розвитку ОС та запального процесу [184].

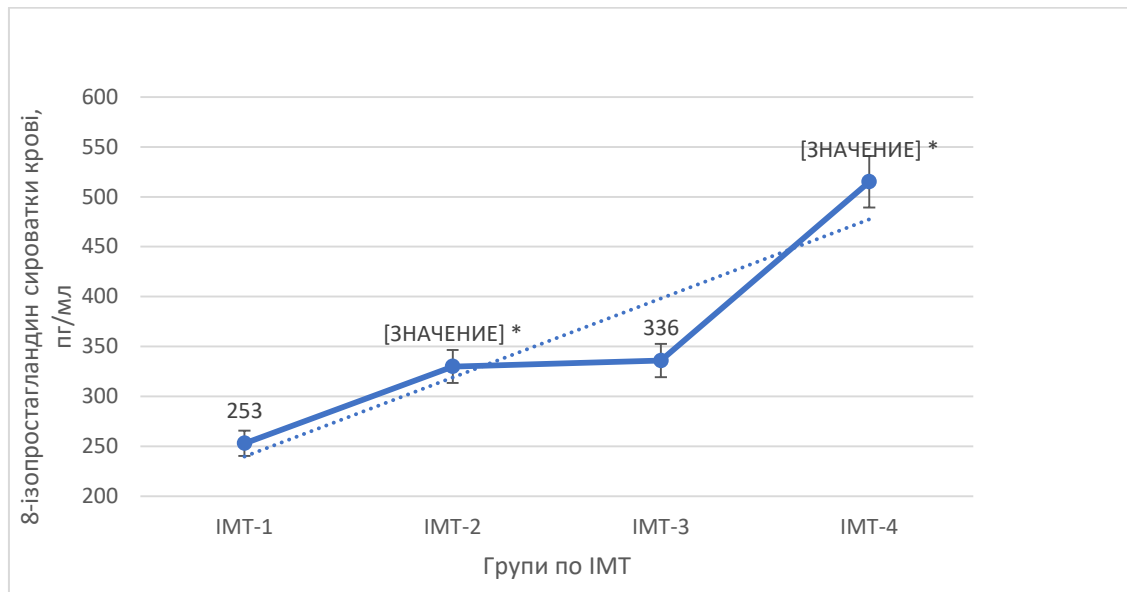


Рисунок. 3.1. Залежність рівня маркера оксидативного стресу 8-ізо-PGF2 α від ступеня ожиріння

*– достовірна різниця показника з групою 1 ($p < 0,05$)

В досліджуваній когорті пацієнтів застосування кореляційного аналізу дозволило встановити зворотні кореляційні зв'язки між значеннями ІМТ та рівнями КЛЖК ($r = -0,16; -0,23; -0,21$ для оцтової, пропіонової та масляної кислот, відповідно) (табл. 3.2).

Отримані результати підтвердили наявність взаємозв'язків між показниками, що характеризують фенотип ожиріння у хворих на ЦД 2 типу, та ступенем оксидативного стресу, визначеним з використанням показника 8-ізопростагландину F2 α . Виявлено також кореляційні зв'язки між ступенем загального ожиріння (ІМТ) та рівнями КЛЖК (оцтової, пропіонової та масляної) в копрофільтраті, що вказує на можливе значення функціонального стану кишківника в розвитку пов'язаних з ожирінням дисметаболических порушень при ЦД 2 типу.

3.2. Дослідження концентрації ТМАО та КЛЖК у пацієнтів з ЦД 2 типу залежно від рівня вісцерального жиру та ІМТ.

Окрему вибірку пацієнтів (n=44), у яких було визначено концентрацію ТМАО в сироватці крові та КЛЖК в копрофільтраті, було розподілено на 3 групи залежно від ІМТ (табл. 3.3).

Таблиця 3.3. Композиційні та біохімічні показники в групах пацієнтів з ЦД 2 типу залежно від ступеня ожиріння (n=44)

Характеристики та статистичні показники		Група ІМТ-1 n=14	Група ІМТ-2 n=16	Група ІМТ-3 n=14	P
ІМТ, кг/м ²	M	29,48	34,59	41,87	p 1-2<0,001 p 1-3<0,001 p 2-3<0,001
	±m	0,49	0,39	0,64	
ОТ, см	M	108,57	115,63	126,07	p 1-2=0,022 p 1-3<0,001 p 2-3<0,001
	±m	2,55	2,02	2,33	
% жиру	M	31,46	38,39	45,87	p 1-2<0,001 p 1-3<0,001 p 2-3<0,001
	±m	1,20	1,69	1,53	
ВЖ, од	M	12,61	15,34	18,25	p 1-2=0,027 p 1-3<0,001 p 2-3=0,031
	±m	0,82	0,88	1,13	
Глюкоза, ммоль/л	M	7,99	8,57	9,29	p 1-2>0,05 p 1-3>0,05 p 2-3>0,05
	±m	0,38	0,56	0,61	
HbA1c, %	M	7,96	8,25	8,40	p 1-2>0,05 p 1-3>0,05 p 2-3>0,05
	±m	0,33	0,18	0,41	
Інсулін, мкОд/мл	M	11,57	15,24	16,06	p 1-2=0,021 p 1-3=0,007 p 2-3>0,05
	±m	1,72	1,80	2,60	
НОМА-IR	M	3,98	6,32	6,12	p 1-2>0,05 p 1-3=0,008 p 2-3>0,05
	±m	0,53	1,12	0,88	

Примітка: p – достовірна різниця показників між групами (p<0,05)

Пацієнти належали до наступних груп лікування: в групі 1 хворі знаходились на пероральній цукрознижувальній терапії та не мали важких ССЗ; всі пацієнти в групах 2 і 3 (з різними ступенями ожиріння) мали більш важкі

форми ЦД; мали встановлені діагнози ССЗ (атеросклероз і стеноз коронарних артерій), інсульт або інфаркт міокарда в анамнезі.

Утворені групи достовірно відрізнялись за ступенем ожиріння, об'ємом талії, рівнем вісцерального жиру.

Між трьома групами не було суттєвої різниці за рівнем HbA1c, проте група ІМТ-3 (з морбідним ожирінням) відрізнялась значно вищими рівнями глікемії, інсулінемії та ступеня ІР (НОМА-ІР), за умов більш важких форм діабету та серцево-судинних ускладнень.

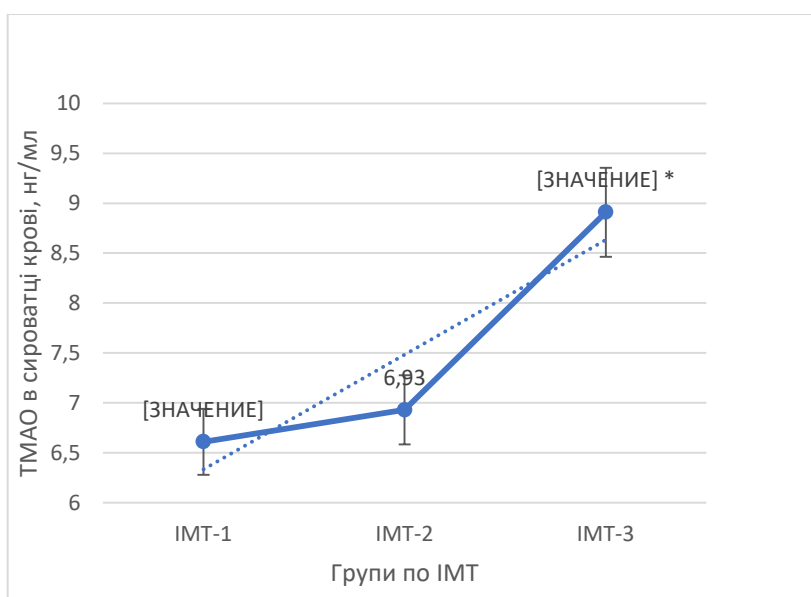


Рисунок 3.2. Взаємозв'язки між концентрацією ТМАО в сироватці крові пацієнтів з ЦД 2 типу та ступенем ожиріння

* – достовірна різниця з групою 1 ($p < 0,05$).

Аналіз вмісту КЛЖК бактеріального походження (ацетату, пропіонату і бутирату) в копрофільтраті не виявив достовірної різниці вмісту цих метаболітів у пацієнтів з різним ступенем ожиріння ($P > 0,05$) (табл. 3.4).

Таблиця 3.4. Рівні КЛЖК в копрофільтраті та ТМАО в сироватці крові пацієнтів з ЦД 2 типу залежно від ступеня ожиріння (n=44)

Характеристики та статистичні показники		Група ІМТ-1 n=14	Група ІМТ-2 n=16	Група ІМТ-3 n=14	p
Оцтова кислота, мкг/мл	M	1193,52	1175,25	1286,12	p 1-2>0,05 p 1-3>0,05 p 2-3>0,05
	±m	138,33	137,86	125,48	
	Me	1231,22	1002,73	1282,25	
	±SD	498,77	533,94	452,41	
	min	403,79	563,07	473,38	
	max	2318,60	2291,06	2021,55	
Пропіонова кислота, мкг/мл	M	511,65	480,29	569,07	p 1-2>0,05 p 1-3>0,05 p 2-3>0,05
	±m	59,91	49,33	82,37	
	Me	526,71	530,00	468,92	
	±SD	216,02	191,05	296,99	
	min	179,61	106,08	117,04	
	max	896,78	738,71	1150,92	
Масляна кислота мкг/мл	M	328,81	346,00	453,63	p 1-2>0,05 p 1-3>0,05 p 2-3>0,05
	±m	42,00	40,48	58,91	
	Me	286,05	337,92	511,09	
	±SD	151,42	156,76	212,39	
	min	104,23	106,42	145,37	
	max	686,21	611,91	774,27	
ТМАО, нг/мл	M	6,61	6,93	8,91	p 1-2>0,05 p 1-3=0,041 p 2-3>0,05
	±m	0,38	0,45	0,97	
	Me	6,77	7,00	8,06	
	±SD	1,42	1,79	3,63	
	min	3,29	2,89	5,66	
	max	8,32	9,43	20,58	

Примітка: p – достовірна різниця показників між групами (p<0,05)

При морбідному ожирінні (в групі ІМТ-3) спостерігались найвищі значення ТМАО (табл. 3.4, рис. 3.2), тобто при високому ступені ожиріння мало місце підвищення вмісту цитотоксичної сполуки ТМАО, утворюваної в печінці з бактеріального продукту ТМА.

Кореляційний аналіз (табл. 3.5) підтверджує взаємозв'язки між рівнем ТМАО та ІМТ, показником вісцерального ожиріння, з відсотковим вмістом жиру в організмі.

Таблиця 3.5. Кореляційні зв'язки між рівнем ТМАО та досліджуваними морфо-метаболическими характеристиками у хворих на ЦД 2 типу (коефіцієнт Пірсона r, n=44)

Досліджувані показники		Коефіцієнт кореляції з ТМАО (r)
Вік, роки		0,13
Тривалість діабету, роки		0,32*
Глюкоза крові натще, ммоль/л		0,13
Антропометрія	ІМТ, кг/м ²	0,30*
	ОТ, см	0,24
Композиція тіла	% загального жиру	0,28*
	Вісцеральний жир, од	0,16
	% води	-0,01
	М'язева маса, кг	0,07
	Оцінка тілобудови	0,11
	Кісткова маса, кг	0,12
	Базальний метаболізм	-0,33*
Композиція по сегментах тіла	% жиру ПР	0,20
	% жиру ЛР	0,18
	М'язова маса ПР, кг	0,04
	М'язова маса ЛР, кг	0,07
	% жиру корпус	0,31*
	М'язова маса корпус, кг	-0,04
	% жиру ПН	0,05
	% жиру ЛН	0,11
	М'язова маса ПН, кг	0,23
	М'язова маса ЛН, кг	0,15
Ліпідний спектр сироватки крові	ЗХС, ммоль/л	-0,03
	ТГ, ммоль/л	0,09
	ХС-ЛПВЩ, ммоль/л	-0,03
	ХС-ЛПНЩ, ммоль/л	0,14
	ХС-ЛПДНЩ, ммоль/л	-0,02
Коротколанцюгові жирні кислоти	Оцтова, мкг/мл	-0,15
	Пропіонова, мкг/мл	-0,40*
	Масляна, мкг/мл	-0,32*
Оксидативний стрес	8-ізо-PGF2α, пг/мл	0,32*

Примітка: ПР – права рука; ЛР – ліва рука; ПН – права нога; ЛН – ліва нога

* - достовірність коефіцієнту кореляції (p<0,05)

В даній групі хворих відмічено слабкі кореляції між ТМАО та сегментарними показниками % жиру (верхні кінцівки, корпус) та мязовою масою нижніх кінцівок.

Серед показників ліпідного комплексу виявлено слабку кореляцію ТМАО ($r=0,14$) з атерогенною фракцією холестерину (ХС-ЛПНЩ), що може бути пов'язано з інгібуванням цим метаболітом зворотного транспорту холестерину, що бере участь в патогенезі атеросклерозу.

Рівні КЛЖК в копрофільтраті проявляли слабку зворотну кореляцію з рівнем ТМАО, тобто підвищення рівня ТМАО асоціюється з дефіцитом КЛЖК, що має негативний вплив на секрецію інкретинів кишковими бактеріями.

Також виявлено пряму кореляцію між рівнями ТМАО та 8-ізо-PGF2 α ($r=0,32^*$).

Згідно з даними літератури, рівень ТМАО корелює з кількістю вісцерального жиру, отже з кардіометаболічним ризиком. Так, в експерименті та у багатьох клінічних когортах продемонстровано, що системні рівні ТМАО тісно пов'язані з ЦД 2 типу, а також з ознаками ожиріння [15, 195, 196].

Відомо, що ТМАО продукується за участі флавіновмісної монооксигенази 3 (FMO3). Регуляція активності цього ферменту здійснюється на епігенетичному рівні, під впливом надходження надлишку харчових жирів та фосфоліпідів. Встановлено, що інгібування FMO3 сприяло побурінню білої жирової тканини та збільшувало стійкість до ожиріння у тварин на високожировій дієті [196]. Шлях ТМА/FMO3/ТМАО — це ендокринна вісь між мікробіоценозом і організмом, за допомогою якої метаболізм кишковими мікробами поживних речовин, призводить до виробництва ТМАО – метаболіту триметиламіну (ТМА), який генерується виключно певними спільнотами кишкової мікробіоти.

Таким чином, отриманий нами результат щодо більш високих рівнів ТМАО в сироватці крові хворих на ЦД 2 типу з ожирінням 3-го ступеня дозволяє говорити про паралельне розвитку ожиріння підвищення вмісту в

крові цих осіб шкідливих метаболітів, які мають мікробіальне походження (ТМАО), таким чином створюють підвищений ризик судинних ускладнень.

З огляду на те, що вісцеральний (абдомінальний) жир має високу метаболічну активність та відіграє важливу роль в розвитку метаболічних порушень, властивих МС і ЦД 2 типу, було проаналізовано взаємозв'язок між рівнем ВЖ та композиційно-метаболічними показниками у хворих на ЦД 2 типу. Для цього когорту з 44 пацієнтів, у яких проведено визначення концентрації ТМАО в крові, було розділено на 3 групи залежно від рівня ВЖ, визначеного методом біоімпедансу (табл. 3.6):

Таблиця 3.6. Композиційні та метаболічні показники в групах пацієнтів з ЦД 2 типу, розподілених за рівнями вісцерального жиру (n=44)

Характеристики та статистичні показники		Група ВЖ1 n=11	Група ВЖ2 n=15	Група ВЖ3 n=18	p
ВЖ, од	M	10,59	14,27	19,28	p1-2<0,001
	±m	0,49	0,24	0,77	p1-3<0,001 p2-3<0,001
ІМТ, кг/м ²	M	30,98	34,85	38,26	p1-2<0,001
	±m	0,92	1,29	1,19	p1-3<0,001 p2-3<0,001
ОТ, см	M	107,00	116,93	122,44	p1-2=0,014
	±m	2,70	2,50	2,27	p1-3=0,016 p2-3<0,001
HbA1c, %	M	7,82	8,24	8,41	p 1-2>0,05
	±m	0,25	0,37	0,27	p 1-3>0,05 p 2-3>0,05
Глікемія, ммоль/л	M	7,28	8,88	8,92	p 1-2>0,05
	±m	0,31	0,61	0,40	p 1-3>0,05 p 2-3>0,05
Інсулін, мкОд/мл	M	11,98	15,20	14,59	p 1-2>0,05
	±m	2,32	2,29	1,57	p 1-3>0,05 p 2-3>0,05
НОМА-IR	M	3,83	6,31	5,52	p 1-2>0,05
	±m	0,64	1,06	0,66	p 1-3>0,05 p 2-3>0,05
ТМАО, нг/мл	M	7,10	6,71	7,44	p 1-2>0,05
	±m	0,31	0,41	0,47	p 1-3>0,05 p 2-3>0,05

Примітка: p - достовірна різниця показників між групами (p<0,05)

Аналіз даних в групах, розподілених за рівнями ВЖ, не дозволив виявити достовірних відмінностей за показниками концентрації ТМАО, НbA1c, глюкози, інсуліну, КЛЖК між групами незважаючи на достовірне підвищення рівня ІМТ зі збільшенням рівня ВЖ (табл. 3.6, 3.7).

Отримані результати відповідають даним літератури про те, що ТМАО може прогнозувати серцево-судинний ризик через збільшення загального та вісцерального жиру [197]. Припускають, що метаболічні ефекти ТМАО у білій жировій тканині включають зниження ліпогенезу та зміну специфічного складу жирних кислот, що здійснюється через транскрипційні та метаболічні зміни фагосомних та лізосомних шляхів [195, 196].

Таблиця 3.7. Рівні КЛЖК в копрофільтраті пацієнтів з ЦД 2 типу залежно від рівня вісцерального жиру (n=44)

КЛЖК, мкг/мл		Група ВЖ-1 n=11	Група ВЖ-2 n=15	Група ВЖ-3 n=18	р
Оцтова кислота	М	1203,94	1194,90	1243,82	р 1-2>0,05 р 1-3>0,05 р 2-3>0,05
	±m	170,10	136,54	111,59	
Пропіонова кислота	М	529,16	517,56	512,42	р 1-2>0,05 р 1-3>0,05 р 2-3>0,05
	±m	72,61	62,74	60,63	
Масляна кислота	М	320,54	443,44	344,05	р 1-2>0,05 р 1-3>0,05 р 2-3>0,05
	±m	51,79	51,55	39,08	

Примітка: достовірні різниці показників між групами - $p < 0,05$

Результати дослідження продемонстрували взаємозв'язки між фенотиповими характеристиками пацієнтів з ЦД 2 типу (ступенем загального ожиріння, відсотком жиру в організмі, рівнем вісцерального жиру) та рівнем потенційно токсичного бактеріального метаболіту ТМАО. Відзначено найвищі рівні ТМАО в групі пацієнтів з морбідним ожирінням порівняно з особами з

нормальною або помірно підвищеною масою тіла, що підтверджується наявністю достовірної прямої кореляції сироваткової концентрації ТМАО з ІМТ, ОТ, % жиру, при цьому не виявлено достовірних відмінностей в групах розподілених за ВЖ та його взаємозв'язків між рівнями ТМАО та КЛЖК.

3.3. Визначення рівнів мікробіальних метаболітів та композиційних показників у пацієнтів з ЦД 2 типу залежно від забезпеченості ГПП-1

Глюкагоноподібний пептид-1 є пептидним гормоном з численними фізіологічними функціями, включаючи підвищення чутливості до глюкози β -клітин підшлункової залози, відчуття ситості, пригнічення спорожнення шлунка та, можливо, кардіопротекцію та нейропротекцію [198, 199].

В деяких роботах зазначалось, що рівень ГПП-1 підвищувався пропорційно кількості ознак метаболічного синдрому та корелював з вищими рівнями лептину, інсуліну, НОМА-IR, ІМТ [200, 201]. В інших дослідженнях виявлено, що рівень ГПП-1 в крові зменшується при ожирінні та ІР [202]. В обох випадках результати вказують на зв'язки рівня ГПП-1 з метаболічними факторами ризику.

Рецептори ГПП-1 представлені на мембранах як β -, так і α -клітин підшлункової залози, тому інкретини стимулюють секрецію інсуліну та одночасно пригнічують секрецію глюкагону, забезпечуючи постпрандіальну регуляцію рівня глікемії.

Ожиріння (адипозність), особливо аномальне накопичення жиру, є ключовим фактором, що викликає МС, оскільки воно має виражений вплив на чутливість до інсуліну та функцію β -клітин і, таким чином, підвищує ризик ССЗ та ЦД 2 типу [203, 204]. Встановлено, що абдомінальне ожиріння сприяє інсулінорезистентності (ІР) жирової тканини як у чоловіків, так і у жінок. ІР призводить до поступового прогресування від гіперінсулінемії до непереносимості глюкози і, зрештою, ЦД 2 типу [205].

Отже, актуальним є дослідження взаємозв'язків рівнів ГПП-1 у хворих на ЦД 2 типу з ІМТ та показниками композиції тіла, такими як загальний відсоток жиру та рівень вісцерального жиру (ВЖ), а також станом вуглеводного і ліпідного обмінів.

Надалі обстежуваних осіб (n=44) було розподілено на 2 групи за рівнем ГПП-1 (табл. 3.8).

Групи 1 і 2 не відрізнялись за віком (відповідно $58,93 \pm 2,27$ та $60,13 \pm 1,74$ років, $p > 0,05$), тривалістю ЦД ($8,07 \pm 1,38$ та $11,19 \pm 1,4$ років, $p > 0,05$), ІМТ ($33,73 \pm 1,23$ та $36,14 \pm 1,53$ кг/м², $p > 0,05$), рівнем HbA1c ($7,67 \pm 0,25$ та $8,48 \pm 0,34\%$, $p > 0,05$), інсуліну ($15,59 \pm 2,08$ та $13,22 \pm 1,82$ мкОд/мл, $p > 0,05$) та НОМА-IR ($5,66 \pm 0,62$ та $5,28 \pm 0,34$, $p > 0,05$), а також за показниками ліпідного спектру ($p > 0,05$).

Таблиця 3.8. Композиційні та метаболічні показники у пацієнтів з ЦД 2 типу залежно від рівня ГПП-1 (n=44)

Характеристики та статистичні показники		Група 1 ГПП-1<1 n=21	Група 2 ГПП-1>1 n =23	p
ІМТ, кг/м ²	M	33,73	36,14	p>0,05
	m	1,19	1,53	
	медіана	32,80	35,45	
	SD	4,60	6,10	
	min	26,70	26,00	
	max	41,20	44,30	
% жиру	M	36,86	39,79	p=0,313
	m	1,47	2,43	
	медіана	36,00	38,40	
	SD	5,69	9,73	
	min	28,50	25,50	
	max	46,10	52,70	
Вісцеральний жир, од	M	13,10	16,97*	p=0,005
	m	0,90	0,91	
	медіана	13,00	16,55	
	SD	3,49	3,64	
	min	7,50	12,50	
	max	18,00	26,00	
ГПП-1,	M	0,44	2,08*	p<0,001
	m	0,07	0,23	

ПМОЛЬ/Л	медіана	0,08	0,12	
	SD	0,80	0,64	
	min	0,16	1,19	
	max	0,66	2,17	
ТМАО, НГ/МЛ	М	6,94	7,63	p=0,181
	m	0,24	0,47	
	медіана	7,05	7,69	
	SD	0,90	1,86	
	min	5,56	2,89	
	max	8,32	11,02	
Оцтова кислота МКГ/МЛ	М	1041,00	1301,37	p>0,05
	m	100,22	107,89	
	медіана	970,08	1280,89	
	SD	388,17	431,58	
	min	473,38	580,50	
	max	1763,22	2318,60	
Пропіонова кислота, МКГ/МЛ	М	464,67	556,12	p>0,05
	m	52,65	67,96	
	медіана	482,89	528,99	
	SD	203,92	271,85	
	min	117,04	106,08	
	max	835,61	1150,92	
Масляна кислота, МКГ/МЛ	М	354,22	420,90	p>0,05
	m	37,73	51,18	
	медіана	314,21	421,00	
	SD	146,11	211,61	
	min	125,57	106,42	
	max	555,42	774,27	

Примітка: * – достовірна різниця середніх показників між групами (p<0,05)

Аналіз ліпідних показників залежно від стану інкретинової системи не виявив достовірних змін концентрації ліпідних фракцій в сироватці крові в 1 та 2 групах за рівнями ГПП-1. Відзначено достовірно вищий рівень ВЖ в групі 2 порівняно з групою 1 (табл. 3.8). Середні концентрації ТМАО в сироватці крові не мали достовірної різниці в групах з різним рівнем ГПП-1. Також не виявлено достовірної різниці рівнів КЛЖК в копрофільтраті між даними групами (p>0,05).

Кореляційний аналіз не виявив у даній когорті пацієнтів з ЦД 2 типу значимої кореляції між рівнями ГПП-1 та ТМАО (r=0,03). Виявлена кореляція між рівнем ГПП-1 в крові та рівнями загального та вісцерального жиру

(відповідно $r = -0,20$ та $r=0,25$, $p>0,05$), а також значима пряма кореляція між рівнем ТМАО та ІМТ ($r= 0,30$; $p<0,05$) (табл. 3.9).

Таблиця 3.9. Кореляційні зв'язки між рівнями ТМАО, ГПП-1 та характеристиками ожиріння у хворих на ЦД 2 типу (коефіцієнт Пірсона r , $n=44$)

Досліджувані показники	ГПП-1, пкмоль/л	ТМАО, нг/мл	ІМТ, кг/м ²	ВЖ, од	% жиру
ГПП-1, пкмоль/л	1,00				
ТМАО, нг/мл	0,03	1,00			
ІМТ, кг/м ²	-0,02	0,30*	1,00		
ВЖ, од	0,25	0,16	0,49	1,00	
% жиру	-0,20	0,28	0,76	0,12	1,00

Примітка: * - достовірність коефіцієнту кореляції ($p<0,05$)

Дані результати можуть відображати підвищений ризик розвитку дисфункції ендотелію у пацієнтів з більшим ступенем ожиріння, що супроводжувався вищим рівнем ТМАО.

РОЗДІЛ 4. ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ арГПП-1 НА ФУНКЦІОНАЛЬНУ АКТИВНІСТЬ МІКРОБІОТИ КИШКІВНИКА ЗАЛЕЖНО ВІД ФЕНОТИПУ ОЖИРІННЯ

На сьогодні з'ясовано, що кишкова мікробіота відіграє важливу роль у підтримці метаболічного гомеостазу в організмі завдяки продукції таких метаболітів, як коротколанцюгові жирні кислоти (ацетат, пропіонат, бутират), жовчні кислоти, вітаміни [206]. Порушення або надмірну продукцію цих метаболітів розглядають як чинники, що беруть участь в патогенезі ЦД 2 типу та ССЗ [207, 208].

Встановлено, що мікробний дисбіоз кишківника може порушити кишкові бар'єри та спричинити ендотоксемію, резистентність до інсуліну та гіперглікемію, тому кишкова мікробіота може служити індикатором ступеня тяжкості для хворих на ЦД 2 типу [254]. Крім того, існує взаємодія між кишковою мікробіотою та деякими протидіабетичними засобами. Кишкова мікробіота також може брати участь у відповіді на лікування арГПП-1 [92].

У зв'язку з тим, що ССЗ є одним з найпоширеніших та найважчих за своїми негативними наслідками ускладнень при ЦД 2 типу, особливої актуальності набуває впровадження сучасних високочутливих лабораторних маркерів, що дозволять вчасно виявляти підвищений ризик ССЗ у хворих на ЦД 2 типу і проводити об'єктивну оцінку ефективності терапії даних станів з використанням різних груп препаратів.

Дослідження порушення продукції мікробіальних метаболітів при дисметаболических станах є актуальним завданням, зокрема мало дослідженим залишається питання особливостей цих процесів при різних фенотипах та впливу на дані біомаркери у пацієнтів з ЦД 2 типу за умов терапії арГПП-1.

Вважають, що вплив на кишкову мікробіоту та її метаболічну активність може слугувати потенційним терапевтичним підходом для лікування ЦД 2 типу [104, 209].

Завданням фрагменту було дослідити особливості взаємозв'язків між рівнями ТМАО, КЛЖК та гормонально-метаболічними порушеннями у хворих на ЦД 2 типу з різними фенотипами на тлі застосування арГПП-1.

4.1. Вплив арГПП-1 на гормонально-метаболічні показники у пацієнтів з ЦД 2 типу залежно від конституційного складу тіла

До та після лікування арГПП-1 проведена оцінка показників композиції тіла (методом біоімпедансу, загальні та сегментарні), ліпідного спектру, стану глікемічної компенсації (табл. 4.1).

На тлі проведеного лікування арГПП-1 спостерігалось достовірне зменшення ступеня ожиріння (зниження ІМТ, ОТ, % загального та вісцерального жиру). Зниження кількості жиру супроводжувалось достовірним збільшенням загального вмісту води (внутрішньоклітинної та позаклітинної) в організмі (табл. 4.1), що вважається позитивною ознакою з точки зору кардіоваскулярної функції [210, 211].

Крім того, зафіксовано покращення показників вуглеводного обміну (наближення до норми рівнів глюкози в крові та глікованого гемоглобіну) ліпідного комплексу сироватки крові (зниження загального холестерину, проатерогенних фракцій холестерину (ХС-ЛПНЩ), концентрації тригліцеридів та їх транспортної форми – ХС-ЛПДНЩ, підвищення антиатерогенної фракції – ХС-ЛПВЩ).

Отримані результати підтверджують дані літератури про ефективність застосування арГПП-1 щодо зменшення загального та вісцерального ожиріння, поліпшення ліпідного обміну [16, 87, 139, 143, 155 - 157, 212].

Таблиця 4.1. Антропометричні, композиційні та метаболічні параметри у пацієнтів з ЦД 2 типу до та після лікування арГПП-1 (M±m; n=88)

Параметри та статистичні показники		Візит 1	Візит 2	p	
ІМТ, кг/м ²	M	36,22	32,51	p<0,001	
	m	0,90	0,97		
ОТ, см	M	118,85	109,38	p<0,001	
	m	1,78	1,96		
% загального жиру	M	39,51	34,29	p <0,001	
	m	1,42	1,55		
	max	52,70	49,70		
Рівень ВЖ, од	M	15,93	13,25	p<0,001	
	m	0,76	0,71		
% води	M	44,08	47,83	p<0,001	
	m	1,01	1,02		
HbA1c, %	M	8,50	6,67	p<0,001	
	m	0,23	0,19		
СВІ	M	3,75	4,43	p<0,001	
	m	0,14	0,19		
Ліпідні фракції, ммоль/л	ЗХС	M	5,13	4,43	p=0,004
		±m	0,25	0,23	
	ТГ	M	2,34	1,44	p<0,001
		±m	0,18	1,13	
	ХС-ЛПВЩ	M	1,13	1,24	p=0,022
		±m	0,04	0,05	
	ХС-ЛПНЩ	M	2,94	2,36	p=0,005
		±m	0,19	0,20	
	ХС-ЛПДНЩ	M	1,12	0,66	p<0,001
		±m	0,07	0,04	

Примітка: p- достовірність різниці між показниками до і після лікування, p<0,05 (парний t-тест для пов'язаних вибірок)

Дослідження змін композиційних показників по сегментах тіла виявило, що відсотковий вміст жиру в корпусі та кінцівках достовірно зменшився після лікування (p<0,05) (рис. 4.1, А).

Розрахунки демонструють незначні, але статистично достовірні зміни м'язової маси по сегментах тіла (рис. 4.1, Б): права і ліва рука (p=0,034 та p=0,030); права і ліва нога (p<0,001 та p=0,012); корпус (p=0,034).



А



Б

Рисунок 4.1. Сегментарний розподіл жирової маси (А) та м'язової маси (Б) у пацієнтів з ЦД 2 типу (n=88) до лікування і після лікування

Варто зауважити, що лікування арГПП-1 сприяло збільшенню скелетно-вісцерального індексу (СВІ) (skeletal-to-visceral ratio – SVR), тобто відношення маси скелетних м'язів до площі ВЖ. Цей показник було запропоновано як індекс, асоційований із метаболічним синдромом та ЦД 2 типу, або індекс саркопенічного ожиріння [213-215]. Виявлено, що знижене відношення м'язи/вісцеральний жир характерне для популяції хворих на ЦД 2 типу, поряд із традиційними факторами ризику ССЗ (низькі рівні ХС-ЛПВЩ, високі рівні ХС-ЛПНЩ, куріння, артеріальна гіпертензія), які не можуть повністю пояснити підвищений серцево-судинний ризик у цих хворих [213, 216].

Таким чином, у хворих, які приймали агоніст рецепторів ГПП-1, спостерігалось покращення вуглеводного та ліпідного контролю та показників композиції тіла: зниження частки загального та вісцерального жиру, зменшення зневоднення, підвищення індексу саркопенічного ожиріння.

Отримані результати узгоджуються з даними літератури про те, що арГПП-1 можуть чинити свою кардіовазопротекторну дію, впливаючи на серцево-судинні фактори ризику, сприяючи втраті ваги, зниженню артеріального тиску, покращенню ліпідного профілю та через прямий вплив на серце та ендотелій судин [217]. Клінічні випробування продемонстрували, що лікування арГПП-1 може покращити розподіл жиру та має переваги у зниженні ВЖ. Оскільки в осіб з ЦД 2 типу рецепторний білок до ГПП-1 більш поширений у вісцеральній жировій тканині, ніж у підшкірному жирі [218], ефекти арГПП-1 можуть бути специфічними для ВЖ. Це пояснюють змінами в експресії відповідних ключових ферментів метаболізму ліпідів, зокрема виявлено, що ліпогенез знижений у вісцеральній білій жировій тканині, але підвищений у підшкірній жировій тканині (ПЖ). Встановлено, що у гризунів активація центральних рецепторів ГПП-1 може індукувати специфічний ліполіз у ВЖ порівняно з ПЖ (через активацію симпатичної системи, де містяться рецептори ГПП-1 [120]. В мета-аналізі виявлено, що лікування арГПП-1

викликало більш високе абсолютне та відсоткове зниження ВЖ порівняно з ПЖ, що свідчить про те, що арГПП-1 можуть активувати додаткові шляхи, що не досягається обмеженням калорій [219].

Після лікування арГПП-1 відзначено покращення показників ліпідного комплексу сироватки крові, а саме: зниження концентрації тригліцеридів, загального холестерину та його атерогенних фракцій ХС-ЛПНЩ та ХС-ЛПДНЩ і підвищення вмісту антиатерогенного ХС-ЛПВЩ (рис. 4.2).

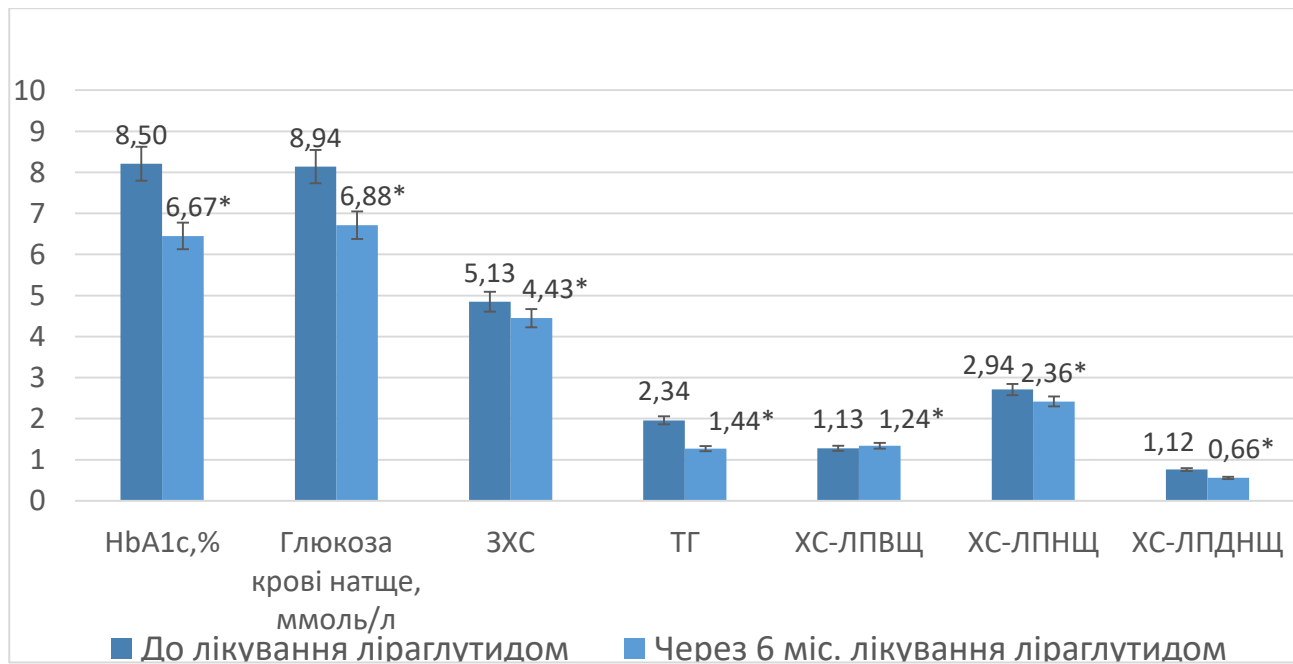


Рисунок 4.2. Показники вуглеводного обміну (HbA1c,%, глюкоза натще, ммоль/л) та ліпідного спектру сироватки крові (ТГ, ХС-ЛПВЩ, ХС-ЛПНЩ, ХС-ЛПДНЩ, ммоль/л) на тлі лікування арГПП-1 у пацієнтів з ЦД 2 типу
* – достовірність різниці між показниками до і після лікування, $p < 0,05$ (критерій Ст'юдента для двох пов'язаних вибірок)

4.2. Вивчення ефектів арГПП-1 на рівні мікробіальних метаболітів триметиламін-N-оксиду та коротколанцюгових жирних кислот

У обстежених пацієнтів після лікування виявлено достовірне підвищення концентрації в копрофільтраті оцтової, пропіонової та масляної кислот, що може свідчити про покращення функції/складу кишкової мікробіоти, а саме бактерій-продуцентів КЛЖК (табл. 4.2).

Таблиця 4.2. Вплив арГПП-1 на вміст КЛЖК в копрофільтраті (n=88)

Характеристики та статистичні показники		Візит 1	Візит 2	p
Оцтова кислота, мкг/мл	M	1212,77	1515,54	p=0,0159
	±m	77,81	89,10	
	Me	1228,06	1428,82	
	±SD	453,71	518,95	
	min	403,79	551,58	
	max	2291,06	2995,44	
Пропіонова кислота, мкг/мл	M	535,28	737,90	p=0,0009
	±m	40,06	58,21	
	Me	531,35	646,21	
	±SD	233,60	339,44	
	min	106,08	130,01	
	max	1150,92	1518,71	
Масляна кислота мкг/мл	M	382,32	547,85	p=0,0013
	±m	30,37	54,52	
	Me	356,69	467,33	
	±SD	177,09	317,93	
	min	104,23	91,65	
	max	774,27	1208,30	

Примітка: p - достовірна різниця показників, $p < 0,05$ (критерій Ст'юдента для двох пов'язаних вибірок)

Відомо, що до кишкових бактерій, які виробляють КЛЖК, належать такі коменсальні бактерії, як *Akkermansia muciniphilia*, *Prevotella spp.*, *Ruminococcus spp.*, *Coprococcus sp.*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Eubacterium rectale* та *Roseburia spp.* [9, 112, 145]. Можна припустити, що застосування супрафізіологічних доз арГПП-1 (ліраглутиду), впливаючи на склад кишкової мікробіоти та її метаболічну активність, призводить до покращення синтезу власного ендогенного ГПП-1, що підтверджується аналізом даних проведеної роботи та узгоджується з даними літератури.

Враховуючи, що КЛЖК, секретовані кишковими бактеріями, відіграють важливу роль в регулюванні накопичення та функції жирової тканини, гомеостазу енергетичних субстратів, чутливості до інсуліну тощо [114, 220], можна припустити, що при застосуванні препаратів арГПП-1 на тлі відновлення

належного рівня КЖЛК може спостерігатися аддитивний ефект щодо зниження ступеню ожиріння.

Як відомо, у хворих на ЦД 2 типу відзначається зниження вмісту ендогенного ГПП-1, що відображає недостатню секрецію інкретинових гормонів ентероендокринними L-клітинами слизової оболонки кишківника [45, 46]. Продемонстровано, що ферментативна дія мікробіоти в товстому кишківнику позитивно впливає на кількість ентероендокринних клітин та їхню секреторну функцію [88]. Зокрема встановлено, що зв'язування бутирату з рецепторами протейну G (GPR) в кишківнику веде до збільшення секреції ендогенних інкретинів – ГПП-1 і ГПП-2 та пептиду PYY ентероендокринними L-клітинами в товстій кишці [9, 112, 113].

Під впливом терапії ліраглутидом (n=44) виявлено також підвищення концентрації ГПП-1 в крові з $1,15 \pm 0,15$ до $3,0 \pm 0,50$ пмоль/л ($M \pm m$); у середньому значення до і після лікування відрізняються на рівні значимості $p < 0,001$. Ці зміни можуть бути пов'язані зі зміною складу кишкової мікробіоти та вмістом мікробіальних метаболітів (рис. 4.3).

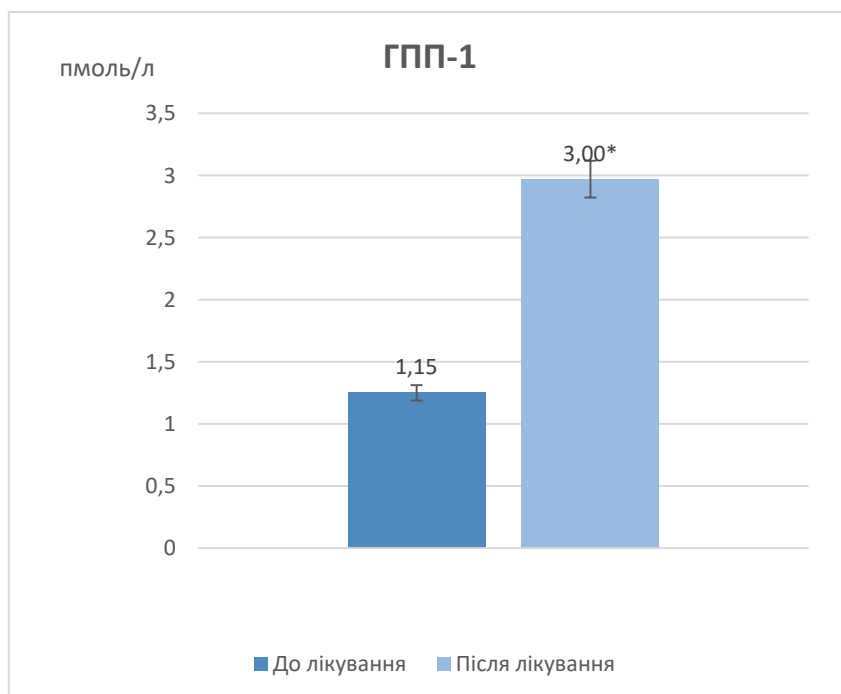


Рисунок 4.3. Концентрація ГПП-1 в крові пацієнтів з ЦД 2 типу на тлі лікування ліраглутидом (n=44)

* – достовірність різниці між показниками до і після лікування (критерій Ст'юдента для двох пов'язаних вибірок, $p < 0,05$)

За даними літератури, застосування препаратів групи агоністів рецепторів ГПП-1 дозволяє відновити інкретиновий ефект, при цьому отримано дані про кардіовазопротективні ефекти цих препаратів, не пов'язані з їх цукрознижувальним потенціалом. В даному контексті можна розглядати й отримані нами результати підвищення рівня ендогенного ГПП-1 в крові пацієнтів.

Відзначені нами позитивні ефекти терапії арГПП-1 щодо морфо-метаболических показників у пацієнтів з ЦД 2 типу можуть бути пов'язані з інсулінотропним і глюкагоностатичним ефектами, а також з посиленням секреції інших інкретинів – ГПП-2 та РУУ, які сприяють зниженню апетиту та зменшенню ожиріння [101].

У 44 пацієнтів з ЦД 2 типу до і після 6 місяців лікування арГПП-1 визначено концентрацію проатерогенного метаболіту ТМАО. Виявлено, що під впливом терапії рівень ТМАО в сироватці крові пацієнтів достовірно знизився (рис. 4.4).

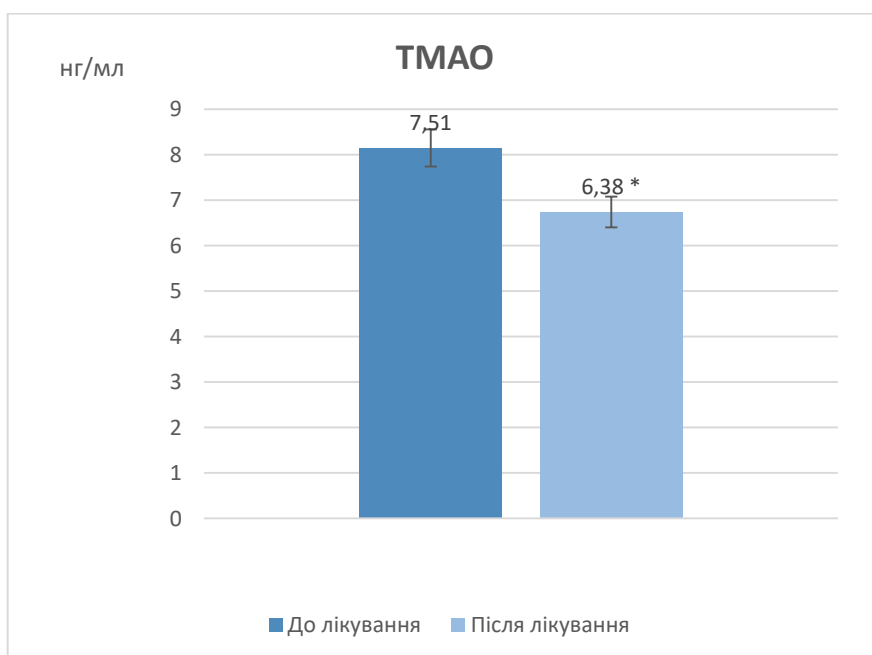


Рисунок 4.4. Концентрація ТМАО у крові пацієнтів з ЦД 2 типу на тлі лікування арГПП-1 (n=44)

* – достовірність різниці між показниками до і після лікування (критерій Ст'юдента для двох пов'язаних вибірок, $p < 0,05$)

На сьогодні висловлено декілька припущень щодо механізмів, за допомогою яких ТМАО підвищує опосередкований кишковою мікробіотою ризик розвитку ССЗ [109], а саме: впливає на ліпідний спектр крові, змінює склад і транспорт жовчних кислот, індукує вироблення С-реактивного білка, сприяє ендотеліальній дисфункції та підвищує сироваткові рівні прозапального ендотоксину ліпополісахариду (ЛПС), викликає протромботичний ефект, сприяє агрегації тромбоцитів шляхом активації шляхів Toll-подібних рецепторів (TLR) [107, 109, 110]. Зважаючи на вищезначене, виявлені зміни сироваткової концентрації токсичного метаболіта ТМАО, безумовно, мають позитивне значення як ознака зменшення кардіометаболічних ризиків у пацієнтів з ЦД 2 типу.

З даних літератури відомо, що відповідь на терапію арГПП-1 може бути потенційно пов'язана з кишковою мікробіотою [92]. Виявлено, що певні сигнатури кишкових мікробів пов'язані з глікемічною відповіддю на терапію арГПП-1 і відображають ступінь дисбіозу у пацієнтів із ЦД 2 типу [221].

Виявлене нами зниження рівня ТМАО може бути відображенням механізмів антиатерогенного ефекту арГПП-1, який пов'язує із впливом на секрецію інсуліну, глюкагону, лептину, інкретинових гормонів, а також з ефектом арГПП-1 на склад кишкової мікробіоти – продуцента низькомолекулярних метаболітів. Зміна стану кишкового ендотелію та складу кишкової мікробіоти під впливом арГПП-1 також може бути чинником, що впливає на продукцію бактеріями та проникнення в кровотік потенційно токсичних метаболітів, таких як ТМАО.

Виходячи з відомих ендотеліотоксичних властивостей ТМАО [107, 108, 110,], виявлене нами зниження сироваткової концентрації даного метаболіта під впливом терапії арГПП-1, безумовно, має позитивне значення як ознака зменшення кардіометаболічних ризиків у пацієнтів з ЦД 2 типу.

За даними літератури, зниження ступеня ожиріння і покращення вуглеводного та ліпідного обмінів може бути пов'язано зі зростанням активності в кишківнику таких бактерій, як *Bifidobacterium longum* і *Lactobacillus*, здатних посилювати експресію ГПП-1 та ІЛ-10 у пацієнтів з ожирінням або ЦД 2 типу та пригнічувати накопичення ліпідів в адипоцитах. Так, в експериментальному дослідженні продемонстровано, що *Lactobacillus fermentum* MCC2760 збільшував експресію транспортера глюкози 4 (GLUT4), GLP-1 і ZO-1, покращуючи толерантність до глюкози у мишей на високожировій дієті [222]. З іншого боку, до бактерій, що продукують попередник ТМАО – ТМА, відносять облигатно-анаеробних *Clostridia* (тип *Firmicutes*) і факультативно анаеробних *Enterobacteriaceae* (тип *Proteobacteria*), які містять фермент *CntA/B* для конвертації карнітину в ТМА [223].

В цілому, виявлені нами зміни концентрації мікробіальних метаболітів: зниження рівня ендотеліотоксичного метаболіта ТМАО в сироватці крові та підвищення концентрації КЛЖК в копрофільтраті, можуть свідчити про позитивний вплив терапії арГПП-1 на функціональний стан мікробіоти кишківника.

Підвищення вмісту інкретинів, за даними літератури, може сприяти відновленню порушеної рівноваги секреції інсуліну та глюкагону, цілісності кишкового бар'єру та протидіяти непереносимості протидіабетичних препаратів. Виявлені позитивні ефекти терапії арГПП-1 можуть бути пов'язані, з одного боку, зі зниженням вмісту токсичного мікробіального метаболіта ТМАО, з іншого – підвищенням вмісту КЛЖК, продукованих кишковими бактеріями. Отримані дані свідчать про перспективність та корекції функціонального стану та якісного й кількісного складу мікробіоти кишківника

у хворих на ЦД 2 типу, як потенційного чинника впливу на рівень ГПП-1, композиції тіла та поліпшення серцево-судинного та неврологічного прогнозу в пацієнтів з ЦД 2 типу. Отримані дані доводять доцільність проведення подальших досліджень складу та функціональної активності мікробіоти кишківника, як чинників впливу на композицію тіла, рівень ендogenous ГПП-1. Корекція кишкової мікробіоти та її функції сприятиме поліпшенню серцево-судинного прогнозу в пацієнтів з ЦД 2 типу.

З метою виявлення взаємозв'язків між ефективністю застосування арГПП-1 та фенотипічними особливостями пацієнтів з ЦД 2 типу, було досліджено відповідні показники в групах пацієнтів, які утворені після ранжування за величиною ІМТ (табл. 4.3).

Пацієнтів (n=44), було розділено на групи за ступенем ожиріння:

- група ІМТ-1 – $< 29,9 \text{ кг/м}^2$, n=14;
- група ІМТ-2 – $30,0 - 39,9 \text{ кг/м}^2$, n=16;
- група ІМТ-3 – $\geq 40 \text{ кг/м}^2$, n=14.

Таблиця 4.3. – Антропометричні, композиційні та метаболічні показники у групах розподілених залежно від значення ІМТ, до та після прийому арГПП-1 (n=44)

Параметри та статистичні показники		Група ІМТ-1 n=14		Група ІМТ-2 n=16		Група ІМТ-3 n=14	
		Візит 1	Візит 2	Візит 1	Візит 2	Візит 1	Візит 2
ІМТ, кг/м ²	М	30,73	27,48	35,05	31,17	42,33	38,33
	m	0,56	0,48	0,40	1,15	0,65	1,20
	p 1-2	p<0,001*		p<0,001*		p<0,001 *	
ОТ, см	М	111,64	103,00	116,27	107,18	127,83	117,25
	m	2,89	3,26	1,96	3,02	2,10	2,56
	p 1-2	p<0,001*		p<0,001*		p<0,001*	
% загального жиру	М	31,30	27,05	40,75	34,92	45,88	40,34
	m	1,43	1,84	1,83	2,53	1,79	2,11
	p 1-2	p=0,016 *		p=0,004 *		p=0,004 *	
Рівень вісцерального жиру, од	М	14,09	11,36	14,59	12,73	18,83	15,46
	m	1,23	0,91	1,04	1,25	1,24	1,22
	p 1-2	p=0,030 *		p=0,015 *		p<0,001 *	
Скелетно-	М	4,82	5,32	3,69	4,59	3,33	3,91

вісцеральний індекс (СВІ)	m	0,35	0,33	0,15	0,35	0,24	0,33	
	p 1-2	p=0,039 *		p=0,015 *		p=0,006 *		
% води	М	49,57	52,22	43,10	47,45	39,93	44,16	
	m	0,93	1,25	1,26	1,83	1,60	1,40	
	p 1-2	p=0,026 *		p=0,003 *		p=0,030 *		
НbA1c, %	М	8,59	6,61	8,26	6,57	8,64	6,83	
	m	0,33	0,43	0,23	0,29	0,42	0,33	
	p 1-2	p<0,001*		p<0,001*		p<0,001*		
Ліпідні фракції, ммоль/л	ЗХС	М	4,87	4,66	5,21	4,12	5,30	4,50
		±m	0,25	0,33	0,63	0,46	0,37	0,39
		p 1-2	p>0,05		p>0,05		p>0,05	
	ТГ	М	2,19	1,43	2,63	1,08	2,30	1,63
		±m	0,32	0,26	0,38	0,07	0,22	0,16
		p 1-2	p=0,018 *		p<0,001 *		p=0,035 *	
	ХС- ЛПВЩ	М	1,21	1,41	1,05	1,18	1,13	1,15
		±m	0,08	0,07	0,06	0,09	0,06	0,07
		p 1-2	p>0,05		p>0,05		p>0,05	
	ХС- ЛПНЩ	М	2,83	2,64	2,66	1,82	3,30	2,60
		±m	0,20	0,36	0,44	0,30	0,31	0,35
		p 1-2	p>0,05		p>0,05		p>0,05	
	ХС- ЛПДН Щ	М	1,13	0,69	1,19	0,60	1,04	0,67
		±m	0,16	0,09	0,10	0,07	0,11	0,05
		p 1-2	p=0,001 *		p<0,001 *		p=0,007 *	

Примітка: * – достовірність різниці показників до і після лікування (p<0,05, парний t-тест для пов'язаних вибірок)

Після лікування арГПП-1, у всіх досліджуваних підгрупах, на тлі поліпшення глікемічної компенсації, спостерігалось достовірне зниження ІМТ, ОТ, % жиру, рівня ВЖ, а також підвищення СВІ. В усіх групах знизились рівні ТГ та їх головної транспортної форми – ХС-ЛПДНЩ. Не відзначено достовірних змін рівня ЗХС, ХС-ЛПНЩ та ХС-ЛПВЩ в жодній з трьох груп.

Отже, під впливом терапії ліраглутидом позитивні зміни вмісту загального і вісцерального жиру, а також показників ліпідного комплексу, спостерігались у всіх розглянутих групах пацієнтів, незалежно від ступеня ожиріння.

Враховуючи, що КЛЖК, секретовані кишковими бактеріями, відіграють важливу роль в регулюванні накопичення та функції жирової тканини, гомеостазу енергетичних субстратів, чутливості до інсуліну тощо [114, 220], можна припустити, що продукція кишковою мікробіотою КЛЖК і ТМАО може вносити частку до протиобезоженного та гіпоглікемічного ефектів терапії

арГПП-1. З огляду на ці відомості, нами проаналізовано вміст мікробіальних метаболітів (ТМАО і КЛЖК) в копрофільтратах пацієнтів, які отримували терапію арГПП-1, залежно від ступеня ожиріння (табл. 4.4).

Таблиця 4.4. – Концентрація ГПП-1 та ТМАО в сироватці крові та рівні КЛЖК в копрофільтраті у хворих на ЦД 2 типу, розподілених залежно від значення ІМТ, до та після лікування ліраглутидом

Параметри та статистичні показники		Група ІМТ-1 n=14		Група ІМТ-2 n=16		Група ІМТ-3 n=14	
		Візит 1	Візит 2	Візит 1	Візит 2	Візит 1	Візит 2
ТМАО, нг/мл	М	6,94	5,43	7,31	6,20	8,28	7,14
	m	0,56	0,57	0,45	0,61	0,40	0,29
	p 1-2	p<0,001		p=0,018		p=0,005	
Оцтова кислота, мкг/мл	М	1099,28	1542,41	1286,58	1550,98	1260,69	1461,96
	m	109,20	117,62	192,78	230,11	140,86	167,19
	p 1-2	p=0,013		p=0,402		p=0,405	
Пропіонова кислота, мкг/мл	М	498,20	723,26	507,31	901,09	584,47	616,83
	m	64,15	87,54	73,09	158,08	95,64	97,63
	p 1-2	p=0,021		p=0,021		p=0,741	
Масляна кислота, мкг/мл	М	314,03	486,83	354,08	602,85	458,60	520,83
	m	45,80	74,85	56,81	115,31	67,84	131,44
	p 1-2	p=0,484		p=0,018		p=0,543	

Примітка: p 1-2 – достовірність різниці показників до і після лікування (p<0,05, парний t-тест для пов'язаних вибірок)

У всіх виділених підгрупах під впливом терапії арГПП-1 відзначено зниження рівня ТМАО. Достовірне підвищення оцтової та пропіонової кислот виявлено в групі ІМТ-1; пропіонової та масляної кислот – в групі ІМТ-2. Не було достовірних змін рівнів КЛЖК в групі ІМТ-3.

Таким чином, дослідження взаємозв'язків ефектів довгострокової терапії арГПП-1 з рівнями мікробіальних метаболітів виявило, що покращення композиційних показників, глікемічного та ліпідемічного контролю відбувалось в усіх підгрупах розподілених залежно від ІМТ. У пацієнтів після лікування відзначено достовірне зниження концентрації ТМАО, за умов відносного підвищення рівнів КЛЖК.

РОЗДІЛ 5. ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТІВ КИШКОВОЇ МІКРОБІОТИ ТА ТЕРАПІЇ арГПП-1 НА СТУПІНЬ ПСИХОЛОГІЧНОГО ДИСТРЕСУ У ХВОРИХ НА ЦД 2 ТИПУ

Згідно даних досліджень доведено негативний вплив ЦД 2 типу на нервову та судинну системи в цілому, і зокрема на мікросудини периферичних нервів, на структуру мозку та когнітивну функцію. Неврологічні зміни можуть бути зумовлені взаємодією між генетичними, екологічними факторами, стійкістю до стресових умов, що сприяє формуванню фенотипічних особливостей кожної людини.

Нейропсихологічні та когнітивні порушення є одним із аспектів прояву дисфункції нервової системи, що можуть негативно впливати на широкий спектр нейрокогнітивних та сенсомоторних здібностей. Порушення пам'яті, когнітивний дефіцит та деменція поступово знижують потенціал соціального, особистого та біологічного життя [224, 225].

Погіршення нейропсихологічних функцій пов'язують з розвитком таких патологічних станів, як ожиріння, цукровий діабет, артеріальна гіпертензія, ССЗ, що супроводжуються дисглікемією, дисліпідемією, гіпергомоцистеїнемією. Також мають значення особливості способу життя. Механізми, що опосередковують цей зв'язок, включають периферичне запалення, гіперглікемію, резистентність до інсуліну, а також порушене функціонування гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової осі, на додаток до її ключової ролі в розвитку судинної патології та запалення [226, 227].

З огляду на існуючі дані про те, що функція кишкової мікробіоти пов'язана із вищезазначеними факторами, а також враховуючи результати клінічних досліджень щодо значення осі мікробіота - кишечник - мозок в розвитку нейропсихологічних та неврологічних розладів [228, 229], новітнім є дослідження можливих взаємозв'язків показників функціональної активності мікробіоти з результатами оцінки психоемоційного стану пацієнтів з ЦД 2 типу.

5.1. Вивчення взаємозв'язків рівнів мікробіальних КЛЖК з психологічним статусом пацієнтів з ЦД 2 типу залежно від фенотипу

Проведено кореляційний аналіз для виявлення можливих зв'язків між фенотипом ожиріння, рівнем бактеріальних метаболітів (КЛЖК) та психоемоційними характеристиками, визначеними методом анкетування у 101 пацієнта (табл. 5.1).

Таблиця 5.1. Кореляційні зв'язки між характеристиками ожиріння, рівнями КЛЖК та психометричними показниками у хворих на ЦД 2 типу (коефіцієнт Пірсона r; n=101)

Змінні		Морфометрія			КЛЖК			ОГДК	DDS				
		ІМТ	% жиру	ВЖ	оцтова	пропіонова	масляна		1	2	3	4	5
Морфометрія	ІМТ, кг/м ²	1,00											
	% жиру	0,73	1,00										
	ВЖ, од	0,56	0,19	1,00									
КЛЖК	оцтова	-0,16	0,02	0,07	1,00								
	пропіонова	-0,15	-0,05	0,06	0,69	1,00							
	масляна	-0,21*	0,09	0,02	0,79	0,63	1,00						
ОГДК		0,16	0,36*	0,40*	0,07	0,13	0,14	0,09	1,00				
DDS	1	0,27*	0,24*	0,13	0,06	0,06	0,03	0,42*	1,00				
	2	0,22*	0,21*	0,09	0,16	0,14	0,13	0,41*	0,89	1,00			
	3	0,08	0,14	0,05	0,10	0,09	0,02	0,26*	0,84	0,74	1,00		
	4	-0,07	0,00	-0,09	-0,02	-0,06	0,00	0,09	0,45	0,32	0,47	1,00	
	5	0,13	0,19	0,01	0,18	0,17	0,06	0,32*	0,69	0,61	0,60	0,24	1,00
HADS	загальн. бал	0,16	0,21*	0,06	0,13	0,14	0,06	0,49*	0,59	0,63	0,53	0,16	0,41
	тривога	0,18	0,23*	0,08	0,02	0,09	0,04	0,47*	0,55	0,56	0,42	-0,01	0,37
	депресія	0,11	0,16	0,03	0,21*	0,17	0,07	0,41*	0,50	0,56	0,51	0,28	0,34

Примітка: * – достовірність коефіцієнту кореляції r (p<0,05);

Шкали опитувальника оцінки дистресу при ЦД (DDS): 1-сумарний бал; 2–«Емоційне навантаження»; 3–«Дистрес, пов'язаний з режимом»; 4–«Дистрес, пов'язаний з лікарем»; 5–«Міжособистісний дистрес»; ОГДК - Оцінка гормонального дисбалансу кортизола; HADS – Госпітальна шкала тривоги і депресії

Результати аналізу продемонстрували, що рівні КЛЖК в копрофільтраті проявляли слабку кореляцію з ІМТ (ацетат $r=-0,16$, пропіонат $r=-0,15$; бутират $r=-0,21^*$) та з даними психометрії (r від $0,14$ до $0,21^*$).

Спостерігалась достовірна пряма кореляція оцінок тесту на гормональний дисбаланс кортизолу з рівнями загального і вісцерального жиру (відповідно $r=0,36$ та $0,40$ $p<0,05$), що може пояснюватись збільшеною продукцією кортизолу у вісцеральній жировій тканині, де міститься фермент 11β -гідроксистероїддегідрогеназа-1, який здійснює локальну внутрішньоклітинну конверсію неактивного кортизону в активний кортизол [230].

При розподілі обстежених пацієнтів на групи за ІМТ (табл. 5.2) можна відзначити достовірне підвищення оцінки дисбалансу кортизолу від 1-го до 4-го квартиля: ($p_{1-3}=0,190$; $p_{1-4}=0,004$). Також у хворих з морбідним ожирінням, у порівнянні з квартилем 1, достовірно підвищувались оцінки шкали тривоги і депресії. Аналогічно, в квартилях 3 і 4 була підвищена загальна оцінка шкали дистресу при діабеті: $1,68\pm 0,13$; $1,78\pm 0,15$; $2,27\pm 0,20$; $2,27\pm 0,21$ ($p_{1-4}=0,020$; $p_{1-3}=0,017$).

Кортизол є важливим гормоном стресу, що впливає на психологічний стан людини, тому хронічне підвищення секреції кортизолу, навіть у вигляді субклінічного гіперкортицизму (як прояву гіперсимпатикотонії) може бути пов'язаний з посиленням тривоги і депресії та дистресу при діабеті [227, 231]. На це вказують достовірні кореляції оцінок гормонального дисбалансу кортизолу з даними тестів HADS (загальний бал $r=0,49^*$; тривога $r=0,47^*$; депресія $r=0,41^*$) та тесту DDS (сумарний бал $r=0,42^*$; емоційне навантаження $r=0,41^*$).

Таблиця 5.2. Дані опитувальників та рівні КЛЖК в копрофільтраті залежно від ступеня ожиріння у пацієнтів з ЦД 2 типу

Група, стат.показник		Опитувальники і шкали (бали)								
		ОГДК	DDS					HADS		
			1	2	3	4	5	Заг. бал	Тривога	Депресія
гр ІМТ-1	M	8,91	1,68	1,94	1,91	1,23	1,61	12,27	6,59	5,64
	m	0,87	0,13	0,20	0,21	0,14	0,19	1,39	0,73	0,76
гр ІМТ-2	M	9,36	1,78	2,26	2,06	1,12	1,54	13,20	6,56	6,56
	m	1,13	0,15	0,24	0,21	0,08	0,19	1,28	0,68	0,69
гр ІМТ-3	M	10,60	2,27	2,58	2,55	1,75	2,02	13,40	6,28	7,12
	m	0,91	0,20	0,24	0,25	0,25	0,23	1,25	0,65	0,85
гр ІМТ-4	M	13,07	2,27	2,65	2,18	1,08	1,91	13,40	8,14	6,90
	m	1,01	0,21	0,26	0,23	0,03	0,28	1,25	0,71	0,71
	p	p1-3=0,190 p1-4=0,004	p1-4=0,151				p1-4=0,020; p1-3=0,017			

Примітка: ОГДК – Опитувальник гормонального дисбалансу кортизолу; HADS – Госпітальна шкала тривоги і депресії; DDS - шкала опитувальника оцінки дистресу при ЦД: 1-сумарний бал; 2-«Емоційне навантаження»; 3-«Дистрес, пов'язаний з режимом»; 4-«Дистрес, пов'язаний з лікарем»; 5-«Міжособистісний дистрес»;

Таким чином, застосування опитувальників гормонального дисбалансу кортизолу, тривоги та депресії, дистресу при діабеті є ефективними інструментом для оцінки ступеня стресового стану, які погіршуються зі збільшенням ступеня ожиріння у пацієнтів з ЦД 2 типу.

5.2. Вплив терапії арГПП-1 на рівень дистресу у хворих на цукровий діабет 2 типу

Особливості фенотипу, пов'язані з кількістю і характером розподілу жиру в організмі, мають зв'язок з нейро-гормональними процесами, що впливають на вищу нервову діяльність, психоемоційний стан і поведінкові реакції.

Психоневрологічні, когнітивні та поведінкові розлади, які виникають внаслідок хронічної гіперглікемії, належать до пізніх ускладнень ЦД 2 типу. У пацієнтів спостерігаються такі загальні психоневрологічні симптоми, як депресія, тривожність, когнітивна дисфункція. При ЦД 2 типу пацієнти

відчувають як метаболічний, так і хронічний психологічний стрес, який викликає активацію гіпоталамо-гіпофізарно-адреналової (ГГА) осі, що, в свою чергу, проковує активацію симпатичної нервової системи (СНС), секрецію стресових гормонів, спричиняє резистентність до інсуліну й дисфункцію панкреатичних β -клітин [230, 231].

Гормонально-метаболічні порушення, пов'язані зі стресами, дисметаболічними та гострими запальними станами, неминуче будуть впливати на функцію ЦНС і вищу нервову діяльність, що проявляється у вигляді психоемоційних та поведінкових розладів. Так, у популяційному дослідженні за участі 808 жінок виявлено, що наявність фенотипу загального і саркопенічного ожиріння, що супроводжувалось низькорівневим запаленням (за рівнем високочутливого С-реактивного білка – вчСРБ), підвищувало ризик виникнення депресивного розладу [232].

Клінічні спостереження продемонстрували, що застосування препаратів групи агоністів рецепторів глюкагоноподібного пептиду-1 (арГПП-1), які діють на основі інкретинового ефекту, сприяє послабленню нейропатології у пацієнтів з ЦД 2 типу. Встановлено, що арГПП-1 можуть протидіяти зниженню когнітивних функцій при депресії шляхом покращення синаптичної функції в мозку. Терапевтичні ефекти ГПП-1 при депресії свідчать про потенціал арГПП-1 як фармакотерапевтичного регулятора нейрогенезу, нейрозапалення, дисбалансу секреції нейромедіаторів і синаптичної дисфункції, що може запобігати неврологічним ускладненням при ЦД 2 типу [233].

Отже важливим є дослідження ефективності застосування у хворих на ЦД 2 типу препаратів групи арГПП-1 як засобів протидії розвитку нейропсихологічних та когнітивних порушень.

За допомогою анкетування аналізували вплив терапії арГПП-1 на психометричні характеристики пацієнтів (стан тривожності та депресії, ступінь дистресу, подолання стресу) за участі 88 пацієнта з ЦД 2 типу, з них 38 чоловіків і 50 жінок.

Госпітальна шкала тривоги та депресії (Hospital Anxiety and Depression Scale, HADS) є загальноновживаним опитувальником для оцінки депресії та тривоги в осіб з різними розладами. Надійність цього опитувальника та відповідність даним визначення стресового гормону кортизолу в біологічному матеріалі була підтверджена в багатьох дослідженнях [219, 234, 235].

За допомогою шкали HADS аналізували вплив терапії арГПП-1 на такі психометричні характеристики пацієнтів, як стан тривожності та депресії (табл. 5.3).

Після проведеного лікування з застосуванням арГПП-1, за шкалою HADS спостерігалось покращення показника сумарного балу в загальній групі за рахунок змін за шкалою «депресія», тоді як за шкалою «тривога» зміни не були достовірними. Достовірне зниження сумарної оцінки HADS та балів депресії відбувалось у групі жінок, тоді як у групі чоловіків відзначено достовірне зниження балів лише за шкалою «Депресія».

Таблиця 5.3. Оцінка тривоги та депресії при діабеті за шкалою Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS) у чоловіків і жінок з ЦД 2 типу під впливом терапії арГПП-1 (бали)

Шкали опитувальника та статистичні показники		Загальна група (n=88)		Чоловіки (n=38)		Жінки (n=50)	
		Візит 1	Візит 2	Візит 1	Візит 2	Візит 1	Візит 2
Сумарний бал	M	13,55	11,35	11,46	9,96	15,72	12,80
	m	0,98	0,77	1,16	0,93	1,48	1,19
	p	p=0,001		p=0,064		p=0,009	
«Тривога»	M	6,69	6,08	5,50	5,54	7,92	6,64
	m	0,51	0,45	0,59	0,54	0,79	0,72
	p	p=0,127		p=0,929		p=0,058	
«Депресія»	M	6,80	5,27	5,85	4,42	7,80	6,16
	m	0,56	0,45	0,69	0,55	0,87	0,68
	p	p<0,001		p=0,020		p=0,009	

Примітка: достовірна різниця між показниками до і після лікування - p<0,05

З використанням іншої шкали – «Оцінка дистресу при цукровому діабеті» (Diabetes Distress Screening Scale, **DDS**), у загальній групі хворих (n=88) середня сумарна оцінка дистресу після лікування поліпшилась за всіма 4-ма субшкалами (табл. 5.4).

У групі чоловіків достовірне зниження балів відзначено за шкалою сумарного дистресу та емоційного навантаження, тоді як за субшкалами 2 – 4 достовірних змін показників не виявлено.

Таблиця 5.4. Оцінка дистресу при діабеті за шкалою Diabetes Distress Screening Scale (DDS) у чоловіків і жінок з ЦД 2 типу під впливом терапії арГПП-1 (M±m, бали)

Шкали опитувальника та статистичні показники		Загальна група n=88		Чоловіки n=38		Жінки n=50	
		Візит 1	Візит 2	Візит 1	Візит 2	Візит 1	Візит 2
Сумарний середній дистрес	M	2,07	1,62	1,77	1,55	2,38	1,69
	m	0,14	0,08	0,15	0,10	0,23	0,11
	p	p<0,001		p=0,022		p<0,001	
1–«Емоційне навантаження»	M	2,58	1,99	2,25	1,92	2,92	2,07
	m	0,18	0,14	0,22	0,20	0,28	0,21
	p	p<0,001		p=0,027		p<0,001	
2–«Дистрес, пов'язаний з режимом»	M	2,19	1,73	1,88	1,63	2,51	1,82
	m	0,17	0,10	0,20	0,12	0,28	0,15
	p	p<0,001		p=0,061		p=0,002	
3–«Дистрес, пов'язаний з лікарем»	M	1,26	1,01	1,11	1,02	1,42	1,00
	m	0,12	0,01	0,08	0,01	0,22	0,00
	p	p=0,039		p=0,299		p=0,002	
4–«Міжособис- тісний дистрес»	M	2,06	1,51	1,71	1,47	2,43	1,56
	m	0,19	0,12	0,21	0,12	0,31	0,21
	p	p<0,001		p=0,183		p=0,002	

Примітка: достовірні різниця між показниками до і після лікування - p<0,05

У пацієнтів жіночої статі після лікування відзначені позитивні зміни (зменшення балів) за чотирма субшкалами: емоційного навантаження, дистресу, пов'язаного з режимом та з лікарем, міжособистісного дистресу. Це

свідчить про особливо сприятливий ефект застосованої терапії на нейропсихологічний статус пацієнок, можливо, у зв'язку з покращенням вуглеводного та ліпідного обміну, що чинить позитивний вплив на функції нервової системи.

Як відомо, несприятливі стресові обставини (до яких можна віднести як захворювання на ЦД 2 типу, так і зовнішні умови) пов'язані з активацією симпато-адреналової системи та посиленою секрецією наднирниками стресового гормону – кортизолу. Хронічне підвищення рівня кортизолу чинить негативний вплив на метаболічні процеси, сприяє старінню, розвитку метаболічного синдрому тощо, отже може брати участь в патогенезі ЦД 2 типу.

Оцінку дисбалансу кортизолу проводили за допомогою опитувальника, який включає можливі симптоми та прояви гіперкортизолемії (табл. 5.5).

Таблиця 5.5. Оцінка гормонального дисбалансу кортизолу в пацієнтів з ЦД 2 типу під впливом терапії арГПП-1 (бали)

№ візиту	Статистичний показник	Загальна група n=88	Чоловіки n=38	Жінки n=50
Візит 1	M	9,71	7,88	11,60
	m	0,81	0,95	1,23
Візит 2	M	8,24	7,27	9,24
	m	0,72	0,98	1,03
p		p<0,001	p=0,147	p<0,001

Примітка: достовірна різниця між показниками до і після лікування - p<0,05

Результати, отримані з використанням опитувальника для оцінки гормонального дисбалансу кортизолу, продемонстрували достовірне зниження після лікування середнього показника балів по даній шкалі в загальній групі. Після розподілу за статтю достовірне зниження балів відмічено лише у жінок, тоді як у чоловіків не виявлено достовірних змін. Подібні результати отримані за шкалою дистресу при діабеті, згідно з якою достовірні зміни всіх оцінок

дистресу виявлено у групі жінок, на відміну від чоловіків, де зменшились оцінки лише за двома підшкалами (див. табл. 5.4).

Оскільки кортизол є важливим глюкокортикоїдним гормоном, який контролює стресові реакції та чинить суттєвий вплив на метаболічні процеси [234], зменшення проявів підвищеного рівня кортизолу під впливом терапії арГПП-1 може бути чинником, що сприяє зменшенню метаболічних та нейропсихологічних порушень у хворих на ЦД 2 типу.

Отримані дані опитування пацієнтів за тестом COPE не виявили суттєвих змін оцінок до і після лікування препаратами арГПП-1 (табл. 5.6). Лише в групі чоловіків достовірні зміни виявлено за двома шкалами: F3 (Концентрація на емоціях та їх активний вираз) та F13 (Прийняття).

Таблиця 5.6. Оцінка подолання стресу (COPE) у чоловіків і жінок з ЦД 2 типу на тлі застосування арГПП-1 (M±m)

Шкала, бали	Статист. показник	Чоловіки (n=38)		Жінки (n=50)	
		Візит 1	Візит 2	Візит 1	Візит 2
F1: Позитивне переформулювання та особистісне зростання	M	12,81	12,54	13,00	12,84
	m	0,51	0,54	0,56	0,48
	p	p=0,587		p=0,767	
F2: Уявне уникнення проблеми	M	8,35	8,31	9,72	10,20
	m	0,57	0,55	0,58	0,54
	p	p=0,945		p=0,309	
F3: Концентрація на емоціях та їх активний вираз	M	9,15	10,27	10,24	9,56
	m	0,52	0,53	0,67	0,60
	p	p=0,033		p=0,270	
F4: Використання інструментальної соціальної підтримки	M	10,42	10,19	10,80	10,64
	m	0,58	0,65	0,62	0,71
	p	p=0,678		p=0,820	
F5: Активне подолання	M	13,00	12,58	12,80	12,48
	m	0,52	0,53	0,54	0,64
	p	p=0,420		p=0,528	
F6: Заперечення	M	8,54	8,73	9,52	9,96
	m	0,61	0,55	0,68	0,64
	p	p=0,759		p=0,420	
F7: Звернення до релігії	M	9,15	8,96	10,12	11,24
	m	0,76	0,64	0,83	0,83
	p	p=0,707		p=0,055	
F8: Гумор	M	11,12	10,27	10,84	11,20
	m	0,70	0,76	0,67	0,60

	p	p=0,226		p=0,503	
F9: Поведінкове уникнення проблеми	M	8,38	8,50	8,96	9,00
	m	0,51	0,48	0,49	0,59
	p	p=0,828		p=0,945	
F10: Стримування	M	10,96	10,12	10,84	10,92
	m	0,51	0,44	0,60	0,51
	p	p=0,149		p=0,866	
F11: Використання емоційної соціальної підтримки	M	10,42	9,96	11,36	11,32
	m	0,66	0,63	0,60	0,76
	p	p=0,478		p=0,937	
F12: Використання «заспокійливих»	M	4,85	5,12	5,96	5,92
	m	0,29	0,32	0,75	0,66
	p	p=0,426		p=0,945	
F13: Прийняття	M	11,73	10,00	11,64	11,60
	m	0,59	0,58	0,64	0,66
	p	p=0,007		p=0,929	
F14: Придушення конкуруючої діяльності	M	11,65	11,81	11,88	11,72
	m	0,60	0,61	0,52	0,67
	p	p=0,797		p=0,797	
F15: Планування	M	12,85	12,08	12,84	12,36
	m	0,50	0,53	0,47	0,56
	p	p=0,203		p=0,372	

Примітка: p – достовірна різниця між показниками до і після лікування у чоловіків і жінок - $p < 0,05$

Виявлено гендерні відмінності результатів опитування, а саме жінки частіше, ніж чоловіки, використовують уявне уникнення проблеми, концентрації на емоціях та їх активного вираження, заперечення або прийняття проблеми, а також використання інструментальної та емоційної соціальної підтримки. В цілому ці особливості відповідають існуючим даним про схильність жінок до емоційного реагування та більшу готовність використовувати соціальну підтримку у важких ситуаціях.

Таким чином, у групах чоловіків і жінок з ЦД 2 типу після лікування арГПП-1 за шкалою HADS спостерігалось зниження сумарної оцінки та балів за шкалою депресії в загальній групі, що відбувалось як в групі жінок, так і в чоловіків. За шкалою «тривога» не було достовірних змін оцінок HADS в обох групах.

З використанням тесту оцінки дистресу при діабеті (DDS) у пацієнтів жіночої статі на тлі лікування арГПП-1 виявлені позитивні зміни показників за

всіма шкалами, в той час як у чоловіків знизилась оцінка середнього сумарного дистресу та емоційного навантаження.

Застосування тесту для оцінки гормонального дисбалансу кортизолу продемонструвало зниження балів після лікування в загальній групі хворих, переважно за рахунок зміни оцінок у групі жінок, що перекликається з результатами оцінки дистресу при діабеті в даній групі.

Не виявлено достовірних відмінностей до і після лікування у обстежених пацієнтів обох груп при використанні опитувальників для оцінки подолання стресу (COPE), хоча спостерігались гендерні відмінності оцінок, пов'язані з більшою емоційністю у жінок.

Отримані результати свідчать про позитивні зміни нейропсихологічних характеристик під впливом терапії арГПП-1 на тлі поліпшення морфо-метаболических показників у пацієнтів з ЦД 2 типу, що супроводжувалось, за нашими даними, поліпшенням функції кишкової мікробіоти: підвищенням секреції КЛЖК та зменшенням рівня ендотеліотоксичного метаболіта ТМАО.

РОЗДІЛ 6. АНАЛІЗ РОЗМІРУ КЛІНІЧНОГО ЕФЕКТУ ТЕРАПІЇ арГПП-1 НА ГОРМОНАЛЬНО-МЕТАБОЛІЧНІ ПОКАЗНИКИ ТА РІВЕНЬ ПСИХОЛОГІЧНОГО ДИСТРЕСУ У ПАЦІЄНТІВ З ЦД 2 ТИПУ

6.1 Клінічні ефекти терапії арГПП-1 на морфо-метаболічні показники пацієнтів з ЦД 2 типу

Проаналізовано клінічний ефект застосування арГПП-1 на антропометрично-композиційні та метаболічні показники обстежених пацієнтів з ЦД 2 типу.

Таблиця 6.1 демонструє, що найбільш сильний клінічний ефект терапії арГПП-1 (обчислений за різницею початкових та кінцевих результатів) проявлявся щодо показників об'єму талії, глікемічної компенсації, тригліцеридемії, ЛПДНЩ, рівнів ГПП-1 та ТМАО в крові. Середній ефект спостерігався для показників ІМТ, маси тіла, вісцерального жиру, скелетно-вісцерального індексу (СВІ), загального холестерину, ЛПНЩ, рівнів КЛЖК (оцтової, пропіонової, масляної).

Таблиця 6.1. Визначення розміру клінічного ефекту терапії арГПП-1 за динамікою морфо-метаболічних показників між візитом 1-2

Показники	1 візит M+SD	2 візит M+SD	Різниця візит 1-2 (95%ДІ)	Розмір ефекту (Hedges)	ниж- ній 95% ДІ	верх- ній 95% ДІ
Маса тіла	104.53±17.58	94.26±18.21	-10.28 (-12.32; -9.24)	0,57	0,08	1,05
ІМТ	36.22±5.23	32.51±5.68	-3.72 (-4.62; -3.26)	0,67	0,18	1,16
ОТ	118.85±10.36	109.38±11.4	-9.47 (-11.63; -8.37)	0,86	0,36	1,36
% жиру	39.51±8.28	34.29±9.02	-5.22 (-6.91; -4.36)	0,60	0,11	1,08
% води	44.08±5.91	47.83±5.97	3.75 (2.26; 4.51)	0,62	0,14	1,11
М'язова маса	59.64±12.18	57.51±11.57	-2.13 (-3.15; -1.61)	0,18	-0,30	0,65
Кісткова маса	3.19±0.64	3.08±0.61	-0.11 (-0.17; -0.08)	0,17	-0,30	0,65
Базальний метаболізм	1928.79±392.18	1778.79±319.14	-150 (-225.75; -111.35)	0,41	-0,07	0,90
Метаболічний вік	68.44±9.43	63.91±10.95	-4.53 (-7.61; -2.96)	0,44	-0,04	0,92

Вісцеральний жир	15.93±4.43	13.25±4.11	-2.68 (-3.76; -2.13)	0,62	0,13	1,11
СВІ	3.75±0.77	4.43±1.06	0.69 (0.44; 0.82)	0,73	0,23	1,22
НьАІС	8.5±1.13	6.67±1.16	-1.83 (-2.2; -1.64)	1,58	1,04	2,12
Глюкоза	8.94±2.05	6.88±1.49	-2.06 (-2.65; -1.76)	1,14	0,62	1,65
ЗХС	5.13±1.46	4.43±1.32	-0.7 (-1.15; -0.47)	0,50	0,01	0,98
ТГ	2.34±1.03	1.44±0.75	-0.9 (-1.25; -0.72)	0,99	0,48	1,49
ЛПВЩ	1.13±0.22	1.24±0.29	0.11 (0.01; 0.16)	0,42	-0,06	0,90
ЛПНЩ	2.94±1.11	2.36±1.17	-0.58 (-0.95; -0.39)	0,50	0,02	0,99
ЛПДНЩ	1.12±0.41	0.66±0.24	-0.46 (-0.58; -0.4)	1,35	0,83	1,88
КЛЖК оцтова	1212.77±453.71	1515.54±518.95	302.77 (69.29; 421.89)	0,61	0,13	1,10
КЛЖК пропіонова	535.28±233.6	737.9±339.44	202.63 (94.09; 258.01)	0,69	0,20	1,18
КЛЖК масляна	382.32±177.09	547.85±317.93	165.54 (73.48; 212.51)	0,64	0,15	1,12
ГПП-1	1.15±0.63	3±2.06	1.85 (1.05; 2.26)	1,19	0,54	1,85
ТМАО	7.51±1.37	6.38±1.41	-1.13 (-1.54; -0.92)	0,80	0,31	1,30

Примітка: Шкала оцінки величини ефекту (Hedges, Cohen)

до 0.2 незначний ефект (відсутність)

0.2 - 0.5 слабкий ефект

0.5-0.8 помірний (середній) ефект

вище 0.8 значний (сильний) ефект

6.2. Клінічні ефекти терапії арГПП-1 на рівень дистресу пацієнтів з ЦД 2 типу

Проведено оцінку розміру клінічного ефекту (Effect Size) терапії арГПП-1 (табл. 6.2) щодо характеристик психоемоційного стану, рівня психологічного дистресу, нейропсихологічних порушень, отриманих шляхом тестування з застосуванням відповідних анкет (опитувальників).

Таблиця 6.2. Розрахункова величина клінічного ефекту терапії арГПП-1 за динамікою психо-емоційних показників між візитами 1-2

Показники	1 візит (M±SD)	2 візит (M±SD)	Різниця візит 1-2 (95% ДІ)	Розмір ефекту (Hedges)	нижній 95% ДІ	верхній 95% ДІ	P
ОГДК	9.71±5.78	8.24±5.11	-1.47 (-3.6; 0.7)	-0,27	-0,48	0,48	0,177

DDS загальний бал	2.07±1	1.62±0.54	-0.45 (-0.8; -0.1)	-0,56	0,08	1,05	0,006
DDS емоційне навантаження	2.58±1.31	1.99±1.03	-0.59 (-1.1; -0.1)	-0,50	0,18	1,16	0,013
DDS дистрес пов'язаний з режимом	2.19±1.24	1.73±0.69	-0.46 (-0.9; -0.1)	-0,45	0,36	1,36	0,024
DDS_дистрес пов'язаний з лікарем	1.26±0.84	1.01±0.05	-0.25 (-0.5; 0)	-0,42	0,11	1,08	0,036
DDS міжособистісний дистрес	2.06±1.35	1.51±0.86	-0.55 (-1; -0.1)	-0,48	0,14	1,11	0,016
HADS загальний бал	13.55±6.97	11.35±5.52	-2.2 (-4.7; 0.3)	-0,35	-0,30	0,65	0,080
HADS Тривога	6.69±3.67	6.08±3.22	-0.61 (-2; 0.7)	-0,18	-0,40	0,56	0,374
HADS Депресія	6.8±4.03	5.27±3.22	-1.53 (-3; -0.1)	-0,42	-0,30	0,65	0,037
F1_0	12.9±2.69	12.69±2.57	-0.21 (-1.2; 0.8)	-0,08	-0,07	0,90	0,688
F2_0	9.02±2.96	9.24±2.9	0.22 (-1.4; 0.9)	0,07	-0,04	0,92	0,705
F3_0	9.69±3.04	9.92±2.86	0.23 (-1.4; 0.9)	0,08	0,13	1,11	0,695
F4_0	10.61±2.99	10.41±3.41	-0.2 (-1.5; 1.1)	-0,06	0,23	1,22	0,753
F5_0	12.9±2.65	12.53±2.93	-0.37 (-1.5; 0.7)	-0,13	1,04	2,12	0,505
F6_0	9.02±3.26	9.33±3.04	0.31 (-1.5; 0.9)	0,10	0,62	1,65	0,621
F7_0	9.63±3.99	10.08±3.87	0.45 (-2; 1.1)	0,11	0,01	0,98	0,564
F8_0	10.98±3.44	10.73±3.46	-0.25 (-1.6; 1.1)	-0,07	0,48	1,49	0,715
F9_0	8.67±2.53	8.75±2.7	0.08 (-1.1; 0.9)	0,03	-0,06	0,90	0,878
F10_0	10.9±2.76	10.51±2.39	-0.39 (-1.4; 0.6)	-0,15	0,02	0,99	0,447
F11_0	10.88±3.2	10.63±3.54	-0.25 (-1.6; 1.1)	-0,07	0,83	1,88	0,709
F12_0	5.39±2.84	5.51±2.58	0.12 (-1.2; 0.9)	0,04	0,13	1,10	0,824
F13_0	11.69±3.07	10.78±3.19	-0.91 (-2.1; 0.3)	-0,29	0,20	1,18	0,145
F14_0	11.76±2.8	11.76±3.18	0 (-1.2; 1.2)	0,00	0,15	1,12	1,000
F15_0	12.84±2.42	12.22±2.74	-0.62 (-1.6; 0.4)	0,24	0,54	1,85	0,229

Примітка: Шкала оцінки величини ефекту (Hedges, Cohen)

до 0.2 незначний ефект (відсутність)

0.2 - 0.5 слабкий ефект

0.5-0.8 помірний (середній) ефект

Застосування терапії арГПП-1 чинило помірний/слабкий достовірний ефект щодо зменшення сумарного балу за шкалою дистресу при діабеті (DDS) (підшкали «емоційне навантаження», «дистрес пов'язаний з режимом», «пов'язаний з лікарем», «Міжособистісний дистрес»). Відзначено достовірний середній/слабкий ефект за Госпітальною шкалою тривоги та депресії HADS (загальний бал та підшкала Депресія). За даними опитувальника подолання

стресу спостерігалось покращення за стратегіями F13 (гумор) та F15 (уявне уникнення проблеми), решта шкал не виявили суттєвих змін оцінки після лікування.

Таким чином, довгострокова терапія ліраглутидом сприяла поліпшенню як морфо-метаболических параметрів, так і психо-емоційного статусу у пацієнтів з ЦД 2 типу, що доводять розрахунки клінічного ефекту за динамікою зміни досліджуваних показників у порівнянні з вихідними рівнями.

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Проблема дослідження причин та механізмів порушення метаболічних процесів при МС та ЦД 2 типу є однією з найбільш актуальних у сучасній медицині, у зв'язку зі зростаючою поширеністю дисметаболічних станів та їх важкими наслідками для здоров'я населення у сучасному світі. Дисглікемія, дисліпідемія, відомі як фактори ризику та патогенетичні чинники виникнення численних дисфункцій серцево-судинної, нервової, ниркової, опорно-рухової системи, які знижують якість життя, підвищують частоту втрати працездатності та смертності [236]. За даними молекулярно-генетичних досліджень встановлено, що в етіопатогенезі метаболічних захворювань важливу роль відіграє порушення складу і функції кишкового мікробіоценозу (дисбіоз), який може спричиняти зміни біодоступності, перетворення, абсорбції поживних речовин, а також виступати в якості джерела епігенетичних (позагенетичних) модифікацій в організмі за рахунок продукції кишковими мікроорганізмами біологічно активних метаболітів [237, 238]. Роль мікробіоти кишківника у здорових людей і при різних захворюваннях сьогодні є предметом інтенсивного вивчення. Накопичені дані свідчать про зв'язок між порушеннями складу і функції мікробіома кишківника та патофізіологією МС та ЦД 2 типу.

Визначення кількісного вмісту різноманітних розчинних метаболітів (біомаркерів) у біологічних рідинах сьогодні широко застосовується в медичних дослідженнях, отримавши назву метаболічне фенотипування (метаболоміка), що дозволяє індивідуалізувати підходи до визначення патофізіологічних механізмів обмінних порушень та способів їх корекції [237-239]. Низькомолекулярні продукти мікробіальної життєдіяльності можуть безпосередньо впливати на функцію імунних та ентероендокринних клітин в кишківнику, а також через кишковий епітелій потрапляти до портального та системного кровотоку, зумовлюючи відповідні біологічні ефекти [7, 65]. Зокрема, прикладом спільної регуляції кишківника та метаболізму організму в цілому є секреція з кишківника інкретинових гормонів, таких як ГПП-1, на яку

безпосередньо впливають кишкова мікробіота та продуковані нею низькомолекулярні метаболіти [240].

Різноманітний склад мікробіоти кишківника призводить до утворення метаболітів, до яких належать, з одного боку, КЛЖК та жовчні кислоти, які допомагають зберігати гомеостаз в організмі, з іншого боку – так звані «небезпечні метаболіти», такі як триметиламін-N-оксид (ТМАО), метаболіти амінокислот і метаболіти ліпідів. У фізіологічних умовах ці біоактивні молекули діють як мультисистемні проміжні продукти, які підтримують метаболізм та імунний гомеостаз, регулюють різні аспекти ендокринної та імунної систем у відповідь на сигнали навколишнього середовища. Шляхом взаємодії з кишковими епітеліальними клітинами, кишковими резидентними імунними клітинами або циркулюючими імунними клітинами, мікробіальні метаболіти ефективно регулюють стан периферичних тканин і органів та чинять вплив на фенотип організму [87].

Згідно з новою концепцією, ТМАО належить до класу «небезпечних метаболітів», які можуть викликати метазапалення в метаболічно активних органах, тобто низькорівневе хронічне запалення, характерне для метаболічних захворювань [87]. Встановлено, що ТМАО бере участь в ушкодженні судинного русла й розвитку хронічних запальних, тромбоемболічних та атерогенних процесів, у зв'язку з чим може відображати ранній ризик ССЗ, являючи собою прогностичний біомаркер, а також вторинну мішень для терапії кардіометаболічних порушень [105, 106, 219]. Дослідження продемонстрували існування значущої позитивної кореляції між рівнями ТМАО в сироватці крові та вісцеральним жиром, тому ТМАО вважається прогностичним біомаркером ризику серцево-судинних та ниркових розладів, пов'язаних із вісцеральним ожирінням і ЦД 2 типу [197].

Виявлено, що проатерогенний ефект ТМАО здійснюється через епігенетичну модуляцію експресії мікроРНК кластеру MiR-17-92, пов'язаного із ліпідним метаболізмом та серцево-судинними захворюваннями. Підвищення регуляції мікроРНК та їх цільових генів і білків у відповідь на ТМАО може

сприяти запаленню через стимулювання експресії прозапального маркера IL-12A та згортанню крові через експресію PAI-1 (інгібітора активатора плазміногену або SERPINE1) [241, 242, 243-245].

Інші бактеріальні метаболіти – КЛЖК, є корисними компонентами, важливими для підтримки метаболічного гомеостазу організму. КЛЖК можуть постачати енергію для ентероцитів і зменшувати вироблення токсичних речовин і запалення, пригнічуючи ріст шкідливих бактерій [170, 246]. КЛЖК, що виробляються в кишківнику, взаємодіють з рецепторами клітинної поверхні та з епітеліальним та підслизовим шарами товстої кишки, беручи участь в регулюванні адипогенезу, секреції інсуліну, накопичення жиру, гомеостазу енергії та транспорту холестерину [51, 114, 130, 220]. Збільшення концентрації КЛЖК сприяє зменшенню рН кишкового середовища, що стримує ріст патогенних мікроорганізмів. Крім того, оцтова і молочна КЛЖК сприяють регуляції моторної і секреторної активності кишківника, мають послаблюючий і антимікробний ефекти. Пропіонова кислота транспортується до печінки та включається в процес глюконеогенезу, синтезу біогенних амінів, поліпшує мікроциркуляцію в слизовій оболонці кишківника і підтримує в ньому метаболічні процеси, блокує адгезію до колоноцитів умовно-патогенної мікрофлори [191, 213].

Пропіонат може також впливати на контроль маси тіла через активність симпатичної нервової системи [247]. Крім того, КЛЖК знижують експресію PPAR γ , що призводить до посилення окисного метаболізму в печінці та жировій тканині, а також зменшує накопичення жиру в організмі, протидіє стеатозу печінки та підвищує чутливість до інсуліну [248]. Результати рандомізованого клінічного дослідження за участю пацієнтів з ЦД 2 типу виявили, що КЛЖК можуть бути багатообіцяючою стратегією лікування дисфункції підшлункової залози на ранніх стадіях діабету типу I та 2 типу у людей [51].

КЛЖК можуть відновлювати та покращувати функцію бар'єру слизової оболонки кишківника, сприяючи синтезу кишкового мукозину та секреції слизу

епітеліальними клітинами кишківника, пригнічуючи секрецію прозапальних факторів, збільшуючи виробництво протизапального IL-10 та активуючи активність клітин Treg [172, 246].

Дослідження продемонстрували, що КЛЖК, індуковані *Lactobacillus*, зміцнюють функцію бар'єру слизової оболонки кишківника шляхом підвищення експресії білка щільного з'єднання та інгібування інфільтрації ліпополісахаридів (ЛПС) або ендотоксинів, таким чином підвищуючи чутливість до інсуліну [246]. Відомо, що ЛПС, що походять з грамнегативних бактерій (кишкова паличка), можуть потрапляти в кров через кишківник, викликаючи потім запалення інсуліночутливих органів (підшлункової залози, печінки та нирок) [249].

Завданням даного дослідження було вивчення ефектів препаратів групи арГПП-1 у пацієнтів з ЦД 2 типу залежно від морфо-фенотипових характеристик у взаємозв'язку з рівнями маркерів функціонального стану кишкової мікробіоти.

На першому етапі роботи досліджували взаємозв'язки антропометричних, композиційних та гормонально-метаболічних характеристик з рівнями маркера оксидативного стресу 8-ізо-PGF₂ α у 88 пацієнтів з ЦД 2 типу (розподілених на 4 групи за рівнями ІМТ), а також вивчали взаємозв'язки між ступенем ожиріння та проявами активності кишкової мікробіоти, що оцінювалась рівнями мікробіальних метаболітів (КЛЖК і ТМАО) у вибірці з 44 пацієнтів (розподілених на групи за ІМТ). Виявлено пряму залежність показника оксидативного стресу від ступеня загального ожиріння, а саме достовірно підвищені рівні 8-ізо-PGF₂ α в групі пацієнтів з морбідним ожирінням порівняно з особами без ожиріння; також виявлено кореляційні зв'язки між ІМТ та рівнями КЛЖК (оцтової, пропіонової та масляної) в копрофільтраті.

Концентрацію ГПП-1 в крові було визначено у групі з 44 хворого на ЦД 2 типу. Пацієнти з більш високим рівнем ГПП-1 (>1 пмоль/л) відрізнялись підвищенням ІМТ, рівнів загального і вісцерального жиру, порівняно з особами

з нижчими рівнями ГПП-1 (<1 пмоль/л). Не виявлено достовірної різниці рівнів ТМАО в сироватці крові та КЛЖК в копрофільтраті між двома групами хворих. Обчислено помірні кореляційні зв'язки між рівнями ГПП-1, загального та вісцерального жиру, а також слабка значима кореляція між ІМТ та рівнем ТМАО в копрофільтраті, що вказує на наявність взаємозв'язків між топографією жирової тканини, секрецією інкретинів та активністю кишкової мікробіоти.

Порівняння показників між підгрупами пацієнтів з різним ступенем ожиріння виявило, що в осіб з морбідним ожирінням відзначено більш важкі прояви ЦД та ускладнень (найвищі рівні глікемії, інсулінемії, НОМА-IR, діагностовані ССЗ в анамнезі), а також відзначено підвищений рівень ТМАО в сироватці крові порівняно з іншими групами. Не виявлено достовірних відмінностей кількості КЛЖК в копрофільтраті пацієнтів трьох груп.

Проведений аналіз даних в групах розподілених за рівнем вісцерального жиру (групи ВЖ1-ВЖ3), не дозволив виявити достовірних відмінностей між групами за показниками концентрації ГПП-1, ТМАО, HbA1c, % жиру.

Агоністи рецепторів ГПП-1, подібно до ендогенних інкретинів, не тільки збільшують секрецію інсуліну, пригнічують апетит і контролюють вагу шляхом активації рецепторів ГПП-1, вони також можуть контролювати гіперглікемію шляхом інгібування глюкагону, що секретується острівцевими α -клітинами. Препарати групи арГПП-1 здатні впливати на шляхи метаболізму ліпідів, переважно знижуючи кількість вісцерального жиру. Багатьма клінічними, експериментальними дослідженнями й мета-аналізами останнього часу доведений анорексигенний, антиобезогенний та кардіовазопротекторний ефект застосування препаратів групи арГПП-1 у пацієнтів з ЦД 2 типу [217, 250, 251, 252].

Наступне завдання даної роботи полягало у дослідженні взаємозв'язків між рівнями бактеріальних метаболітів (ТМАО, КЛЖК) та гормонально-метаболическими порушеннями у хворих на ЦД 2 типу з різними фенотипами в процесі терапії арГПП-1.

При застосуванні арГПП-1 впродовж 6 місяців, на тлі поліпшення показників глікемічної компенсації та ліпідемії, виявлено достовірне зменшення ступеня ожиріння (зниження ІМТ, ОТ), покращення показників композиції тіла (зниження % загального та вісцерального жиру, підвищення СВІ), зменшення зневоднення організму, що супроводжувалось достовірним підвищенням концентрації в копрофільтраті оцтової, пропіонової та кислоти масляної кислот ($p < 0,05$), що може свідчити про покращення функції/складу кишкової мікробіоти, а саме бактерій-продуцентів КЛЖК. На тлі застосування арГПП-1 виявлено приріст рівня ендогенного ГПП-1 в крові, що також може бути пов'язане зі зміною складу мікробіоти кишківника. Спостерігалось зниження рівня потенційно токсичного метаболіта ТМАО в сироватці крові.

Ці результати узгоджуються з даними літератури про те, що арГПП-1 можуть проявляти свою кардіовазопротекторну дію, впливаючи на серцево-судинні фактори ризику, викликаючи втрату ваги, зниження артеріального тиску, покращення ліпідного профілю та через прямий вплив на серце та ендотелій судин [217]. Клінічні випробування продемонстрували, що лікування арГПП-1 може покращити розподіл жиру та має переваги у зниженні ВЖ. Оскільки виявлено, що в осіб з ЦД 2 типу рецепторний білок до ГПП-1 переважно представлений у вісцеральній жировій тканині, на відміну від підшкірного жиру (ПЖ) [218], допускають, що ефекти арГПП-1 можуть бути специфічними для ВЖ. Це пояснюють змінами в експресії відповідних ключових ферментів метаболізму ліпідів, зокрема виявлено, що ліпогенез знижений у вісцеральній білій жировій тканині, але підвищений у підшкірній жировій тканині. Відзначено, що у гризунів активація центральних рецепторів ГПП-1 може індукувати специфічний ліполіз у ВЖ порівняно з ПЖ (через активацію симпатичної системи, де містяться рецептори ГПП-1) [120]. В мета-аналізі F.Liu та ін. продемонстровано, що лікування арГПП-1 викликало більш високе абсолютне та відсоткове зниження ВЖ порівняно з ПЖ, що свідчить про те, що арГПП-1 можуть активувати додаткові шляхи, яких не викликає обмеження калорій [244].

Після розподілу обстежених пацієнтів на групи за ступенем ожиріння, в усіх підгрупах спостерігались виражені композиційні зміни під впливом терапії арГПП-1 (зменшення ІМТ, загального і вісцерального жиру, покращення показників ліпідного комплексу), а також достовірне зниження концентрації токсичного метаболіта ТМАО. При цьому зафіксовано підвищення рівня оцтової та пропіонової кислот в групі ІМТ-1; пропіонової та масляної кислот – в групі ІМТ-2, на відміну від групи ІМТ-3 (з морбідним ожирінням), в якій не виявлено достовірної зміни рівнів КЛЖК порівняно з початковими рівнями.

Значення виявлених кількісних змін КЛЖК на тлі терапії арГПП-1 пов'язано з їх різнобічними ефектами на різні ланки метаболізму та міжтканинних взаємодій.

В наступному фрагменті роботи проведено дослідження ефективності застосування у хворих на ЦД 2 типу (n=88) препаратів групи арГПП-1 як засобів протидії розвитку нейропсихологічних та порушень, оцінюваних за допомогою анкетування у чоловіків і жінок.

Відомо, що дисметаболичні стани, до яких належить ЦД 2 типу, супроводжуються гормонально-метаболичними порушеннями, які впливають на функцію ЦНС і вищу нервову діяльність, що проявляється у вигляді центральної й периферичної нейропатії, психоемоційних та поведінкових розладів: когнітивних порушень, тривожності, депресії [232].

Дослідження продемонстрували, що застосування препаратів групи арГПП-1 сприяє послабленню нейропатології у пацієнтів з ЦД 2 типу через механізми регуляції нейрогенезу, нейрозапалення, дисбалансу секреції нейромедіаторів і синаптичної дисфункції, що може запобігати неврологічним ускладненням при ЦД 2 типу [90].

Завдання даного фрагменту роботи полягало в дослідженні впливу застосування препаратів арГПП-1 на нейропсихологічні показники у хворих на ЦД 2 типу. Психометричні характеристики пацієнтів (ступінь тривожності та депресії, оцінка дистресу, подолання стресу) у групах чоловіків і жінок з ЦД 2 типу аналізували за допомогою анкетування до та після лікування.

Застосування поширених опитувальників оцінки психоемоційного стану, рівня психологічного дистресу, нейропсихологічних порушень, а також оцінки гормонального дисбалансу кортизолу в динаміці терапії арГПП-1 виявило зниження показників депресії як у жінок, так і в чоловіків, тоді як за шкалою «тривога» зміни не були достовірними. Застосування тесту дистресу при діабеті у пацієнтів під впливом лікування арГПП-1 виявлено зниження показників середнього сумарного дистресу, особливо у жінок, де знизились показники за всіма шкалами, на відміну від чоловіків. Не було достовірних відмінностей до і після лікування у пацієнтів обох груп за даними опитувальників для оцінки подолання стресу. Виявлено зниження балів гормонального дисбалансу кортизолу після лікування в загальній групі хворих, переважно за рахунок зміни оцінок у групі жінок, що узгоджується з результатами оцінки дистресу при діабеті в даній групі.

ВИСНОВКИ

В дисертаційній роботі на основі комплексного дослідження гормонально-метаболічних показників продемонстровано нові аспекти ефектів протидіабетичних засобів групи агоністів рецепторів глюкагоноподібного пептиду-1 (арГПП-1) на функціональну активність кишкової мікробіоти та інкретинову забезпеченість у пацієнтів із ЦД 2 типу залежно від композиційно-метаболічного фенотипу.

1. Визначені закономірності змін вмісту КЛЖК у хворих на ЦД 2 залежно від морфо-фенотипових особливостей складу тіла, зокрема встановлені зворотні кореляційні зв'язки між значеннями ІМТ та рівнями оцтової, пропіонової та масляної кислот ($r = -0,28; -0,34; -0,31$ відповідно; $p < 0,05$).
2. Виявлено, що збільшення ступеня ожиріння супроводжувалось підвищенням в сироватці крові пацієнтів з ЦД 2 типу рівнів маркера оксидативного стресу 8-ізо-PGF 2α та найвищими рівнями глікемії, інсулінемії та НОМА-IR, більш важкими формами ЦД та ССЗ (наявність в анамнезі інфаркту міокарда, інсульту).
3. Встановлено, що на тлі застосування арГПП-1 протягом 6 місяців достовірно зростає рівень КЛЖК в копрофільтраті, зокрема до та після лікування середній рівень оцтової кислоти становив $1212,77 \pm 77,81$ мкг/мл та $1515,54 \pm 89,10$ мкг/мл, пропіонової - $535,28 \pm 40,06$ мкг/мл та $737,90 \pm 58,21$ мкг/мл, масляної - $382,32 \pm 30,37$ мкг/мл та $547,85 \pm 54,52$ мкг/мл відповідно ($p < 0,05$).

4. Продемонстровано, що підвищення продукції КЛЖК призводить до зростання синтезу ендogenousного інкретину ($p < 0,05$), в свою чергу, препарати аналогів інкретинів (арГПП-1) чинять позитивний вплив на склад кишкового мікробіоценозу, сприяють збагаченню бактеріями продуцентами КЛЖК.
5. Виявлено, значиму пряму кореляцію між ІМТ та рівнем ТМАО в сироватці крові ($r = 0,30$, $p < 0,05$), зворотну кореляцію рівнів КЛЖК з рівнем ТМАО (оцтова $r = -0,15$, пропіонова $r = -0,40$, $p < 0,05$, масляна $r = -0,32$, $p < 0,05$), пряму кореляцію між рівнями ТМАО та 8-ізо-PGF 2α ($r = 0,32$, $p < 0,05$) та встановлено, що прийом арГПП-1 сприяє достовірному зниженню рівня мікробіального метаболіту Триметиламін-N-оксиду в сироватці хворих на ЦД 2 типу.
6. Аналіз показників якості життя шляхом анкетування продемонстрував підвищення балів при оцінці дисбалансу кортизолу (до лікування) у пацієнтів з найвищими показниками ІМТ, % жиру, рівня ВЖ, які в свою чергу корелювали з оцінками за шкалами тривоги та депресії, дистресу при діабеті ($p < 0,05$). Виявлено, що на тлі застосування арГПП-1 спостерігалось достовірне зниження балів за ОГДК, госпітальною шкалою тривоги та депресії (в основному за рахунок зміни оцінок депресії в групі жінок).
7. Продемонстровано найбільш виражений клінічний ефект терапії арГПП-1 щодо показників ТМАО, ендogenousного ГПП-1, ТГ, ЛПДНЩ, помірний відносно рівнів КЛЖК (оцтової, пропіонової, масляної).

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. З метою відновлення порушеної метаболічної активності кишкової мікробіоти, зокрема вироблення належного рівня КЛЖК (ацетату, пропіонату, бутирату) пацієнтам з ЦД 2 типу рекомендовано призначати арГПП-1 (ліраглутид в дозі 1,8 мг).
2. Рекомендовано визначати в сироватці крові пацієнтів з ЦД 2 типу рівень проатерогенного бактеріального метаболіту ТМАО, зниження рівня якого досягається шляхом застосування арГПП-1 з метою оцінки ризику серцево-судинних та ниркових ускладнень, асоційованих з вісцеральним ожирінням.
3. Для оцінки рівня оксидативного стресу у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу доцільно визначати 8-ізо-PGF₂ α , вміст якого збільшується паралельно до зростання ступеня ожиріння та вказує на потребу в антиоксидантних засобах в комплексній терапії ЦД 2 типу, особливо при морбідному ожирінні.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. American Diabetes Association. 9. Pharmacologic Approaches to Glycemic Treatment: Standards of Medical Care in Diabetes-2020. *Diabetes Care*. 2020 Jan; 43 (Suppl 1): S98-S110. doi: 10.2337/dc20-S009.
2. American Diabetes Association Professional Practice Committee. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2022. *Diabetes Care*. 2022 Jan 1;45(Suppl 1):S17-S38. doi: 10.2337/dc22-S002.
3. Sircana A, Framarin L, Leone N, et al. Altered Gut Microbiota in Type 2 Diabetes: Just a Coincidence? *Curr Diab Rep*. 2018 Sep 13; 18(10): 98. doi: 10.1007/s11892-018-1057-6.
4. Kalra S, Das AK, Sahay RK, et al. Consensus Recommendations on GLP-1 RA Use in the Management of Type 2 Diabetes Mellitus: South Asian Task Force. *Diabetes Therapy*. 2019 Oct; 10(5): 1645–1717. doi: 10.1007/s13300-019-0669-4.
5. Nauck M, Meier J. Incretin hormones: their role in health and disease. *Diabetes Obes. Metab*. 2018 Feb; 20(1): 5-21. doi: 10.1111/dom.13129.
6. Pathak P, Xie C, Nichols RG, Ferrell JM, Boehme S, Krausz KW, Patterson AD, et al. Intestine farnesoid X receptor agonist and the gut microbiota activate G-protein bile acid receptor-1 signaling to improve metabolism. *Hepatology*. 2018 Oct; 68(4): 1574-1588. doi: 10.1002/hep.29857.
7. Sharma M, Li Y, Stoll ML, Tollefsbol TO. The Epigenetic Connection Between the Gut Microbiome in Obesity and Diabetes. *Front Genet*. 2020 Jan 15; 10: 1329. doi: 10.3389/fgene.2019.01329.

8. Khan S, Luck H, Winer S, Winer DA. Emerging concepts in intestinal immune control of obesity-related metabolic disease. *Nat Commun*. 2021 May 10; 12(1): 2598. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22727-7>.
9. Yamane S, Inagaki S. Regulation of glucagon-like peptide-1 sensitivity by gut microbiota dysbiosis. *J Diabetes Investig*. 2018 Mar; 9(2): 262-264. doi: 10.1111/jdi.12762.
10. Okubo H, Nakatsu Y, Kushiyama A, et al. Gut Microbiota as a Therapeutic Target for Metabolic Disorders. *Curr Med Chem*. 2018; 25(9): 984-1001. doi: 10.2174/0929867324666171009121702.
11. Gérard C, Vidal H. Impact of Gut Microbiota on Host Glycemic Control. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019; 10: 29. doi: 10.3389/fendo.2019.00029.
12. Ma Q, Li Y, Li P, Wang M, Wang J, Tang Z, Wang T, Luo L, Wang C, Wang T, Zhao B. Research progress in the relationship between type 2 diabetes mellitus and intestinal flora. *Biomed Pharmacother*. 2019 Sep; 117: 109138. doi: 10.1016/j.biopha.2019.109138.
13. Silva YP, Bernardi A, Frozza RL. The Role of Short-Chain Fatty Acids From Gut Microbiota in Gut-Brain Communication. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020 Jan 31; 11:25. doi: 10.3389/fendo.2020.00025.
14. Ludvik B, Frías JP, Tinahones FJ, Wainstein J, Jiang H, Robertson KE, et al. Dulaglutide as add-on therapy to SGLT2 inhibitors in patients with inadequately controlled type 2 diabetes (AWARD-10): a 24-week, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2018 May; 6(5): 370-381. doi: 10.1016/S2213-8587(18)30023-8.
15. Andersen A, Knop FK, Vilsbøll T. A Pharmacological and Clinical Overview of Oral Semaglutide for the Treatment of Type 2 Diabetes. *Drugs*. 2021 Jun;81(9):1003-1030. doi: 10.1007/s40265-021-01499-w.
16. Nauck M, Quast D, Wefers J, Meier J. GLP-1 receptor agonists in the treatment of type 2 diabetes - state-of-the-art. *Mol Metab*. 2021 Apr; 46: 101102. doi: 10.1016/j.molmet.2020.101102.

17. Samson SL, Vellank P, Blonde L, Christofides EA, Galindo RJ, Hirsch I. et al. American Association of Clinical Endocrinology Consensus Statement: Comprehensive Type 2 Diabetes Management Algorithm - 2023 Update. *Endocrine practice*. 2023; 29(5): 305–340. doi: 10.1016/j.eprac.2023.02.001.
18. Drucker DJ. Mechanisms of Action and Therapeutic Application of Glucagon-Like Peptide-1. *Cell Metab*. 2018 Apr 3; 27(4): 740–56. doi: 10.1016/j.cmet.2018.03.001.
19. Greco EV, Russo G, Giandalia A, Viazzi F, Pontremoli R, De Cosmo S. GLP-1 Receptor Agonists and Kidney Protection. *Medicina (Kaunas)*. 2019 May 31; 55(6): 233. doi: 10.3390/medicina55060233.
20. Aydin Ö, Nieuwdorp M, Gerdes V. The Gut Microbiome as a Target for the Treatment of Type 2 Diabetes. *Curr Diab Rep*. 2018 Jun 21; 18(8): 55. doi: 10.1007/s11892-018-1020-6.
21. Mao ZH, Gao ZX, Liu DW, Liu ZS, Wu P. Gut microbiota and its metabolites - molecular mechanisms and management strategies in diabetic kidney disease. *Front Immunol*. 2023 Jan 19; 14: 1124704. doi: 10.3389/fimmu.2023.1124704.
22. Ling C, Rönn T. Epigenetics in Human Obesity and Type 2 Diabetes. *Cell Metab*. 2019 May 7; 29(5): 1028-1044. doi: 10.1016/j.cmet.2019.03.009.
23. Carson C, Lawson H. Epigenetics of metabolic syndrome. *Physiol. Genomics*. – 2018 Nov 1; 50 (11): 947-955. doi: 10.1152/physiolgenomics.00072.2018.
24. Panchal S, Brown L. DNA Methylation in Adipose Tissue and Metabolic Syndrome. *J. Clin. Med*. 2020 Sep; 9(9): 2699. doi: 10.3390/jcm9092699.
25. Andreeva-Gateva P, Mihaleva I, Dimova I. Type 2 diabetes mellitus and cardiovascular risk; what the pharmacotherapy can change through the epigenetics. *Postgrad Med*. 2020 Mar; 132 (2): 109-125. doi: 10.1080/00325481.2019.1681215.
26. Rosen ED, Kaestner KH, Natarajan R, Patti ME, Sallari R, Sander M, Susztak K. Epigenetics and Epigenomics: Implications for Diabetes and Obesity. *Diabetes*. 2018 Oct; 67(10): 1923-1931. doi: 10.2337/db18-0537.

27. Rosen ED. Epigenomic and transcriptional control of insulin resistance. *J Intern Med*. 2016 Nov; 280(5): 443-456. doi: 10.1111/joim.12547.
28. Tönnies T, Rathmann W, Hoyer A, Brinks R, Kuss O. Quantifying the underestimation of projected global diabetes prevalence by the International Diabetes Federation (IDF) Diabetes Atlas. *BMJ Open Diabetes Res Care*. 2021 Aug; 9(1): e002122. doi: 10.1136/bmjdr-2021-002122.
29. Ling C. Epigenetic regulation of insulin action and secretion - role in the pathogenesis of type 2 diabetes. *J Intern Med*. 2020 Aug; 288(2): 158-167. doi: 10.1111/joim.13049.
30. Liu J, Lang G, Shi J. Epigenetic Regulation of PDX-1 in Type 2 Diabetes Mellitus. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2021 Feb 2; 14: 431-442. doi: 10.2147/DMSO.S291932.
31. Castellano-Castillo D, Moreno-Indias I, Sanchez-Alcoholado L, et al. Altered adipose tissue DNA methylation status in metabolic syndrome: relationships between global DNA methylation and specific methylation at adipogenic, lipid metabolism and inflammatory candidate genes and metabolic variables. *J. Clin. Med*. 2019 Jan 13; 8(1):87. doi: 10.3390/jcm8010087.
32. Elsharkawi I, Parambath D, Saber-Ayad M, Khan AA, El-Serafi AT. Exploring the effect of epigenetic modifiers on developing insulin-secreting cells. *Hum Cell*. 2020 Jan; 33(1): 1-9. doi: 10.1007/s13577-019-00292-y.
33. Qian XH, Xie RY, Liu XL, Chen SD, Tang HD. Mechanisms of Short-Chain Fatty Acids Derived from Gut Microbiota in Alzheimer's Disease. *Aging Dis*. 2022 Jul 11; 13(4): 1252-1266. doi: 10.14336/AD.2021.1215.
34. van der Hee B, Wells JM. Microbial Regulation of Host Physiology by Short-chain Fatty Acids. *Trends Microbiol*. 2021 Aug; 29(8): 700-712. doi: 10.1016/j.tim.2021.02.001.
35. Krautkramer KA, Kreznar JH, Romano KA, Vivas EI, Barrett-Wilt GA, Rabaglia ME, et al. Diet-Microbiota Interactions Mediate Global Epigenetic Programming in Multiple Host Tissues. *Mol Cell*. 2016 Dec 1; 64(5): 982-992. doi: 10.1016/j.molcel.2016.10.025.

36. Stock J. Gut Microbiota: An Environmental Risk Factor for Cardiovascular Disease. *Atherosclerosis*. 2013 Aug; 229 (2): 440–42. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2013.05.019.
37. Díez-Ricote L, Ruiz-Valderrey P, Micó V, Blanco R, Tomé-Carneiro J, Dávalos A, Ordovás JM, Daimiel L. TMAO Upregulates Members of the miR-17/92 Cluster and Impacts Targets Associated with Atherosclerosis. *Int J Mol Sci*. 2022 Oct 11; 23(20): 12107. doi: 10.3390/ijms232012107.
38. Díez-Ricote L, Ruiz-Valderrey P, Micó V, Blanco-Rojo R, Tomé-Carneiro J, Dávalos A, et al. Trimethylamine n-Oxide (TMAO) Modulates the Expression of Cardiovascular Disease-Related microRNAs and Their Targets. *Int J Mol Sci*. 2021 Oct 15; 22(20): 11145. doi: 10.3390/ijms222011145.
39. Schiattarella G, Sannino A, Toscano E, Giugliano G, Gargiulo G, Franzone A, et al. Gut microbe-generated metabolite trimethylamine-N-oxide as cardiovascular risk biomarker: a systematic review and dose-response meta-analysis. *European heart journal*. 2017 Oct 14; 38(39): 2948–2956. doi: 10.1093/eurheartj/ehx342.
40. Gillberg L, Rönn T, Jørgensen SW, Perfilyev A, Hjort L, Nilsson E, et al. Fasting unmasks differential fat and muscle transcriptional regulation of metabolic gene sets in low versus normal birth weight men. *EBioMedicine*. 2019 Sep; 47: 341–351. doi: 10.1016/j.ebiom.2019.08.017.
41. Hjort L, Jørgensen S, Gillberg L, et al. 36 h fasting of young men influences adipose tissue DNA methylation of LEP and ADIPOQ in a birth weight-dependent manner. *Clin Epigenetics*. 2017 Apr 21; 9: 40. doi: 10.1186/s13148-017-0340-8.
42. Perfilyev A, Dahlman I, Gillberg L, et al. Erratum for Perfilyev et al. Impact of polyunsaturated and saturated fat overfeeding on the DNA-methylation pattern in human adipose tissue: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr*. 2017 Jul; 106(1): 325. doi: 10.3945/ajcn.117.159764.
43. Ling C, Rönn T. Epigenetics in Human Obesity and Type 2 Diabetes. *Cell Metab*. 2019 May 7; 29(5): 1028–1044. doi: 10.1016/j.cmet.2019.03.009.
44. Heianza Y, Qi L. Gene-Diet Interaction and Precision Nutrition in Obesity. *Int J Mol Sci*. 2017 Apr 7; 18(4): 787. doi: 10.3390/ijms18040787.

45. Rattarasarn C. Dysregulated lipid storage and its relationship with insulin resistance and cardiovascular risk factors in non-obese Asian patients with type 2 diabetes. *Adipocyte*. 2018; 7(2): 71-80. doi: 10.1080/21623945.2018.1429784.
46. Sami W, Ansari T, Butt N, Ab Hamid R. Effect of diet on type 2 diabetes mellitus: A review *Int J Health Sci. (Qassim)*. 2017; 11(2): 65–71. PMID: 28539866; PMCID: PMC5426415.
47. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen YY, Keilbaugh SA, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011 Oct 7; 334(6052): 105-8. doi: 10.1126/science.1208344.
48. Sender R, Fuchs S, Milo R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biol*. 2016 Aug 19; 14(8): e1002533. doi: 10.1371/journal.pbio.1002533.
49. Lopez-Legarrea P, Fuller NR, Zulet MA, Martinez JA, Caterson ID. The influence of Mediterranean, carbohydrate and high protein diets on gut microbiota composition in the treatment of obesity and associated inflammatory state. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2014; 23(3): 360-8. doi: 10.6133/apjcn.2014.23.3.16.
50. Fallet M, Blanc M, Di Criscio M, Antczak P, Engwall M, Guerrero Bosagna C, et al. Present and future challenges for the investigation of transgenerational epigenetic inheritance. *Environ Int*. 2023 Feb; 172: 107776. doi: 10.1016/j.envint.2023.107776.
51. Zhao L, Chen Y, Xia F, Abudukerimu B, Zhang W, Guo Y, Wang N, Lu Y. A Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Agonist Lowers Weight by Modulating the Structure of Gut Microbiota. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018 May 17; 9: 233. doi: 10.3389/fendo.2018.00233.
52. Harsch IA, Konturek PC. The role of gut microbiota in obesity and type 2 and type 1 diabetes mellitus: new insights into “Old” diseases. *Med Sci (Basel)*. 2018 Apr 17; 6(2): 32. doi: 10.3390/medsci6020032.
53. Miro-Blanch J, Yanes O. Epigenetic Regulation at the Interplay Between Gut Microbiota and Host Metabolism. *Front Genet*. 2019 Jul 5; 10:638. doi: 10.3389/fgene.2019.00638.

54. Bhat MI, Kapila R. Dietary metabolites derived from gut microbiota: critical modulators of epigenetic changes in mammals. *Nutr Rev.* 2017 May 1;75(5):374-389. doi: 10.1093/nutrit/nux001.
55. Kaline K, Bornstein S, Bergmann A, Hauner H, Schwarz P. The importance and effect of dietary fiber in diabetes prevention with particular consideration of whole grain products. *Horm Metab Res.* 2007 Sep; 39 (9): 687-93. doi: 10.1055/s-2007-985811.
56. Hata T, Ohta T, Ishii Y, Sasase T, Yamaguchi T, et al. Elevated glucagon-like peptide-1 on a high-fat diet feeding prevents the incidence of diabetes mellitus in Spontaneously Diabetic Torii Leprfa rats. *J Diab Mellitus.* 2012; 2(2): 19345. DOI: 10.4236/jdm.2012.22027.
57. Castellano-Castillo D, Moreno-Indias I, Sanchez-Alcoholado L, et al. Altered adipose tissue DNA methylation status in metabolic syndrome: relationships between global DNA methylation and specific methylation at adipogenic, lipid metabolism and inflammatory candidate genes and metabolic variables. *J. Clin. Med.* 2019 Jan 13; 8(1):87. doi: 10.3390/jcm8010087.
58. Qin J, Li Y, Cai Z, Li S, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature.* 2012 Oct 4; 490(7418): 55-60. doi: 10.1038/nature11450.
59. Mehta V, Nagu P, Inbaraj BS, Sharma M, Parashar A, Sridhar K. Epigenetics and Gut Microbiota Crosstalk: A potential Factor in Pathogenesis of Cardiovascular Disorders. *Bioengineering (Basel).* 2022 Dec 13; 9(12): 798. doi: 10.3390/bioengineering9120798.
60. Lu Y, Yuan X, Wang M, He Z, Li H, Wang J, Li Q. Gut microbiota influence immunotherapy responses: mechanisms and therapeutic strategies. *J Hematol Oncol.* 2022 Apr 29; 15(1):47. doi: 10.1186/s13045-022-01273-9.
61. Lopez CA, Miller BM, Rivera-Chávez F, Velazquez EM, Byndloss MX, Chávez-Arroyo A, et al. Virulence factors enhance *Citrobacter rodentium* expansion through aerobic respiration. *Science.* 2016 Sep 16; 353(6305): 1249-53. doi: 10.1126/science.aag3042.

62. Andreeva-Gateva P, Mihaleva I, Dimova I. Type 2 diabetes mellitus and cardiovascular risk; what the pharmacotherapy can change through the epigenetics. *Postgrad Med.* 2020 Mar; 132 (2): 109-125. doi: 10.1080/00325481.2019.1681215.
63. Romano KA, Rey FE. Is maternal microbial metabolism an early-life determinant of health? *Lab Anim (NY)*. 2018 Sep; 47(9): 239-243. doi: 10.1038/s41684-018-0129-1.
64. Shock T, Badang L, Ferguson B, Martinez-Guryn K. The interplay between diet, gut microbes, and host epigenetics in health and disease. *J Nutr Biochem.* 2021 Sep;95:108631. doi: 10.1016/j.jnutbio.2021.108631.
65. Li D, Li Y, Yang S, Lu J, Jin X, Wu M. Diet-gut microbiota-epigenetics in metabolic diseases: From mechanisms to therapeutics. *Biomed Pharmacother.* 2022 Sep;153:113290. doi: 10.1016/j.biopha.2022.113290.
66. Qian H, Chen Y, Nian Z, Su L, Yu H, Chen FJ, et al HDAC6-mediated acetylation of lipid droplet-binding protein CIDEC regulates fat-induced lipid storage. *J Clin Invest.* 2017 Apr 3; 127(4): 1353-1369. doi: 10.1172/JCI85963.
67. Mohammad S, Thiernemann C. Role of Metabolic Endotoxemia in Systemic Inflammation and Potential Interventions. *Front Immunol.* 2021 Jan 11; 11: 594150. doi: 10.3389/fimmu.2020.594150.
68. Beisner J, Filipe Rosa L, Kaden-Volynets V, Stolzer I, Günther C, Bischoff SC. Prebiotic Inulin and Sodium Butyrate Attenuate Obesity-Induced Intestinal Barrier Dysfunction by Induction of Antimicrobial Peptides. *Front Immunol.* 2021 Jun 11;12:678360. doi: 10.3389/fimmu.2021.678360.
69. Jess AT, Eskander GH, Vu MH, Michail S. Short-Chain Fatty Acid Levels after Fecal Microbiota Transplantation in a Pediatric Cohort with Recurrent *Clostridioides difficile* Infection. *Metabolites.* 2023 Sep 27; 13(10) :1039. doi: 10.3390/metabo13101039.
70. Tolhurst G, Heffron H, Lam YS, Parker HE, Habib AM, Diakogiannaki E, et al. Short-chain fatty acids stimulate glucagon-like peptide-1 secretion via the G-

- protein-coupled receptor FFAR2. *Diabetes*. 2012 Feb; 61(2): 364-71. doi: 10.2337/db11-1019.
71. Lazar V, Ditu LM, Pircalabioru GG, Picu A, Petcu L, Cucu N, Chifiriuc MC. Gut Microbiota, Host Organism, and Diet Trialogue in Diabetes and Obesity. *Front Nutr*. 2019 Mar 13;6:21. doi: 10.3389/fnut.2019.00021.
72. Proal AD, Lindseth IA, Marshall TG. Microbe-microbe and host-microbe interactions drive microbiome dysbiosis and inflammatory processes. *Discov Med*. 2017 Jan; 23(124): 51-60.
73. Brito IL, Yilmaz S, Huang K, Xu L, Jupiter SD, Jenkins AP, et al. Mobile genes in the human microbiome are structured from global to individual scales. *Nature*. 2016 Jul 21;535(7612):435-439. doi: 10.1038/nature18927.
74. Goodrich JK, Waters JL, Poole AC, Sutter JL, Koren O, Blekhman R, et al. Human genetics shape the gut microbiome. *Cell*. 2014 Nov 6; 159(4): 789-99. doi: 10.1016/j.cell.2014.09.053.
75. Compare D, Rocco A, Sanduzzi Zamparelli M, Nardone G. The Gut Bacteria-Driven Obesity Development. *Dig Dis*. 2016; 34(3): 221-9. doi: 10.1159/000443356.
76. Kim JW, Hong YK, Kwon OK, Kim SC. Difference of Microbial Community in the Stream Adjacent to the Mixed Antibiotic Effluent Source. *Toxics*. 2024 Feb 7; 12(2): 135. doi: 10.3390/toxics12020135.
77. Kong LC, Holmes BA, Cotillard A, Habi-Rachedi F, Brazeilles R, Gougis S, et al. Dietary patterns differently associate with inflammation and gut microbiota in overweight and obese subjects. *PLoS One*. 2014 Oct 20; 9(10): e109434. doi: 10.1371/journal.pone.0109434.
78. Santiago S, Sayon-Orea C, Babio N et al. Yogurt consumption and abdominal obesity reversion in the PREDIMED study. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis*. 2016 Jun; 26(6): 468-75. doi: 10.1016/j.numecd.2015.11.012.
79. Panahi S, Tremblay A. The Potential Role of Yogurt in Weight Management and Prevention of Type 2 Diabetes. *J Am Coll Nutr*. 2016 Nov-Dec; 35(8): 717-731. doi: 10.1080/07315724.2015.1102103.

80. Wander PL, Boyko EJ, Leonetti DL, McNeely MJ, Kahn SE, Fujimoto WY. Change in visceral adiposity independently predicts a greater risk of developing type 2 diabetes over 10 years in Japanese Americans. *Diabetes Care*. 2013 Feb; 36(2): 289-93. doi: 10.2337/dc12-0198.
81. Everard A, Belzer C, Geurts L, Ouwerkerk JP, Druart C, Bindels LB, Guiot Y, Derrien M, Muccioli GG, Delzenne NM, de Vos WM, Cani PD. Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013 May 28; 110(22): 9066-71. doi: 10.1073/pnas.1219451110.
82. Lebrun LJ, Lenaerts K, Kiers D, Pais de Barros JP, Le Guern N, Plesnik J, et al. Enteroendocrine L Cells Sense LPS after Gut Barrier Injury to Enhance GLP-1 Secretion. *Cell Rep*. 2017 Oct 31;21(5):1160-1168. doi: 10.1016/j.celrep.2017.10.008.
83. Yusta B, Baggio LL, Koehler J, Holland D, Cao X, Pinnell LJ, Johnson-Henry KC, Yeung W, Surette MG, Bang KW, Sherman PM, Drucker DJ. GLP-1R Agonists Modulate Enteric Immune Responses Through the Intestinal Intraepithelial Lymphocyte GLP-1R. *Diabetes*. 2015 Jul;64(7):2537-49. doi: 10.2337/db14-1577.
84. Takiishi T, Fenero CIM, Câmara NOS. Intestinal barrier and gut microbiota: Shaping our immune responses throughout life. *Tissue Barriers*. 2017 Oct 2;5(4):e1373208. doi: 10.1080/21688370.2017.1373208.
85. Okubo H, Nakatsu Y, Kushiyaama A, et al. Gut Microbiota as a Therapeutic Target for Metabolic Disorders. *Curr Med Chem*. 2018; 25(9): 984-1001. doi: 10.2174/0929867324666171009121702.
86. Khan S, Luck H, Winer S, Winer DA. Emerging concepts in intestinal immune control of obesity-related metabolic disease. *Nat Commun*. 2021 May 10; 12(1): 2598. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22727-7>.
87. Tönnies T, Rathmann W, Hoyer A, Brinks R, Kuss O. Quantifying the underestimation of projected global diabetes prevalence by the International

- Diabetes Federation (IDF) Diabetes Atlas. *BMJ Open Diabetes Res Care*. 2021 Aug; 9(1): e002122. doi: 10.1136/bmjdr-2021-002122.
88. Wang A, Guan B, Zhang H, Xu H. Danger-associated metabolites trigger metaflammation: A crowbar in cardiometabolic diseases. *Pharmacol Res*. 2023 Dec 4; 198: 106983. doi: 10.1016/j.phrs.2023.106983.
89. Cani P, W.de Vos. Next-generation beneficial microbes: the case of *Akkermansia muciniphila*. *Front. Microbiol*. 2017 Sep 22; 8:1765. doi: 10.3389/fmicb.2017.01765.
90. Huda MN, Kim M, Bennett BJ. Modulating the Microbiota as a Therapeutic Intervention for Type 2 Diabetes. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021 Apr 7; 12: 632335. doi: 10.3389/fendo.2021.632335.
91. El Hage R, Hernandez-Sanabria E, Calatayud Arroyo M, Van de Wiele T. Supplementation of a propionate-producing consortium improves markers of insulin resistance in an in vitro model of gut-liver axis. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2020 May 1; 318(5): E742-E749. doi: 10.1152/ajpendo.00523.2019.
92. Allin KH, Nielsen T, Pedersen O. Mechanisms in endocrinology: Gut microbiota in patients with type 2 diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol*. 2015 Apr; 172(4):R167-77. doi: 10.1530/EJE-14-0874.
93. Elbere I, Silamikelis I, Dindune II, Kalnina I, Ustinova M, Zaharenko L, et al. Baseline gut microbiome composition predicts metformin therapy short-term efficacy in newly diagnosed type 2 diabetes patients. *PLoS One*. 2020 Oct 30; 15(10) :e0241338. doi: 10.1371/journal.pone.0241338.
94. Wu H, Esteve E, Tremaroli V, Khan MT, Caesar R, Mannerås-Holm L, et al. Metformin alters the gut microbiome of individuals with treatment-naive type 2 diabetes, contributing to the therapeutic effects of the drug. *Nat Med*. 2017 Jul; 23(7): 850-858. doi: 10.1038/nm.4345.
95. Hennessy AA, Ross RP, Fitzgerald GF, Caplice N, Stanton C. Role of the gut in modulating lipoprotein metabolism. *Curr Cardiol Rep*. 2014 Aug; 16(8): 515. doi: 10.1007/s11886-014-0515-2.

96. Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J, Prifti E, Hildebrand F, Falony G, et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature*. 2013 Aug 29; 500(7464): 541-6. doi: 10.1038/nature12506.
97. Cotillard A, Kennedy SP, Kong LC, Prifti E, Pons N, Le Chatelier E, et al.; ANR MicroObes consortium. Dietary intervention impact on gut microbial gene richness. *Nature*. 2013 Aug 29; 500(7464): 585-8. doi: 10.1038/nature12480.
98. Matey-Hernandez ML, Williams FMK, Potter T, Valdes AM, Spector TD, Menni C. Genetic and microbiome influence on lipid metabolism and dyslipidemia. *Physiol Genomics*. 2018 Feb 1; 50(2): 117-126. doi: 10.1152/physiolgenomics.00053.2017.
99. Dar S, Siddiqi A, Alabduladhem T, Mustafa A, Sarfraz R, Talha Maniya, et al. Effects of novel glucose-lowering drugs on the lipid parameters: A systematic review and meta-analysis. *Ann Med Surg. (Lond)*. 2022 Apr 16; 77: 103633. doi: 10.1016/j.amsu.2022.103633.
100. Fu J, Bonder MJ, Cenit MC, Tigchelaar EF, Maatman A, Dekens J, et al. The Gut Microbiome Contributes to a Substantial Proportion of the Variation in Blood Lipids. *Circ Res*. 2015 Oct 9; 117(9): 817-24. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306807.
101. Rebolledo C, Cuevas A, Zambrano T. et al. Bacterial Community Profile of the Gut Microbiota Differs between Hypercholesterolemic Subjects and Controls. *Biomed. Res. Int*. 2017; 2017:8127814. doi: 10.1155/2017/8127814.
102. Naghipour S, Cox AJ, Peart JN, Du Toit EF, Headrick JP. Trimethylamine N-oxide: heart of the microbiota–CVD nexus? *Nutrition Research Reviews*. 2021 Jun; 34(1): 125-146. doi: 10.1017/S0954422420000177.
103. Fraser K, Roy NC, Goumidi L, Verdu A, Suchon P, Leal-Valentim F, et al. Plasma Biomarkers and Identification of Resilient Metabolic Disruptions in Patients With Venous Thromboembolism Using a Metabolic Systems Approach. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2020 Oct; 40(10): 2527-2538. doi: 10.1161/ATVBAHA.120.314480.

104. Chen S, Henderson A, Petriello MC, Romano KA, Gearing M, Miao J, et al. Trimethylamine N-Oxide Binds and Activates PERK to Promote Metabolic Dysfunction. *Cell Metab.* 2019 Dec 3; 30(6):1141-1151.e5. doi: 10.1016/j.cmet.2019.08.021.
105. Wu K, Yuan Y, Yu H, Dai X, Wang S, Sun Z, Wang F, Fei H, Lin Q, Jiang H, Chen T. The gut microbial metabolite trimethylamine N-oxide aggravates GVHD by inducing M1 macrophage polarization in mice. *Blood.* 2020 Jul 23; 136(4): 501-515. doi: 10.1182/blood.2019003990.
106. Chen H, Li J, Li N, Liu H, Tang J. Increased circulating trimethylamine N-oxide plays a contributory role in the development of endothelial dysfunction and hypertension in the RUPP rat model of preeclampsia. *Hypertens Pregnancy.* 2019 May; 38 (2): 96-104. doi: 10.1080/10641955.2019.1584630.
107. Abbasian N. Vascular Calcification Mechanisms: Updates and Renewed Insight into Signaling Pathways Involved in High Phosphate-Mediated Vascular Smooth Muscle Cell Calcification. *Biomedicines.* 2021 Jul 12; 9(7): 804. doi: 10.3390/biomedicines9070804.
108. Lei L, Zhao N, Zhang L, Chen J, Liu X, Piao S. Gut microbiota is a potential goalkeeper of dyslipidemia. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022 Sep 13; 13: 950826. doi: 10.3389/fendo.2022.950826.
109. Mutalub YB, Abdulwahab M, Mohammed A, Yahkub AM, Al-Mhanna SB, Yusof W, et al. Gut Microbiota Modulation as a Novel Therapeutic Strategy in Cardiometabolic Diseases. *Foods.* 2022 Aug 25; 11(17): 2575. doi: 10.3390/foods11172575.
110. Nemet I, Saha PP, Gupta N, Zhu W, Romano KA, Skye SM, et al. A Cardiovascular Disease-Linked Gut Microbial Metabolite Acts via Adrenergic Receptors. *Cell.* 2020 Mar 5; 180(5): 862-877. e22. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.016.
111. Maffei S, Forini F, Canale P, Nicolini G, Guiducci L. Gut Microbiota and Sex Hormones: Crosstalking Players in Cardiometabolic and Cardiovascular Disease. *Int J Mol Sci.* 2022 Jun 28; 23(13): 7154. doi: 10.3390/ijms23137154.

112. Liang L, Rao E, Zhang X, Wu B, Su X, Chen L, Nie R, Nian X. GLP-1 receptor agonists modulate blood glucose levels in T2DM by affecting *Faecalibacterium prausnitzii* abundance in the intestine. *Medicine (Baltimore)*. 2023 Sep 1; 102(35): e34978. doi: 10.1097/MD.00000000000034978.
113. Madsen M, Holm J, Pallejà A, et al. Metabolic and gut microbiome changes following GLP-1 or dual GLP-1/GLP-2 receptor agonist treatment in diet-induced obese mice. *Sci Rep*. 2019 Oct 30; 9(1): 15582. doi: 10.1038/s41598-019-52103-x.
114. Sun M, Wu W, Liu Z, Cong Y. Microbiota metabolite short chain fatty acids, GPCR, and inflammatory bowel diseases. *J Gastroenterol*. 2017 Jan; 52(1): 1-8. doi: 10.1007/s00535-016-1242-9.
115. Mao ZH, Gao ZX, Liu DW, Liu ZS, Wu P. Gut microbiota and its metabolites - molecular mechanisms and management strategies in diabetic kidney disease. *Front Immunol*. 2023 Jan 19; 14: 1124704. doi: 10.3389/fimmu.2023.1124704.
116. Silva YP, Bernardi A, Frozza RL. The Role of Short-Chain Fatty Acids From Gut Microbiota in Gut-Brain Communication. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020 Jan 31; 11:25. doi: 10.3389/fendo.2020.00025.
117. Rosli NSA, Abd Gani S, Khayat ME, Zaidan UH, Ismail A, Abdul Rahim MBH. Short-chain fatty acids: possible regulators of insulin secretion. *Mol Cell Biochem*. 2023 Mar; 478(3): 517-530. doi: 10.1007/s11010-022-04528-8.
118. Pingitore A, Gonzalez-Abuin N, Ruz-Maldonado I, Huang GC, Frost G, Persaud SJ. Short chain fatty acids stimulate insulin secretion and reduce apoptosis in mouse and human islets in vitro: Role of free fatty acid receptor 2. *Diabetes Obes Metab*. 2019 Feb; 21(2): 330-339. doi: 10.1111/dom.13529.
119. Lympelopoulou A, Suster MS, Borges JI. Short-Chain Fatty Acid Receptors and Cardiovascular Function. *Int J Mol Sci*. 2022 Mar 18; 23(6): 3303. doi: 10.3390/ijms23063303.
120. Weitkunat K, Schumann S, Nickel D, Kappo KA, Petzke KJ, Kipp AP, Blaut M, Klaus S. Importance of propionate for the repression of hepatic lipogenesis and improvement of insulin sensitivity in high-fat diet-induced obesity. *Mol Nutr Food Res*. 2016 Dec; 60(12): 2611–2621. doi: 10.1002/mnfr.201600305.

121. Zhao L, Zhu C, Lu M, Chen C, Nie X, Abudukerimu B, et al. The key role of a glucagon-like peptide-1 receptor agonist in body fat redistribution. *J Endocrinology*. 2019 Feb 1; 240(2): 271–86. doi: 10.1530/JOE-18-0374.
122. Neis EP, van Eijk HM, Lenaerts K, Olde Damink SW, Blaak EE, Dejong CH, Rensen SS. Distal versus proximal intestinal short-chain fatty acid release in man. *Gut*. 2019 Apr; 68(4): 764-765. doi: 10.1136/gutjnl-2018-316161.
123. Christiansen CB, Gabe MBN, Svendsen B, Dragsted LO, Rosenkilde MM, Holst JJ. The impact of short-chain fatty acids on GLP-1 and PYY secretion from the isolated perfused rat colon. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2018 Jul 1; 315(1): G53-G65. doi: 10.1152/ajpgi.00346.2017.
124. van der Hee B, Wells JM. Microbial Regulation of Host Physiology by Short-chain Fatty Acids. *Trends Microbiol*. 2021 Aug; 29(8): 700-712. doi: 10.1016/j.tim.2021.02.001.
125. Priyadarshini M, Wicksteed B, Schiltz GE, Gilchrist A, Layden BT. SCFA Receptors in Pancreatic β Cells: Novel Diabetes Targets? *Trends Endocrinol Metab*. 2016 Sep; 27(9): 653-664. doi: 10.1016/j.tem.2016.03.011.
126. Akiba Y, Inoue T, Kaji I, Higashiyama M, Narimatsu K, Iwamoto K, et al. Short-chain fatty acid sensing in rat duodenum. *J Physiol*. 2015 Feb 1; 593(3):585-99. doi: 10.1113/jphysiol.2014.280792.
127. Collins L, Costello RA. Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Agonists. 2023 Jan 13. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan–. PMID: 31855395.
128. De Vadder F, Kovatcheva-Datchary P, Goncalves D, Vinera J, Zitoun C, Duchamp A, Bäckhed F, Mithieux G. Microbiota-generated metabolites promote metabolic benefits via gut-brain neural circuits. *Cell*. 2014 Jan 16; 156(1-2):84-96. doi: 10.1016/j.cell.2013.12.016.
129. Morrison DJ, Preston T. Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism. *Gut Microbes*. 2016 May 3; 7(3): 189-200. doi: 10.1080/19490976.2015.1134082.

130. Psichas A, Sleeth ML, Murphy KG, Brooks L, Bewick GA, Hanyaloglu AC, Ghatei MA, Bloom SR, Frost G. The short chain fatty acid propionate stimulates GLP-1 and PYY secretion via free fatty acid receptor 2 in rodents. *Int J Obes (Lond)*. 2015 Mar; 39(3): 424- 9. doi: 10.1038/ijo.2014.153.
131. Ohira H, Tsutsui W, Fujioka Y. Are Short Chain Fatty Acids in Gut Microbiota Defensive Players for Inflammation and Atherosclerosis? *J Atheroscler Thromb*. 2017 Jul 1; 24(7): 660-672. doi: 10.5551/jat.RV17006.
132. Zhao L, Zhang F, Ding X, Wu G, Lam YY, Wang X, et al. Gut bacteria selectively promoted by dietary fibers alleviate type 2 diabetes. *Science*. 2018 Mar 9; 359(6380): 1151-1156. doi: 10.1126/science.aao5774.
133. Petrov P, García-Mediavilla M, Guzmán C. A network Involving Gut Microbiota, Circulating Bile Acids, and Hepatic Metabolism Genes That Protects Against Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Mol. Nutr. Food Res*. 2019 Oct; 63(20): e1900487. doi: 10.1002/mnfr.201900487.
134. Porras D, Nistal E, Martínez-Flórez S, Olcoz JL, Jover R, Jorquera F, et al. Functional Interactions between Gut Microbiota Transplantation, Quercetin, and High-Fat Diet Determine Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Development in Germ-Free Mice. *Mol Nutr Food Res*. 2019 Apr; 63(8): e1800930. doi: 10.1002/mnfr.201800930.
135. De Fronzo RA. Banting Lecture. From the triumvirate to the ominous octet: a new paradigm for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes*. 2009 Apr; 58(4): 773-95. doi: 10.2337/db09-9028.
136. Mendoza C, Hanegan C, Sperry A, Vargas L, Case T, Bikman B, Mizrahi D. Insulin receptor-inspired soluble insulin binder. *Eur J Cell Biol*. 2023 Jun; 102(2): 151293. doi: 10.1016/j.ejcb.2023.151293.
137. Scheithauer TPM, Rampanelli E, Nieuwdorp M, Vallance BA, Verchere CB, van Raalte DH, Herrema H. Gut Microbiota as a Trigger for Metabolic Inflammation in Obesity and Type 2 Diabetes. *Front Immunol*. 2020 Oct 16; 11: 571731. doi: 10.3389/fimmu.2020.571731.

138. Nauck M, Meier J. Incretin hormones: their role in health and disease. *Diabetes Obes. Metab.* 2018 Feb; 20(1): 5-21. doi: 10.1111/dom.13129.
139. Romera I, Rubio-de Santos M, Artola S, Suárez Fernández C, Conget I. GLP-1 RAs in Spain: A Short Narrative Review of Their Use in Real Clinical Practice. *Adv Ther.* 2023 Apr; 40(4): 1418-1429. doi: 10.1007/s12325-023-02442-z.
140. Drucker DJ. Mechanisms of Action and Therapeutic Application of Glucagon-Like Peptide-1. *Cell Metab.* 2018 Apr 3; 27(4): 740–56. doi: 10.1016/j.cmet.2018.03.001.
141. Yabe D, Seino Y, Seino Y. Incretin concept revised: The origin of the insulinotropic function of glucagon-like peptide-1 - the gut, the islets or both? *J Diabetes Investig.* 2018 Jan; 9(1): 21-24. doi: 10.1111/jdi.12718.
142. Kim YA, Keogh JB, Clifton PM. Probiotics, prebiotics, synbiotics and insulin sensitivity. *Nutr Res Rev.* 2018 Jun; 31(1): 35-51. doi: 10.1017/S095442241700018X.
143. Thondam SK, Cuthbertson DJ, Wilding JPH. The influence of Glucose-dependent Insulinotropic Polypeptide (GIP) on human adipose tissue and fat metabolism: Implications for obesity, type 2 diabetes and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). *Peptides.* 2020 Mar; 125: 170208. doi: 10.1016/j.peptides.2019.170208.
144. Samson SL, Vellank P, Blonde L, Christofides EA, Galindo RJ, Hirsch I. et al. American Association of Clinical Endocrinology Consensus Statement: Comprehensive Type 2 Diabetes Management Algorithm - 2023 Update. *Endocrine practice.* 2023; 29(5): 305–340. doi: 10.1016/j.eprac.2023.02.001.
145. Fusco W, Lorenzo MB, Cintoni M, Porcari S, Rinninella E, Kaitsas F, Lener E, Mele MC, Gasbarrini A, Collado MC, Cammarota G, Ianiro G. Short-Chain Fatty-Acid-Producing Bacteria: Key Components of the Human Gut Microbiota. *Nutrients.* 2023 May 6;15(9):2211. doi: 10.3390/nu15092211.
146. Pichette J, Fynn-Sackey N, Gagnon J. Hydrogen Sulfide and Sulfate Prebiotic Stimulates the Secretion of GLP-1 and Improves Glycemia in Male Mice. *Endocrinology.* 2017 Oct 1; 158(10): 3416-3425. doi: 10.1210/en.2017-00391.

147. Donnalaja F, Izzo L, Campanile M, Perottoni S, Boeri L, Fanizza F, et al. Human gut epithelium features recapitulated in MINERVA 2.0 millifluidic organ-on-a-chip device. *APL Bioeng.* 2023 Sep 19; 7(3): 036117. doi: 10.1063/5.0144862.
148. Ørgaard A, Jepsen SL, Holst JJ. Short-chain fatty acids and regulation of pancreatic endocrine secretion in mice. *Islets.* 2019; 11(5): 103-111. doi: 10.1080/19382014.2019.1587976.
149. Lempesis IG, Georgakopoulou VE. Physiopathological mechanisms related to inflammation in obesity and type 2 diabetes mellitus. *World J Exp Med.* 2023 Jun 20; 13(3): 7-16. doi: 10.5493/wjem.v13.i3.7.
150. Fan Y, Pedersen O. Gut microbiota in human metabolic health and disease. *Nat Rev Microbiol.* 2021 Jan; 19(1): 55-71. doi: 10.1038/s41579-020-0433-9.
151. Li WZ, Stirling K, Yang JJ, Zhang L. Gut microbiota and diabetes: From correlation to causality and mechanism. *World J Diabetes.* 2020 Jul 15; 11(7): 293-308. doi: 10.4239/wjd.v11.i7.293.
152. Tanase DM, Gosav EM, Neculae E, Costea CF, Ciocoiu M, Hurjui LL, et al. Role of Gut Microbiota on Onset and Progression of Microvascular Complications of Type 2 Diabetes (T2DM). *Nutrients.* 2020 Dec 2; 12(12): 3719. doi: 10.3390/nu12123719.
153. Garber AJ, Abrahamson MJ, Barzilay J, Blonde L, et al. Consensus statement by the american association of clinical endocrinologists and american college of endocrinology on the comprehensive type 2 diabetes management algorithm - 2019 executive summary. *Endocr Pract.* 2019 Jan; 25(1): 69-100. DOI:<https://doi.org/10.4158/CS-2018-0535>.
154. Gerstein HC, Colhoun HM, Dagenais GR, Diaz R, Lakshmanan M, Pais P, et al. Dulaglutide and cardiovascular outcomes in type 2 diabetes (REWIND): a double-blind, randomised placebo-controlled trial. *Lancet.* 2019 Jul 13; 394(10193): 121-130. doi: 10.1016/S0140-6736(19)31149-3.
155. Pfeffer MA, Claggett B, Diaz R, Dickstein K, Gerstein HC, Køber LV, et al.; ELIXA Investigators. Lixisenatide in Patients with Type 2 Diabetes and Acute

- Coronary Syndrome. *N Engl J Med*. 2015 Dec 3; 373(23): 2247-57. doi: 10.1056/NEJMoa1509225.
156. Hernandez AF, Green JB, Janmohamed S, D'Agostino RB Sr, Granger CB, Jones NP. Harmony Outcomes committees and investigators. Albiglutide and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes and cardiovascular disease (Harmony Outcomes): a double-blind, randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 2018 Oct 27; 392(10157): 1519-1529. doi: 10.1016/S0140-6736(18)32261-X.
157. Kristensen SL, Rørth R, Jhund PS, Docherty KF, Sattar N, Preiss D, Køber L, Petrie MC, McMurray JJV. Cardiovascular, mortality, and kidney outcomes with GLP-1 receptor agonists in patients with type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of cardiovascular outcome trials. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2019 Oct; 7(10): 776-785. doi: 10.1016/S2213-8587(19)30249-9.
158. Caruso I, Cignarelli A, Giorgino F. Heterogeneity and Similarities in GLP-1 Receptor Agonist Cardiovascular Outcomes Trials. *Trends Endocrinol Metab*. 2019 Sep; 30 (9): 578-589. doi: 10.1016/j.tem.2019.07.004.
159. Pratley RE, Nauck MA, Barnett AH, Feinglos MN, Ovalle F, Harman-Boehm I, et al.; HARMONY 7 study group. Once-weekly albiglutide versus once-daily liraglutide in patients with type 2 diabetes inadequately controlled on oral drugs (HARMONY 7): a randomised, open-label, multicentre, non-inferiority phase 3 study. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2014 Apr; 2(4): 289-297. doi: 10.1016/S2213-8587(13)70214-6.
160. Marso SP, Daniels GH, Brown-Frandsen K, Kristensen P, Mann JF, Nauck MA, Nissen SE, Pocock S, Poulter NR, Ravn LS, Steinberg WM, Stockner M, Zinman B, Bergenstal RM, Buse JB; LEADER Steering Committee; LEADER Trial Investigators. Liraglutide and Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med*. 2016 Jul 28; 375(4): 311-22. doi: 10.1056/NEJMoa1603827.
161. Jiang Y, Liu J, Chen X, Yang W, Jia W, Wu J. Efficacy and Safety of Glucagon-Like Peptide 1 Receptor Agonists for the Treatment of Type 2 Diabetes

- Mellitus: A Network Meta-analysis. *Adv Ther.* 2021 Mar; 38(3): 1470-1482. doi: 10.1007/s12325-021-01637-6.
162. Hasanzad M, Sarhangi N, Nikfar S, Ostad S, Meybodi H. A narrative review of current trends in liraglutide: insights into the unmet needs in management of type 2 diabetes and obesity. *J. Diab.Metab. Disord.* 2020 Aug 28; 19(2): 1863-1872. doi: 10.1007/s40200-020-00619-9.
163. Moffa S, Tesori V, Sun V, et al. Liraglutide treatment in obese diabetic patients modulates gut microbiota. *Diabetes.* 2019; 68 (1): 999. DOI:10.2337/db19-999-P.
164. Gomes AC, Hoffmann C, Mota JF. The human gut microbiota: Metabolism and perspective in obesity. *Gut Microbes.* 2018 Jul 4; 9(4): 308-325. doi: 10.1080/19490976.2018.1465157.
165. Asadi A, Shadab Mehr N, Mohamadi MH, Shokri F, Heidary M, Sadeghifard N, Khoshnood S. Obesity and gut-microbiota-brain axis: A narrative review. *J Clin Lab Anal.* 2022 May; 36(5):e24420. doi: 10.1002/jcla.24420.
166. Zhang N, Tao J, Gao L, Bi Y, Li P, Wang H, Zhu D, Feng W. Liraglutide Attenuates Nonalcoholic Fatty Liver Disease by Modulating Gut Microbiota in Rats Administered a High-Fat Diet. *Biomed Res Int.* 2020 Feb 18; 2020: 2947549. doi: 10.1155/2020/2947549.
167. Charpentier J, Briand F, Lelouvier B, Servant F, Azalbert V, Puel A, et al. Liraglutide targets the gut microbiota and the intestinal immune system to regulate insulin secretion. *Acta Diabetol.* 2021 Jul; 58(7): 881-897. doi: 10.1007/s00592-020-01657-8.
168. Coşoreanu A. Probiotics and prebiotics in the prevention of gastrointestinal adverse reactions related to diabetes mellitus. *Farmacia.* 2021. 69 (2): 215-218. <https://doi.org/10.31925/farmacia.2021.2.4>.
169. Fukui H, Xu X, Miwa H. Role of Gut Microbiota-Gut Hormone Axis in the Pathophysiology of Functional Gastrointestinal Disorders. *J Neurogastroenterol Motil.* 2018 Jul 30; 24(3): 367-386. doi: 10.5056/jnm18071.

170. Zhang Q, Xiao X, Li M, Yu M, Ping F, Zheng J, et al. Vildagliptin increases butyrate-producing bacteria in the gut of diabetic rats. *PLoS One*. 2017 Oct 16; 12(10): e0184735. doi: 10.1371/journal.pone.0184735.
171. Zhang Q, Xiao X, Zheng J, Li M, Yu M, Ping F, Wang T, Wang X. Featured article: Structure moderation of gut microbiota in liraglutide-treated diabetic male rats. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2018 Jan; 243(1): 34-44. doi: 10.1177/1535370217743765.
172. Wang L, Li P, Tang Z, Yan X, Feng B. Structural modulation of the gut microbiota and the relationship with body weight: compared evaluation of liraglutide and saxagliptin treatment. *Sci Rep*. 2016 Sep 16; 6: 33251. doi: 10.1038/srep33251.
173. Shang J, Liu F, Zhang B, Dong K, Lu M, Jiang R, et al. Liraglutide-induced structural modulation of the gut microbiota in patients with type 2 diabetes mellitus. *Peer J*. 2021 Apr 1; 9: e11128. doi: 10.7717/peerj.11128.
174. Huda MN, Kim M, Bennett BJ. Modulating the Microbiota as a Therapeutic Intervention for Type 2 Diabetes. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021 Apr 7; 12: 632335. doi: 10.3389/fendo.2021.632335.
175. Savytska M, Kyriienko D, Komisarenko I, Kovalchuk O, Falalyeyeva T, Kobylak N. Probiotic for Pancreatic β -Cell Function in Type 2 Diabetes: A Randomized, Double-Blinded, Placebo-Controlled Clinical Trial. *Diabetes Ther*. 2023 Nov; 14(11): 1915-1931. doi: 10.1007/s13300-023-01474-6.
176. He M, Shi B. Gut microbiota as a potential target of metabolic syndrome: the role of probiotics and prebiotics. *Cell. Biosci*. 2017; 7: 54. doi: 10.1186/s13578-017-0183-1.
177. Yang M, Fukui H, Eda H, Xu X, Kitayama Y, Hara K, Kodani M, Tomita T, Oshima T, Watari J, Miwa H. Involvement of gut microbiota in association between GLP-1/GLP-1 receptor expression and gastrointestinal motility. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2017 Apr 1; 312(4): G367-G373. doi: 10.1152/ajpgi.00232.2016.

178. Simon MC, Strassburger K, Nowotny B, Kolb H, Nowotny P, Burkart V, Zivehe et al. Intake of *Lactobacillus reuteri* improves incretin and insulin secretion in glucose-tolerant humans: a proof of concept. *Diabetes Care*. 2015 Oct; 38(10): 1827-34. doi: 10.2337/dc14-2690.
179. He M, Tan CP, Xu YJ, Liu Y. Gut microbiota-derived trimethylamine-N-oxide: A bridge between dietary fatty acid and cardiovascular disease? *Food Res Int*. 2020 Dec; 138(Pt B): 109812. doi: 10.1016/j.foodres.2020.109812.
180. Zhao G. Rapid determination of short-chain fatty acids in colonic contents and faeces of humans and rats by acidified water-extraction and direct-injection gas chromatography. *Biomedical chromatography*. 2006 Aug; 20(8): 674- 82. doi: 10.1002/bmc.580.
181. Zigmond AS, Snaith R.P. The Hospital Anxiety and Depression Scale, HADS. *Acta Psych Scand*. 1983 Jun; 67(6): 361-70. doi: 10.1111/j.1600-0447.1983.tb09716.x.
182. Lazarus RS, Folkman S. The Concept of Coping. In: Monat, A. and Lazarus, R.S., Eds., *Stress and Coping: An Anthology*, Columbia University Press, New York, 1991:189-206.
183. Юр'єва НВ, Пасічник ВІ. Мотиваційні ресурси стресостійкості військовослужбовців підрозділів Національної гвардії України з конвоювання, екстрадиції та охорони підсудних: монографія–Харків: Національна академія НГУ, 2019. – 197 с.
184. Степанова НМ, Дріяньська ВЄ, Король ЛВ, Мигаль ЛЯ, Савченко ВС. Вплив індигенної мікробіоти кишківника на інтенсивність оксидативного стресу та цитокинову ланку імунітету в жінок з рецидивуючим пієлонефритом. *Медичні перспективи*. 2018; 23(1/1):129-35. [https://doi.org/10.26641/2307-0404.2018.1\(part1\).127251](https://doi.org/10.26641/2307-0404.2018.1(part1).127251).
185. Кравчун НО, Дорош ОГ, Овсяннікова ТМ, Алексєєва ІІ. властивості 8-ізопростагландину та його взаємозв'язок з оксидативним стресом у хворих на цукровий діабет 2 типу з неалкогольною жировою хворобою печінки

- (огляд літератури та власні дослідження). Проблеми ендокринної патології. 2014; 47(1):63-71. DOI: <https://doi.org/10.21856/j-PEP.2014.1.08>.
186. Shandilya S, Kumar S, Kumar Jha N, Kumar Kesari K, Ruokolainen J. Interplay of gut microbiota and oxidative stress: Perspective on neurodegeneration and neuroprotection. *J Adv Res.* 2021 Sep 17; 38: 223-244. doi: 10.1016/j.jare.2021.09.005.
187. Nohesara S, Abdolmaleky HM, Zhou JR, Thiagalingam S. Microbiota-Induced Epigenetic Alterations in Depressive Disorders Are Targets for Nutritional and Probiotic Therapies. *Genes (Basel).* 2023 Dec 14; 14(12): 2217. doi: 10.3390/genes14122217.
188. van 't Erve TJ, Lih FB, Kadiiska MB, Deterding LJ, Mason RP. Elevated plasma 8-iso-prostaglandin F2 α levels in human smokers originate primarily from enzymatic instead of non-enzymatic lipid peroxidation. *Free Radic Biol Med.* 2018 Feb 1; 115: 105-112.
189. Пасієшвілі ТМ. Ферментативна та неферментативна складові системи антиоксидантного захисту у пацієнтів молодого віку з гастроезофагеальною рефлюксною хворобою та аутоімунним тиреоїдитом. *Український журнал медицини, біології та спорту.* 2021; 6 (1/29):107-12. <https://doi.org/10.26693/jmbs06.01.107>.
190. Schöttker B, Xuan Y, Gào X, Anusruti A, Brenner H. Oxidatively Damaged DNA/RNA and 8-Isoprostane Levels Are Associated With the Development of Type 2 Diabetes at Older Age: Results From a Large Cohort Study. *Diabetes Care.* 2020 Jan; 43(1): 130-136. doi: 10.2337/dc19-1379.
191. Степанов ЮМ, Діденко ВІ, Кленіна ІА, Татарчук ОМ, Вішнарєвська НС, Петішко ОП. Оцінка стану мікрофлори товстого кишечника у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки з імунною відповіддю на SARS-CoV-2. *Гастроентерологія.* 2023; 57(1):23-29. <https://doi.org/10.22141/2308-2097.57.1.2023.525>.
192. Goycheva P, Petkova-Parlapanska K, Georgieva E, Karamalakova Y, Nikolova G. Biomarkers of Oxidative Stress in Diabetes Mellitus with Diabetic

- Nephropathy Complications. *Int J Mol Sci.* 2023 Aug 31; 24(17): 13541. doi: 10.3390/ijms241713541.
193. Lin K, Zhu L, Yang L. Gut and obesity/metabolic disease: Focus on microbiota metabolites. *Med Comm.* 2022 Sep 1; 3(3): e171. doi: 10.1002/mco2.171.
194. Mardinoglu A, Shoaie S, Bergentall M, Ghaffari P, Zhang C, Larsson E, Bäckhed F, Nielsen J. The gut microbiota modulates host amino acid and glutathione metabolism in mice. *Mol Syst Biol.* 2015 Oct 16; 11(10): 834. doi: 10.15252/msb.20156487.
195. He GD, Liu XC, Hou XH, Feng YQ. The effect of trimethylamine N-oxide on the metabolism of visceral white adipose tissue in spontaneously hypertensive rat. *Adipocyte.* 2022; 11(1): 420-433. doi: 10.1080/21623945.2022.2104783.
196. Schugar RC, Shih DM, Warriar M, Helsley RN, Burrows A, Ferguson D, et al. The TMAO-Producing Enzyme Flavin-Containing Monooxygenase 3 Regulates Obesity and the Beiging of White Adipose Tissue. *Cell Rep.* 2017 Jun 20; 19(12): 2451-2461. doi: 10.1016/j.celrep.2017.05.077.
197. Bi SH, Su C, Yang P, Zhang X, Wang Y, Tang W, et al. Higher serum trimethylamine N-oxide (TMAO) levels are associated with increased visceral fat in hemodialysis patients. *Clin Nephrol.* 2023 Dec; 100(6):275-283. doi: 10.5414/CN111163.
198. Hira T, Pinyo J, Hara H. What is GLP-1 really doing in obesity? *Trends Endocrinol Metab.* 2020 Feb; 31(2): 71-80. doi: 10.1016/j.tem.2019.09.003.
199. Stinson SE, Jonsson AE, Lund MAV, Frithioff-Bøjsøe C, Aas Holm L, Pedersen O, et al. Fasting Plasma GLP-1 Is Associated with Overweight/Obesity and Cardiometabolic Risk Factors in Children and Adolescents. *J Clin Endocrinol Metab.* 2021 May 13; 106(6): 1718-1727. doi: 10.1210/clinem/dgab098.

200. Klemettilä JP, Solismaa A, Seppälä N, Hämäläinen M, Moilanen E, Leinonen E, Kampman O. Glucagon-like peptide-1 serum levels are associated with weight gain in patients treated with clozapine. *Psychiatry Res.* 2021 Dec; 306: 114227. doi: 10.1016/j.psychres.2021.114227.
201. Seon MJ, Hwang SY, Son Y, Song J, Kim OY. Circulating GLP-1 Levels as a Potential Indicator of Metabolic Syndrome Risk in Adult Women. *Nutrients.* 2021 Mar 6; 13(3): 865. doi: 10.3390/nu13030865.
202. Hussein MS, Abushady MM, Refaat S, Ibrahim R. Plasma level of glucagon-like peptide 1 in obese Egyptians with normal and impaired glucose tolerance. *Arch Med Res.* 2014 Jan; 45(1): 58-62. doi: 10.1016/j.arcmed.2013.10.012.
203. Jorsal T, Rhee NA, Pedersen J, et al. Enteroendocrine K and L cells in healthy and type 2 diabetic individuals. *Diabetologia.* 2018 Feb; 61(2): 284-294. doi: 10.1007/s00125-017-4450-9.
204. Liu PY, Reddy RT. Sleep, testosterone and cortisol balance, and ageing men. *Rev Endocr Metab Disord.* 2022 Dec; 23(6): 1323-1339. doi: 10.1007/s11154-022-09755-4. Epub 2022 Sep 24.
205. Jensen AB, Sørensen TIA, Pedersen O, Jess T, Brunak S, Allin KH. Increase in clinically recorded type 2 diabetes after colectomy. *eLife.* 2018 Oct 30; 7: e37420. doi: 10.7554/eLife.37420.
206. Martin-Gallausiaux C, Marinelli L, Blottière HM, Larraufie P, Lapaque N. SCFA: mechanisms and functional importance in the gut. *Proc Nutr Soc.* 2021 Feb; 80(1): 37-49. doi: 10.1017/S0029665120006916.
207. Ma Q, Li Y, Li P, Wang M, Wang J, Tang Z, Wang T, Luo L, Wang C, Wang T, Zhao B. Research progress in the relationship between type 2 diabetes mellitus and intestinal flora. *Biomed Pharmacother.* 2019 Sep; 117: 109138. doi: 10.1016/j.biopha.2019.109138.
208. Zhang X, Gérard P. Diet-gut microbiota interactions on cardiovascular disease. *Comput Struct Biotechnol J.* 2022 Mar 29; 20: 1528-1540. doi: 10.1016/j.csbj.2022.03.028.

209. Davis EM, Sandoval DA. Glucagon-Like Peptide-1: Actions and Influence on Pancreatic Hormone Function. *Compr Physiol*. 2020 Mar 12;10(2):577-595. doi: 10.1002/cphy.c190025.
210. Serra-Prat M, Lorenzo I, Palomera E, Yebenes JC, Campins L, Cabre M. Intracellular water content in lean mass is associated with muscle strength, functional capacity, and frailty in community-dwelling elderly individuals. A cross-sectional study. *Nutrients*. 2019; 11 (3): 661. doi: 10.3390/nu11030661.
211. Watso JC, Farquhar WB. Hydration Status and Cardiovascular Function. *Nutrients*. 2019 Aug 11; 11(8): 1866. doi: 10.3390/nu11081866.
212. Gerstein HC, Colhoun HM, Dagenais GR, Diaz R, Lakshmanan M, Pais P, et al. Dulaglutide and cardiovascular outcomes in type 2 diabetes (REWIND): a double-blind, randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 2019 Jul 13; 394(10193): 121-130. doi: 10.1016/S0140-6736(19)31149-3.
213. Terada T, Boulé NG, Forhan M, Prado CM, Kenny GP, Prud'homme D, Ito E, Sigal RJ. Cardiometabolic risk factors in type 2 diabetes with high fat and low muscle mass: At baseline and in response to exercise. *Obesity (Silver Spring)*. 2017 May; 25 (5): 881–891. doi: 10.1002/oby.21808.
214. Tian S, Xu Y. Association of sarcopenic obesity with the risk of all-cause mortality: A meta-analysis of prospective cohort studies. *Geriatr Gerontol Int*. 2016 Feb; 16(2): 155-66. doi: 10.1111/ggi.12579.
215. Wang H, Mei L, Deng Y, Liu Y, Wei X, Liu M, et al. *Lactobacillus brevis* DM9218 ameliorates fructose-induced hyperuricemia through inosine degradation and manipulation of intestinal dysbiosis. *Nutrition*. 2019 Jun; 62: 63-73. doi: 10.1016/j.nut.2018.11.018.
216. Wang Q, Zheng D, Liu J, Fang L, Li Q. Skeletal muscle mass to visceral fat area ratio is an important determinant associated with type 2 diabetes and metabolic syndrome. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2019 Aug 14; 12: 1399-1407. doi: 10.2147/DMSO.S211529.
217. Bertocchini L, Baroni MG. GLP-1 Receptor Agonists and SGLT2 Inhibitors for the Treatment of Type 2 Diabetes: New Insights and Opportunities for

- Cardiovascular Protection. *Adv Exp Med Biol.* 2021;1307:193–212. doi: 10.1007/5584_2020_494.
218. Ejarque M, Guerrero-Pérez F, de la Morena N, Casajoana A, Virgili N, López-Urdiales R, et al. Role of adipose tissue GLP-1R expression in metabolic improvement after bariatric surgery in patients with type 2 diabetes. *Scientific reports.* 2019; 9: 6274. doi: 10.1038/s41598-019-42770-1.
219. Liu H, Jia K, Ren Z, et al. PRMT5 critically mediates TMAO-induced inflammatory response in vascular smooth muscle cells. *Cell Death Dis.* 2022 Apr 4; 13(4): 299. doi: 10.1038/s41419-022-04719-7.
220. Heiss CN, Olofsson LE. Gut Microbiota-Dependent Modulation of Energy Metabolism. *J Innate Immun.* 2018; 10(3): 163-171. doi: 10.1159/000481519.
221. Hung WW, Peng P, Tsai YC, Jhou PS, Chang CC, Hsieh CC, et al. Gut microbiota compositions and metabolic functions in type 2 diabetes differ with glycemic durability to metformin monotherapy. *Diabetes Res Clin Pract.* 2021 Apr; 174: 108731. doi: 10.1016/j.diabres.2021.108731.
222. Alard J, Cudennec B, Boutillier D, Peucelle V, Descat A, Decoin R, et al.. Multiple selection criteria for probiotic strains with high potential for obesity management. *Nutrients.* 2021 Feb 24; 13(3): 713. doi: 10.3390/nu13030713.
223. Wu W-K, Chen C-C, Liu P-Y, et al. Identification of TMAO-producer phenotype and host-diet-gut dysbiosis by carnitine challenge test in human and germ-free mice. *Gut.* 2019 Aug; 68(8): 1439-1449. doi: 10.1136/gutjnl-2018-317155.
224. Tian Q, Chastan N, Bair WN, Resnick SM, Ferrucci L, Studenski SA. The brain map of gait variability in aging, cognitive impairment and dementia-A systematic review. *Neurosci Biobehav Rev.* 2017 Mar;74(Pt A):149-162. doi: 10.1016/j.neubiorev.2017.01.020.
225. Duong V, Iwamoto A, Pennycuff J, Kudish B, Iglesia C. A systematic review of neurocognitive dysfunction with overactive bladder medications. *Int Urogynecol J.* 2021 Oct; 32(10): 2693-2702. doi: 10.1007/s00192-021-04909-5.

226. Papunen S, Mustakallio-Könönen A, Auvinen J, Timonen M, Keinänen-Kiukaanniemi S, Sebert S. The association between diabetes and cognitive changes during aging. *Scand J Prim Health Care*. 2020; 38(3): 281-290. doi: 10.1080/02813432.2020.1802140.
227. Young BE, Greaney JL, Keller DM, Fadel PJ. Sympathetic transduction in humans: recent advances and methodological considerations. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2021 Mar 1; 320 (3): H942–H953. doi: 10.1152/ajpheart.00926.2020.
228. Socała K, Doboszevska U, Szopa A, Serefko A, Włodarczyk M, Zielińska A, Poleszak E, Fichna J, Właż P. The role of microbiota-gut-brain axis in neuropsychiatric and neurological disorders. *Pharmacol Res*. 2021 Oct; 172: 105840. doi: 10.1016/j.phrs.2021.105840.
229. Cenit MC, Sanz Y, Codoñer-Franch P. Influence of gut microbiota on neuropsychiatric disorders. *World J Gastroenterol*. 2017 Aug 14; 23(30):5486-5498. doi: 10.3748/wjg.v23.i30.5486.
230. Joseph JJ, Golden SH. Cortisol dysregulation: the bidirectional link between stress, depression, and type 2 diabetes mellitus. *Ann N Y Acad Sci*. 2017 Mar; 1391 (1): 20–34. doi: 10.1111/nyas.13217.
231. Giau VV, Wu SY, Jamerlan A, An SSA, Kim SY, Hulme J. Gut Microbiota and Their Neuroinflammatory Implications in Alzheimer's Disease. *Nutrients*. 2018 Nov 14; 10(11): 1765. doi: 10.3390/nu10111765.
232. Pasco JA, Berk M, Penninx B, Hyde NK, Holloway-Kew KL, West EC, et al. Obesity and sarcopenic obesity characterized by low-grade inflammation are associated with increased risk for major depression in women. *Front Nutr*. 2023 Sep 28; 10: 1222019. doi: 10.3389/fnut.2023.1222019.
233. Kim YK, Kim OY, Song J. Alleviation of Depression by Glucagon-Like Peptide 1 Through the Regulation of Neuroinflammation, Neurotransmitters, Neurogenesis, and Synaptic Function. *Front Pharmacol*. 2020 Aug 14; 11: 1270. doi: 10.3389/fphar.2020.01270.

234. Jafari S, Baharvand M, Jarahzade M, Namdari M, Hojjat P, Alimohammadi M. Comparative assessment of salivary level of cortisol, anxiety and depression in patients with oral lichen planus. *Oral Med Oral Surg* 2023; 29: 12. <https://doi.org/10.1051/mbcb/2023009>.
235. Vassandacoumara V, Daniel JM. Correlation between salivary cortisol levels and hospital anxiety and depression scores in oral lichen planus and recurrent aphthous stomatitis. *Stomatolog Disease Sci* 2017;1:103–108. 10.20517/2573-0002.2017.08.
236. Coco C, Sgarra L, Potenza MA, Nacci C, Pasculli B, Barbano R, Parrella P, Montagnani M. Can Epigenetics of Endothelial Dysfunction Represent the Key to Precision Medicine in Type 2 Diabetes Mellitus? *Int J Mol Sci*. 2019 Jun 17; 20 (12): 2949. doi: 10.3390/ijms20122949.
237. Naureen Z, Cristoni S, Donato K, Medori MC, Samaja M, Herbst KL, et al. Metabolomics application for the design of an optimal diet. *J Prev Med Hyg*. 2022 Oct 17; 63 (2 Suppl 3): E142–E149. doi: 10.15167/2421-4248/jpmh2022.63.2S3.2755.
238. Göke B. Modern Methods of Transcriptomic and Peptidomic Profiling of Enteroendocrine Cells Promise Progress for a Better Understanding of (Patho)physiology and New Therapies for Obesity and Diabetes. *Diabetes*. 2019 May; 68(5): 904-905. doi: 10.2337/dbi18-0050.
239. Roberts GP, Larraufie P, Richards P, Kay RG, Galvin SG, Miedzybrodzka EL, et al. Comparison of Human and Murine Enteroendocrine Cells by Transcriptomic and Peptidomic Profiling. *Diabetes*. 2019 May; 68(5): 1062-1072. doi: 10.2337/db18-0883.
240. Pathak P, Xie C, Nichols RG, Ferrell JM, Boehme S, Krausz KW, Patterson AD, et al. Intestine farnesoid X receptor agonist and the gut microbiota activate G-protein bile acid receptor-1 signaling to improve metabolism. *Hepatology*. 2018 Oct; 68(4): 1574-1588. doi: 10.1002/hep.29857.
241. Díez-Ricote L, Ruiz-Valderrey P, Micó V, Blanco R, Tomé-Carneiro J, Dávalos A, Ordovás JM, Daimiel L. TMAO Upregulates Members of the miR-

- 17/92 Cluster and Impacts Targets Associated with Atherosclerosis. *Int J Mol Sci.* 2022 Oct 11; 23(20): 12107. doi: 10.3390/ijms232012107.
242. Díez-Ricote L, Ruiz-Valderrey P, Micó V, Blanco-Rojo R, Tomé-Carneiro J, Dávalos A, et al. Trimethylamine n-Oxide (TMAO) Modulates the Expression of Cardiovascular Disease-Related microRNAs and Their Targets. *Int J Mol Sci.* 2021 Oct 15; 22(20): 11145. doi: 10.3390/ijms222011145.
243. Gong R., Lv X., Liu F. MiRNA-17 Encoded by the MiR-17-92 Cluster Increases the Potential for Steatosis in Hepatoma Cells by Targeting CYP7A1. *Cell. Mol. Biol. Lett.* 2018 Apr 18; 23: 16. doi: 10.1186/s11658-018-0083-3.
244. Liu F, Yang Q, Zhang H, Zhang Y, Yang G, Ban B, Li Y, Zhang M. The effects of glucagon-like peptide-1 receptor agonists on adipose tissues in patients with type 2 diabetes: A meta-analysis of randomised controlled trials. *PLoS One.* 2022 Jul 7; 17(7): e0270899. doi: 10.1371/journal.pone.0270899.
245. Liu F, Li R, Zhang Y, Qiu J, Ling W. Association of Plasma MiR-17-92 with Dyslipidemia in Patients with Coronary Artery Disease. *Medicine.* 2014 Nov; 93: e98. doi: 10.1097/MD.0000000000000098.
246. Wang Y, Dilidaxi D, Wu Y, Sailike J, Sun X, Nabi XH. Composite probiotics alleviate type 2 diabetes by regulating intestinal microbiota and inducing GLP-1 secretion in db/db mice. *Biomed Pharmacother.* 2020 May; 125: 109914. doi: 10.1016/j.biopha.2020.109914.
247. Lagod PP, Naser SA. The Role of Short-Chain Fatty Acids and Altered Microbiota Composition in Autism Spectrum Disorder: A Comprehensive Literature Review. *Int J Mol Sci.* 2023 Dec 13; 24(24): 17432. doi: 10.3390/ijms242417432.
248. den Besten G, Bleeker A, Gerding A, van Eunen K, Havinga R, van Dijk TH, et al. Short-Chain Fatty Acids Protect Against High-Fat Diet-Induced Obesity via a PPAR γ -Dependent Switch From Lipogenesis to Fat Oxidation. *Diabetes.* 2015 Jul; 64 (7): 2398-408. doi: 10.2337/db14-1213. Epub 2015 Feb 18.

249. Li K, Tian P, Wang S, et al. Targeting gut microbiota: lactobacillus alleviated type 2 diabetes via inhibiting LPS secretion and activating GPR43 pathway. *J. Funct. Foods.* 2017; 38: 561-570. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.09.049>.
250. Liu F, Yang Q, Zhang H, Zhang Y, Yang G, Ban B, Li Y, Zhang M. The effects of glucagon-like peptide-1 receptor agonists on adipose tissues in patients with type 2 diabetes: A meta-analysis of randomised controlled trials. *PLoS One.* 2022 Jul 7; 17(7): e0270899. doi: 10.1371/journal.pone.0270899.
251. Liu F, Li R, Zhang Y, Qiu J, Ling W. Association of Plasma MiR-17-92 with Dyslipidemia in Patients with Coronary Artery Disease. *Medicine.* 2014 Nov; 93: e98. doi: 10.1097/MD.0000000000000098.
252. Paternoster S, Falasca M. Dissecting the Physiology and Pathophysiology of Glucagon-Like Peptide-1. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2018 Oct 11; 9: 584. doi: 10.3389/fendo.2018.00584.
253. Сідорова ІЛ та інші. Діагностичний гід. Лабораторні рішення клінічних задач. Методичне видання. ТОВ МЛ «Діла». 2019. К.Видавництво «АГАПІТПРІНТ». - 380с.
254. Jin C, Henaо-Mejia J, Flavell RA. Innate immune receptors: key regulators of metabolic disease progression. *Cell Metab.* 2013 Jun 4;17(6):873-882. doi: 10.1016/j.cmet.2013.05.011.
255. Chia CW, Egan JM. Incretins in obesity and diabetes. *Ann N Y Acad Sci.* 2020 Feb; 1461(1): 104-126. doi: 10.1111/nyas.14211.