



О. К. Дідик, В. В. Чернявський
Національний медичний університет
імені О. О. Богомольця, Київ

Взаємозв'язок між концентрацією зонуліну та показниками ліпідного обміну в пацієнтів із метаболічно-асоційованою жирковою хворобою печінки у поєднанні з цукровим діабетом 2 типу

Мета — визначити взаємозв'язок між рівнем зонуліну та показниками ліпідного обміну в пацієнтів із метаболічно-асоційованою жирковою хворобою печінки (МАЖХП) у поєднанні з цукровим діабетом (ЦД) 2 типу.

Матеріали та методи. У дослідженні взяли участь 64 пацієнти з МАЖХП у поєднанні з ЦД 2 типу, яких було обстежено та розділено на дві групи. До першої групи залучено 35 пацієнтів із МАЖХП у поєднанні з ЦД 2 типу без синдрому надмірного бактеріального росту (СНБР), до другої групи — 29 пацієнтів із МАЖХП у поєднанні з ЦД 2 типу та СНБР. Контрольну групу утворено із 18 практично здорових осіб. Для оцінки порушення ліпідного обміну досліджували такі показники: загальний холестерин (ЗХС), тригліцериди (ТГ), холестерин ліпопротеїнів дуже низької густини (ХС ЛПДНГ), холестерин ліпопротеїнів низької густини (ХС ЛПНГ), холестерин ліпопротеїнів високої густини (ХС ЛПВГ), коефіцієнт атерогенності (КА), холестерин не-ЛПВГ. Вміст зонуліну в сироватці крові визначали методом ELISA з використанням тест-систем IDK Zonulin ELISA, KR5601 (Immunodiagnostic AG, Німеччина).

Результати. Установлено статистично значуще підвищення вмісту зонуліну в сироватці крові в пацієнтів із МАЖХП у поєднанні з ЦД 2 типу без СНБР ($65,57 \pm 3,14$ нг/мл) та із СНБР ($84,21 \pm 2,42$ нг/мл) порівняно з контрольною групою ($13,62 \pm 2,35$ нг/мл, $p < 0,001$). У пацієнтів другої групи цей показник був статистично значущо ($p < 0,001$) вище. У пацієнтів із МАЖХП у поєднанні з ЦД 2 типу без СНБР та СНБР порівняно з контрольною групою зафіксовано статистично значуще ($p < 0,001$) підвищення вмісту ЗХС ($5,69$ ($5,41-5,86$) та $5,73$ ($5,17-5,98$) ммоль/л), ТГ ($1,97$ ($1,88-2,16$) і $2,0$ ($1,9-2,11$) ммоль/л), ХС ЛПНГ ($3,73 \pm 0,06$) та ($3,85 \pm 0,12$) ммоль/л), ХС ЛПДНГ ($1,13$ ($0,91-1,28$) і $1,18$ ($0,89-1,32$) ммоль/л), ХС не-ЛПВГ ($4,68 \pm 0,07$) та ($4,63 \pm 0,09$) ммоль/л), КА ($4,32$ ($4,15-4,79$) і $4,47$ ($4,14-4,76$)) та зниження рівня ХС ЛПВГ ($0,94 \pm 0,02$) і ($0,96 \pm 0,05$) ммоль/л). За цими показниками пацієнти першої та другої груп статистично значущо відрізнялися ($p < 0,05$). Виявлено прямо пропорційний зв'язок середньої сили між рівнями зонуліну та тригліцеридів, слабкої сили — із концентрацією ЗХС, ХС ЛПНГ, ХС ЛПДНГ, холестерином не-ЛПВГ, КА та обернено пропорційний середньої сили — із ХС ЛПВГ.

Висновки. У пацієнтів із МАЖХП у поєднанні з ЦД 2 типу з/без СНБР виявили підвищення кишкової проникності. Збільшення вмісту зонуліну в сироватці крові корелювало з показниками ліпідного обміну.

Ключові слова: метаболічно-асоційована жирова хвороба печінки, цукровий діабет 2 типу, синдром надмірного бактеріального росту, зонулін, ліпідний обмін.

Експериментальні та клінічні дослідження свідчать про наявність взаємозв'язку між синдромом надмірного бактеріального росту (СНБР) та метаболічно-асоційованою жировою хворобою печінки (МАЖХП) у поєднанні з цукровим діабетом (ЦД) 2 типу, що пов'язано з кишковим дисбіозом і підвищеною кишковою проникністю, які призводять до бактеріальної транслокації та ендотоксемії [1, 2, 4, 9]. Дисбіоз вважають тригером для підвищеного синтезу зонуліну — білка, що є одним із регуляторів кишкової проникності [6, 7]. Надзвичайно важливо, що оксидативний стрес у печінці, як один із ключових механізмів розвитку МАЖХП, може бути спричинений високими концентраціями ендотоксину через порушення проникності кишкового бар'єра [3, 10, 11]. Підвищення кишкової проникності призводить до збільшення ендогенної секреції етанолу, абсорбції ліпополісахаридів і надходження їх порталним кровотоком у печінку та стимуляції Toll- і Nod-подібних рецепторів, що можуть стимулювати вроджену імунну відповідь за допомогою активації лімфоїдної тканини кишечника, активацію сигнальних каскадів і стимуляцію надмірної продукції прозапальних цитокінів та хемокінів клітинами Купфера, які запускають процес хронічного субклінічного запалення. Останній призводить до запально-деструктивних змін у печінці з подальшим прогресуванням до фіброзу [10, 11, 13].

Мета дослідження — визначити взаємозв'язок між рівнем зонуліну та показниками ліпідного обміну в пацієнтів із метаболічно-асоційованою жировою хворобою в поєднанні з цукровим діабетом 2 типу.

Матеріали та методи

Дослідження було схвалено комісією з питань біотичної експертизи та етики наукових досліджень при Національному медичному університеті імені О. О. Богомольця (протокол № 150 від 18.10.2021 р.). Його виконано на клінічній базі кафедри внутрішньої медицини № 1 2021–2023 рр. Усі пацієнти, які брали участь у дослідженні, підписали інформовану згоду.

У дослідженні взяли участь 64 пацієнти з МАЖХП у поєднанні з ЦД 2 типу, яких було

обстежено та розподілено на дві групи. До першої групи залучено 35 пацієнтів із МАЖХП у поєднанні з ЦД 2 типу без СНБР, до другої групи — 29 пацієнтів із МАЖХП у поєднанні з ЦД 2 типу та СНБР. Групу контролю утворено із 18 практично здорових осіб (табл. 1).

Критерії залучення в дослідження:

- наявність МАЖХП у поєднанні з ЦД 2 типу.

Діагноз установлювали за допомогою визначеного ступеня стеатозу (коефіцієнт затухання ультразвуку $\geq 2,20$ дБ/см) та критеріїв діагностики порушень показників вуглеводного обміну;

- позитивний результат H_2 -дихального тесту з лактулозою (підвищення рівня водню на ≥ 20 ppm) для підтвердження СНБР або негативний (для заперечення СНБР у цих пацієнтів).

Критерії вилучення з дослідження:

- вірусні гепатити, спадкові, метаболічні та вроджені захворювання печінки, медикаментозно-індуковане ураження печінки;
- автоімунні гепатити;
- алкогольна хвороба печінки;
- онкологічні захворювання;
- ЦД 1 типу;
- декомпенсований ЦД 2 типу;
- вагітність;
- відмова від участі в дослідженні.

Для діагностики МАЖХП проводили ультразвукову стеатометрію за допомогою апарата «Ultrasign soneus P7» із конвексним датчиком 1–6 МГц для визначення ступеня стеатозу печінки за шкалою коефіцієнта затухання ультразвуку, запропонованою M. Sasso та співавт. [12].

Діагноз цукрового діабету 2 типу встановлювали згідно з рекомендаціями Американської діабетологічної асоціації 2023 року [5].

Для оцінки порушення ліпідного обміну досліджувалися такі показники: загальний холестерин (ЗХС), тригліцериди (ТГ), холестерин ліпопротеїнів дуже низької густини (ХС ЛПДНГ), холестерин ліпопротеїнів низької густини (ХС ЛПНГ), холестерин ліпопротеїнів високої густини (ХС ЛПВГ), коефіцієнт атерогенності (КА), холестерин не-ЛПВГ.

Вміст зонуліну в сироватці крові визначали методом ELISA з використанням тест-систем

Таблиця 1. Загальна характеристика груп пацієнтів

Показник	Контрольна група	Перша група	Друга група	p
Кількість пацієнтів	18	35	29	
Середній вік, роки	50,23 ± 1,1	54,66 ± 2,3	53,54 ± 1,2	0,182
Жінки/чоловіки, %	56/44	57/43	62/38	

Таблиця 2. Порівняльна характеристика досліджуваних груп за показниками ліпідного обміну

Показник	Контрольна група	Перша група	Друга група
ЗХС, ммоль/л	3,95 (3,76–4,15)	5,69 (5,41–5,86)*	5,73 (5,17–5,98)*#
ТГ, ммоль/л	1,28 (1,13–1,38)	1,97 (1,88–2,16)*	2,0 (1,9–2,1)*#
ХС ЛПВГ, ммоль/л	1,87 ± 0,08	0,94 ± 0,02*	0,96 ± 0,05*#
ХС ЛПНГ, ммоль/л	2,11 ± 0,1	3,73 ± 0,06*	3,85 ± 0,12*#
ХС ЛПДНГ, ммоль/л	0,78 (0,59–0,87)	1,13 (0,91–1,28)*	1,18 (0,89–1,32)*#
ХС не-ЛПВГ, ммоль/л	1,9 ± 0,06	4,68 ± 0,07*	4,63 ± 0,09*#
КА	2,31 (2,23–2,42)	4,32 (4,15–4,79)*	4,47 (4,14–4,76)*#

Примітка. * Різниця щодо показників контрольної групи статистично значуща ($p < 0,001$).

Різниця щодо показників першої групи статистично значуща ($p < 0,05$).

IDK Zonulin ELISA, KR5601 (Immunodiagnostic AG, Німеччина).

H₂-дихальний тест із лактулозою виконували апаратом Advanced Hydrogen Breath Testing (Micro H2 Meter).

Пакет програм Microsoft Office 2016, MedStat 5.2. та EZR 3.4.1. (R Foundation Statistical Computing) використовували для статистичного опрацювання результатів. Для перевірки розподілу даних на нормальність використовували критерій Шапіро – Уїлка. За нормального розподілу кількісні змінні описували середнім арифметичним значенням зі стандартним відхиленням ($M \pm SD$), при відмінному від нормального – медіаною з першим і третім квантилями ($Me (Q1–Q3)$). Для перевірки відмінностей між трьома групами при нормальному розподілі даних використовували метод множинних порівнянь ANOVA, при відмінному від нормального – критерій Краскела–Уолліса. Для кореляційного аналізу між змінними розраховували коефіцієнт рангової кореляції Спірмена. Відмінності між групами вважали статистично значущими за умови $p < 0,05$.

Результати

При дослідженні вмісту зонуліну в сироватці крові виявлено статистично значуще його підвищення у пацієнтів із МАЖХП у поєднанні з ЦД 2 типу без СНБР ($65,57 \pm 3,14$) нг/мл та МАЖХП у поєднанні з ЦД 2 типу та СНБР ($84,21 \pm 2,42$) нг/мл порівняно з контрольною групою ($13,62 \pm 2,35$) нг/мл ($p < 0,001$) відповідно. При порівнянні рівня зонуліну в пацієнтів першої та другої груп спостерігали статистично значуще його підвищення в пацієнтів другої групи в порівнянні з пацієнтами першої групи ($p < 0,001$) відповідно.

При порівнянні показників ліпідного обміну в досліджуваних групах виявлено статистично значуще підвищення вмісту ЗХ, ТГ, ХС ЛПНГ, ХС ЛПДНГ, ХС не-ЛПВГ, КА та зниження ХС ЛПВГ (табл. 2) у пацієнтів із МАЖХП у поєднанні з ЦД 2 типу з/без СНБР порівняно з контрольною групою ($p < 0,001$). Рівні показників у пацієнтів першої та другої груп статистично значущо відрізнялися ($p < 0,05$).

За результатами кореляційного аналізу у пацієнтів першої та другої груп виявлено прямо пропорційний зв'язок середньої сили між рівнями зонуліну і ТГ, слабкої сили – із концентрацією ЗХС, ХС ЛПНГ, ХС ЛПДНГ, холестеринем не-ЛПВГ, КА та обернено пропорційний середньої сили – із ХС ЛПВГ (табл. 3).

Таблиця 3. Кореляційні зв'язки між рівнем зонуліну та показниками ліпідного обміну в пацієнтів двох груп ($p < 0,05$)

Показник ліпідного обміну	Зонулін у сироватці крові	
	Перша група	Друга група
ЗХС	+0,256	+0,259
ТГ	+0,467	+0,473
ХС ЛПВГ	-0,434	-0,437
ХС ЛПНГ	+0,267	+0,261
ХС ЛПДНГ	+0,234	+0,236
ХС не-ЛПВГ	+0,218	+0,221
КА	+0,191	+0,198

Обговорення

Тривають численні дослідження стану кишкової проникності при МАЖХП у поєднанні з ЦД 2 типу, зокрема вивчають порушення гліколітичного та ліпогенного метаболізму в печінці та зонулін як біомаркер кишкової проникності [14]. D. Zhang та співавт. і T. Kūme та співавт. установили підвищення рівня зонуліну в сироватці крові та взаємозв'язок зонуліну з показниками вуглеводного й ліпідного обміну в пацієнтів із ЦД 2 типу і дітей з ожирінням та інсулінорезистентністю [8, 15].

Згідно з отриманими нами результатами в пацієнтів із МАЖХП у поєднанні з ЦД 2 типу з наявністю або відсутністю СНБР зростання

концентрації зонуліну в сироватці крові свідчить про підвищення кишкової проникності, прямо пропорційний зв'язок середньої сили між рівнями зонуліну і ТГ, слабкої сили — із концентрацією ЗХС, ХС ЛПНГ, ХС ЛПДНГ, холестерином не-ЛПВГ, КА та обернено пропорційний середньої сили — із ХС ЛПВГ.

Висновки

Установлено, що у пацієнтів із МАЖХП у поєднанні з ЦД 2 типу з/без СНБР підвищувалася кишкова проникність.

Збільшення рівня зонуліну в сироватці крові корелювало з показниками ліпідного обміну.

Конфлікту інтересів немає.

Участь авторів: концепція і дизайн дослідження — О. К. Д., В. В. Ч.; збір та опрацювання матеріалу, написання тексту — О. К. Д.; редактування — В. В. Ч.

Список літератури

- Barbara G, Barbaro MR, Fuschi D, Palombo M, Falangone F, Cremon C, Marasco G, Stanghellini V. Inflammatory and Microbiota-Related Regulation of the Intestinal Epithelial Barrier. *Front Nutr*. 2021 Sep 13;8:718356. doi: 10.3389/fnut.2021.718356. Erratum in: *Front Nutr*. 2021 Nov 01;8:790387. PMID: 34589512; PMCID: PMC8475765.
- Brenner DA, Paik YH, Schnabl B. Role of Gut Microbiota in Liver Disease. *J Clin Gastroenterol*. 2015 Nov-Dec;49 Suppl 1(0 1):S25-7. doi: 10.1097/MCG.000000000000391. PMID: 26447960; PMCID: PMC4602394.
- Caviglia GP, Rosso C, Ribaldone DG, et al. Physiopathology of intestinal barrier and the role of zonulin. *Minerva Biotechnologica*. 2019;31(3). <https://doi.org/10.23736/S1120-4826.19.02554-0>.
- Cui Y, Wang Q, Chang R, Zhou X, Xu C. Intestinal Barrier Function-Non-alcoholic Fatty Liver Disease Interactions and Possible Role of Gut Microbiota. *J Agric Food Chem*. 2019 Mar 13;67(10):2754-2762. doi: 10.1021/acs.jafc.9b00080. Epub 2019 Mar 4. PMID: 30798598.
- El Sayed NA, Aleppo G, Aroda VR, Bannuru RR, Brown FM, Brummer D, Collins BS, Hilliard ME, Isaacs D, Johnson EL, Kahan S, Khunti K, Leon J, Lyons SK, Perry ML, Prahallad P, Pratley RE, Seley JJ, Stanton RC, Gabbay RA, on behalf of the American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Care in Diabetes-2023. *Diabetes Care*. 2023 Jan 1;46(Suppl 1):S19-S40. doi: 10.2337/dc23-S002. Erratum in: *Diabetes Care*. 2023 Feb 01; Erratum in: *Diabetes Care*. 2023 Sep 1;46(9):1715. PMID: 36507649; PMCID: PMC9810477.
- Fasano A. All disease begins in the (leaky) gut: role of zonulin-mediated gut permeability in the pathogenesis of some chronic inflammatory diseases. *F1000Res*. 2020 Jan 31;9:F1000 Faculty Rev-69. doi: 10.12688/f1000research.20510.1. PMID: 32051759; PMCID: PMC6996528.
- Fasano A. Intestinal permeability and its regulation by zonulin: diagnostic and therapeutic implications. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2012 Oct;10(10):1096-100. doi: 10.1016/j.cgh.2012.08.012. Epub 2012 Aug 16. PMID: 22902773; PMCID: PMC3458511.
- Kūme T, Acar S, Tuhan H, Çatlı G, Anık A, Gürsoy Çalan Ö, Böber E, Abacı A. The Relationship between Serum Zonulin Level and Clinical and Laboratory Parameters of Childhood Obesity. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2017 Mar 1;9(1):31-38. doi: 10.4274/jcrpe.3682. Epub 2016 Dec 23. Erratum in: *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2020 Sep 2;12(3):331-331. PMID: 28008865; PMCID: PMC5363162.
- Leung C, Rivera L, Furness JB, Angus PW. The role of the gut microbiota in NAFLD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016 Jul;13(7):412-25. doi: 10.1038/nrgastro.2016.85. Epub 2016 Jun 8. PMID: 27273168.
- Miranda-Ribera A, Ennamorati M, Serena G, Cetinbas M, Lan J, Sadreyev RI, Jain N, Fasano A, Fiorentino M. Exploiting the Zonulin Mouse Model to Establish the Role of Primary Impaired Gut Barrier Function on Microbiota Composition and Immune Profiles. *Front Immunol*. 2019 Sep 19;10:2233. doi: 10.3389/fimmu.2019.02233. PMID: 31608059; PMCID: PMC6761304.
- Ohlsson B, Orho-Melander M, Nilsson PM. Higher levels of serum zonulin may rather be associated with increased risk of obesity and hyperlipidemia, than with gastrointestinal symptoms or disease manifestations. *Int J Mol Sci*. 2017 Mar 8;18(3):582. doi: 10.3390/ijms18030582. PMID:28282855; PMCID: PMC5372598.
- Sasso M, Beaugrand M, de Ledinghen V, Douvin C, Marcelin P, Poupon R, Sandrin L, Miette V. Controlled attenuation parameter (CAP): a novel VCTE™ guided ultrasonic attenuation measurement for the evaluation of hepatic steatosis: preliminary study and validation in a cohort of patients with chronic liver disease from various causes. *Ultrasound Med Biol*. 2010 Nov;36(11):1825-35. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2010.07.005. Epub 2010 Sep 27. PMID: 20870345.
- Sturgeon C, Fasano A. Zonulin, a regulator of epithelial and endothelial barrier functions, and its involvement in chronic inflammatory diseases. *Tissue Barriers*. 2016 Oct 21;4(4):e1251384. doi: 10.1080/21688370.2016.1251384. PMID: 28123927; PMCID: PMC5214347.
- Wood Heickman LK, DeBoer MD, Fasano A. Zonulin as a potential putative biomarker of risk for shared type 1 diabetes and celiac disease autoimmunity. *Diabetes Metab Res Rev*. 2020 Jul;36(5):e3309. doi: 10.1002/dmrr.3309. Epub 2020 Mar 31. PMID: 32162764; PMCID: PMC7340576.
- Zhang D, Zhang L, Zheng Y, Yue F, Russell RD, Zeng Y. Circulating zonulin levels in newly diagnosed Chinese type 2 diabetes patients. *Diabetes Res Clin Pract*. 2014 Nov;106(2):312-8. doi: 10.1016/j.diabres.2014.08.017. Epub 2014 Sep 6. PMID: 25238913. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2014.08.017>.

O. K. Didyk, V. V. Chernyavskiy
Bogomolets National Medical University, Kyiv

The relationship between zonulin levels and indicators of lipid metabolism in patients with metabolic associated fatty liver disease in combination with type 2 diabetes mellitus

Objective — to determine the relationship between zonulin level and indicators of lipid metabolism in patients with metabolic associated fatty liver disease (MAFLD) in combination with type 2 diabetes mellitus (DM).

Materials and methods. The study involved 64 patients with MAFLD in combination with type 2 diabetes, who were examined and divided into 2 groups. The first group included 35 patients with MAFLD in combination with type 2 diabetes without bacterial overgrowth syndrome (SIBO). The second group included 29 patients with MAFLD in combination with type 2 DM and SIBO. The control group consisted of 18 practically healthy individuals. To assess lipid metabolism disorders, the following indicators were studied: total cholesterol (THC), triglycerides (TG), very low density lipoprotein (VLDL) cholesterol, low-density lipoprotein (LDL) cholesterol, high-density lipoprotein (HDL) cholesterol, atherogenic index (AI), non-HDL cholesterol. The content of serum zonulin was determined by ELISA using test systems IDK Zonulin ELISA, KR5601 (Immuno-diagnostic AG, Germany).

Results. Significant increase of serum zonulin levels was established in patients with MAFLD in combination with type 2 diabetes without SIBO 65.57 ± 3.14 ng/mL and with MAFLD in combination with type 2 diabetes and SIBO 84.21 ± 2.42 ng/mL compared with the control group 13.62 ± 2.35 ng/mL ($p < 0.001$), respectively. When comparing zonulin levels in patients of the first and second groups, a significant increase was observed in patients of the second group compared with patients of the first group ($p < 0.001$), respectively. When comparing lipid metabolism indicators in the studied groups, a significant increase in the content of THC was found 5.69 ($5.41-5.86$) mmol/L and 5.73 ($5.17-5.98$) mmol/L, TG 1.97 ($1.88-2.16$) mmol/L and 2.0 ($1.9-2.11$) mmol/L, LDL cholesterol 3.73 ± 0.06 mmol/L and 3.85 ± 0.12 mmol/L, VLDL cholesterol 1.13 ($0.91-1.28$) mmol/L and 1.18 ($0.89-1.32$) mmol/L, non-HDL cholesterol 4.68 ± 0.07 mmol/L and 4.63 ± 0.09 mmol/L, AI 4.32 ($4.15-4.79$) and 4.47 ($4.14-4.76$) and a decrease in HDL cholesterol 0.94 ± 0.02 and 0.96 ± 0.05 in patients with MAFLD in combination with type 2 diabetes without SIBO and SIBO compared with the control group ($p < 0.001$). The levels of indicators in patients of the first and second groups did not differ significantly ($p > 0.05$). As a result of correlation studies between the zonulin serum levels and lipid profile indicators in patients of the first and second groups, a direct moderate correlation was established between the levels of zonulin and triglycerides, a weak correlation with total cholesterol and cholesterol of very low density, non-HDL cholesterol, atherogenic index and inverse moderate correlation with high-density lipoprotein cholesterol.

Conclusions. As a result of the study, the increase of intestinal permeability was revealed in patients with MAFLD in combination with type 2 DM, with or without SIBO. The increased serum levels of zonulin correlated with the indicators of lipid metabolism.

Keywords: metabolic associated fatty liver disease, type 2 diabetes, small intestinal bacterial overgrowth syndrome, zonulin, lipid metabolism.

ДЛЯ ЦИТУВАННЯ

Дідик О.К., Чернявський В.В. Взаємозв'язок між концентрацією зонуліну та показниками ліпідного обміну в пацієнтів із метаболічно-асоційованою жировою хворобою печінки у поєднанні з цукровим діабетом 2 типу. Сучасна гастроентерологія. 2023;5:5-9. <http://doi.org/10.30978/MG-2023-5-5>.

Didyk OK, Chernyavskiy VV. The relationship between zonulin levels and indicators of lipid metabolism in patients with metabolic associated fatty liver disease in combination with type 2 diabetes mellitus. Modern Gastroenterology (Ukraine). 2023;5:5-9. <http://doi.org/10.30978/MG-2023-5-5>. Ukrainian.