

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

Кваліфікована наукова
праця на правах рукопису

ПОЛІЩУК СЕРГІЙ ПЕТРОВИЧ

УДК: 616.34-002-008.6:616.34-008.314.4]-06-071-085:[615.324:579.8-
026.81:577.152.3:547.93

ДИСЕРТАЦІЯ

**КЛІНІЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ МОДИФІКАЦІЇ АКТИВНОСТІ
КИШКОВОЇ БАКТЕРІАЛЬНОЇ ГІДРОЛАЗИ СОЛЕЙ ЖОВЧНИХ
КИСЛОТ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ФУНКЦІОНАЛЬНИМИ
ЗАХВОРЮВАННЯМИ КИШЕЧНИКА**

Галузь знань 22 – «Охорона здоров'я»
Спеціальність 222 – «Медицина»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії PhD

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

_____ Поліщук С.П.

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

Київ – 2024

АНОТАЦІЯ

Поліщук С.П. Клінічна ефективність модифікації активності кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот у пацієнтів із функціональними захворюваннями кишечника. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії PhD в галузі знань 22 “Охорона здоров’я”, за спеціальністю 222 “Медицина” – Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, МОЗ України, Київ, 2024.

Зміст анотації.

У дисертаційному дослідженні запропонована нова опція підвищення ефективності лікування пацієнтів із синдромом подразненої кишки (СПК) з діареєю (СПК-Д) на основі модифікації активності кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот (ГСЖК) та відповідної корекції обміну жовчних кислот (ЖК) шляхом застосування комплексного пробіотичного препарату, що містить ГСЖК-експресуючі штами *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*) та *Saccharomyces boulardii*.

Актуальність дослідження полягає в значній ролі функціональних захворювань шлунково-кишкового тракту (ФЗШКТ), особливо СПК-Д, в рутинній практиці лікарів первинної ланки та гастроентерологів, що займає велику частину їх щоденного навантаження на амбулаторному прийомі. Оновлення наукової концепції ФЗШКТ, дослідження нових механізмів СПК-Д, включаючи порушений обмін ЖК, часто неефективність першої лінії лікування, обмеженість на фармацевтичному ринку існуючих медикаментів, їх вартість та побічні ефекти обумовлюють потребу в пошуку альтернативних підходів до ефективного лікування СПК-Д з акцентом на механізми його розвитку.

Мета дослідження. Підвищення ефективності лікування СПК-Д на основі вивчення загальної активності кишкової бактеріальної ГСЖК та її модифікації препаратами на основі ГСЖК-експресуючих штамів пробіотичних бактерій.

Задачі дослідження.

1. Визначити й порівняти загальну активність кишкової бактеріальної ГСЖК та показники обміну ЖК у практично здорових осіб та у пацієнтів із СПК.
2. Визначити й порівняти загальну активність бактеріальної ГСЖК пробіотичних препаратів на основі ГСЖК-експресуючих штамів *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* та *Saccharomyces*.
3. Оцінити вплив пробіотичних препаратів на основі ГСЖК-експресуючих штамів *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* та *Saccharomyces* на клінічні прояви та вираженість симптомів у пацієнтів із СПК-Д на основі оцінки валідованих клінічних шкал.
4. Оцінити вплив пробіотичних препаратів на основі ГСЖК-експресуючих штамів *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* та *Saccharomyces* на показники обміну ЖК у пацієнтів із СПК-Д в динаміці лікування.
5. Оцінити загальну активність кишкової бактеріальної ГСЖК в динаміці лікування досліджуваних груп.
6. Розробити практичні рекомендації щодо призначення пробіотичних препаратів на основі ГСЖК-експресуючих штамів *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* та *Saccharomyces* для лікування пацієнтів із СПК-Д.

Дисертаційна робота складалась з двох етапів, проведених за різними дизайнами: 1-й етап був виконаний за дизайном «випадок-контроль», а 2-й етап – рандомізованого відкритого паралельного дослідження. Для проведення 1-го етапу були залучені практично здорові учасники та пацієнти зі СПК-Д та СПК із закрепом (СПК-З), у яких оцінювались рівні сироваткових ЖК (сЖК), фекальних ЖК (фЖК), відносна активність (ВА) кишкової бактеріальної ГСЖК, а також

вираженість симптомів та клінічна тяжкість СПК за валідованими шкалами/опитувальниками. Для проведення 2-го етапу роботи були залучені пацієнти тільки із СПК-Д, які випадковим чином були розділені на дві експериментальні групи, що отримували порівнювані схеми лікування впродовж 12 тижнів. Кожні 4 тижні лікування учасники дослідження оцінювались згідно валідованих шкал/опитувальників, а також по завершенню 12 тижнів лікування всім пацієнтам із СПК-Д було визначено рівні сЖК, фЖК та активність кишкової бактеріальної ГСЖК.

Для досягнення мети та вирішення задач дослідження в цілому було залучено 173 учасника, включаючи 145 пацієнтів із СПК. Контрольна група складалась з 28 практично здорових добровольців віком від 19 до 45 років. Група 1 складалась із 37 пацієнтів із СПК-З віком від 18 до 44 років, Група 2 складалась із 108 пацієнтів із СПК-Д віком від 18 до 44 років. Відповідно до мети роботи, під час 2-го етапу дослідження пацієнти Групи 2 були додатково розділені на дві підгрупи випадковим чином: Група 2.1 – включала 51 пацієнта, яким призначалась монотерапія холестираміном у дозі 4 г («ПМС-холестирамін регуляр зі смаком апельсина» виробництва «Фарма- сайнс Інк.» (Pharmascience Inc.), Канада) – 1 пакетик 2 рази на добу; Група 2.2 – включала 57 пацієнтів, яким призначалась комбінована терапія: холестирамін у дозі 4 г («ПМС-холестирамін регуляр зі смаком апельсина» виробництва «Фарма- сайнс Інк.» (Pharmascience Inc.), Канада) – 1 пакетик 2 рази на добу та капсули, що містять живі ліофілізовані бактерії $1,94 \times 10^9$ КУО (*Lactobacillus rhamnosus* – $0,5 \times 10^9$ КУО, *Lactobacillus plantarum* – $0,2 \times 10^9$ КУО, *Streptococcus thermophilus* – $0,5 \times 10^9$ КУО, *Lactobacillus acidophilus* – $0,5 \times 10^9$ КУО, *Bifidobacterium* spp. (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*) – $0,24 \times 10^9$ КУО); *Saccharomyces boulardii* – 65 мг; сухий екстракт квіток ромашки аптечної (*Matricaria chamomilla* L.) – 50 мг; інулін – 200 мг) («Опєфера» виробництва World Medicine, Румунія) – 1 капсула 2 рази на добу.

Клінічні огляди учасників дослідження, заповнення шкал та опитувальників, лабораторні дослідження крові та калу на визначення рівнів

ЖК, призначення та контроль лікування виконувались на клінічних базах кафедри внутрішньої медицини №1 Національного медичного університету імені О. О. Богомольця. Визначення активності бактеріальної ГСЖК проводились у лабораторії біоорганічної хімії і молекулярної візуалізації Інституту хімічних наук та інженерії, м. Лозанна, Швейцарія (діючий від 14.05.2018 меморандум про співробітництво).

Було виявлено, що рівні загальних сЖК та абсолютні рівні вторинних сЖК статистично не відрізнялись між всіма групами дослідження. Абсолютні та відносні (у відсотках від загальних) рівні первинних сЖК були достовірно вищими, а відносні рівні вторинних сЖК – достовірно нижчими у пацієнтів з Групи 2 порівняно з контрольною та Групою 1 ($p < 0,01$), проте не було виявлено достовірної різниці між контрольною та Групою 1 ($p > 0,05$). Рівні загальних фЖК, абсолютні та відносні рівні первинних фЖК були достовірно вищими, а відносні рівні вторинних фЖК – достовірно нижчими у пацієнтів з Групи 2 порівняно з контрольною та Групою 1 ($p < 0,01$), проте не було виявлено різниці між контрольною та Групою 1 ($p > 0,05$). Абсолютні рівні вторинних фЖК були достовірно нижчими у Групі 2 порівняно з Групою 1 ($p < 0,01$), проте не було різниці при попарних порівняннях між Групою 2 та контрольною групою, між Групою 1 та контрольною групою ($p > 0,05$). ВА кишкової бактеріальної ГСЖК була достовірно нижчою у Групі 2 (0,1 (0,05-0,13) Од/мл) порівняно з контрольною (0,2 (0,14-0,32) Од/мл) та Групою 1 (0,17 (0,1-0,21) Од/мл) ($p < 0,01$), проте не було виявлено достовірної різниці між двома останніми ($p > 0,05$). Отже, індикатори метаболізму ЖК відрізнялись у пацієнтів із СПК з різними підтипами та практично здорових добровольців. Виявлене зменшення активності кишкової бактеріальної ГСЖК у пацієнтів із СПК-Д порівняно із СПК-З та контрольною групою може бути одним з можливих пояснень таких профілів сироваткових та фекальних ЖК. Було виявлено, що ВА кишкової бактеріальної ГСЖК негативно корелювала із абсолютними та відносними рівнями первинних сЖК ($r = -0,25$ та $r = -0,38$, відповідно) та фЖК ($r = -0,5$ та $r = -0,48$, відповідно),

загальних фЖК ($r=-0,4$), а також позитивно корелювала із відносними рівнями вторинних сЖК ($r=0,38$) та фЖК ($r=0,48$).

Було показано, що абсолютні та відносні рівні первинних сЖК, рівні загальних, а також абсолютні та відносні рівні фЖК позитивно корелювали із всіма клінічними показниками: абдомінальним боєм, здуттям, Бристольською шкалою форми стулу, добовою частотою стулу, індексом вісцеральної чутливості (ІВЧ), індексом тяжкості функціональних захворювань кишки (ІТФЗК) ($p < 0,05$). Тоді як відносні рівні вторинних сЖК та фЖК, а також ферментативна активність кишкової бактеріальної ГСЖК негативно корелювали із всіма клінічними характеристиками, зазначеними вище ($p < 0,05$). Побудовані однофакторні моделі логістичної регресії показали, що ризик СПК-Д знижується зі збільшенням активності бактеріальної ГСЖК у кишках пацієнтів ($ВШ=3,7 \cdot 10^{-10}$ (95% ВІ; $2,8 \cdot 10^{-13}$ - $4,8 \cdot 10^{-7}$)), а також зі збільшенням абсолютного ($ВШ=0,47$ (95% ВІ; 0,23 – 0,95)) та відносного ($ВШ=0,75$ (95% ВІ; 0,68-0,82)) рівнів вторинних сЖК. Ризик СПК-Д підвищується зі збільшенням рівня загальних сЖК ($ВШ=1,85$ (95% ВІ; 1,22 - 2,78)), зі збільшенням абсолютного ($ВШ=36,3$ (95% ВІ; 9-146)) та відносного ($ВШ=1,34$ (95% ВІ; 1,22 – 1,48)) рівнів первинних сЖК, зі збільшенням рівня загальних фЖК ($ВШ=7,23$ (95% ВІ; 3,94-13,3)), а також зі збільшенням абсолютних рівнів первинних фЖК ($ВШ=2,5 \cdot 10^8$ (95% ВІ; $1,2 \cdot 10^3$ - $5 \cdot 10^{13}$)) та вторинних фЖК ($ВШ=1,84$ (95% ВІ; 1,18-2,87)). Сконструйована 4-факторна (ВА ГСЖК, рівні загальних сЖК та фЖК, відсоткові рівні первинних сЖК) модель прогнозування ризику СПК-Д показала, що зі збільшенням ВА кишкової бактеріальної ГСЖК ризик СПК-Д знижується ($ВШ=2 \cdot 10^{-9}$ (95% ВІ; $6 \cdot 10^{-15}$ - $6,4 \cdot 10^{-4}$)), тоді як зі збільшенням рівнів загальних сЖК ($ВШ=3,15$ (95% ВІ; 1,16 - 8,56), фЖК ($ВШ=4,3$ (95% ВІ; 1,75-10,5) та відносних рівнів первинних сЖК ($ВШ=1,36$ (95% ВІ; 1,16 – 1,59) – підвищується, при стандартизації за іншими чинниками.

ВА ГСЖК застосовуваних в роботі капсул на основі штамів *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*,

Bifidobacterium infantis), *Saccharomyces boulardii* складала $2,08 \pm 0,06$ Од/мл порівняно із $1 \pm 0,04$ Од/мл зразку на основі дикого типу *Lactobacillus plantarum* WT та $0,03 \pm 0,01$ Од/мл зразку, який містив штам *Lactobacillus plantarum* без генів ГСЖК, $p < 0,05$.

Обидві досліджувані схеми терапії, які призначались Групі 2.1 та Групі 2.2, по окремої мали ефект у лікуванні СПК-Д через різні інтервали після його початку (окрім здуття у Групі 2.1, де призначалась монотерапія холестираміном). Порівняння клінічних показників між групами показало, що в Групі 2.2, де призначалось комбіноване лікування із досліджуваним комплексним пробіотиком, вираженість здуття і значення ІВЧ були нижчими через 8 і 12 тижнів дослідження, а значення типу випорожнень за Брістольською шкалою та денна частота випорожнень – через 12 тижнів порівняно з Групою 2.1, де призначалась лише монотерапія холестираміном, $p < 0,05$ у всіх порівняннях. В Групі 2.2, де призначалась комбінована терапія, здуття зменшилось в середньому на 42,9 (20-71,4)% порівняно з 25 (-25-50)% у Групі 2.1, $p = 0,005$. Частота досягнення кінцевої точки лікування відносно зменшення здуття ($\geq 30\%$ за ВАШ) у Групі 2.2 складала 71,9% у порівнянні з 47,1% у Групі 2.1, ВШ = 1,53 (95% ДІ; 1,1-2,13), $p = 0,016$. За шкалою СПК-АП частота досягнення клінічного ефекту в Групі 2.2 складала 82,5% порівняно з 62,7% у Групі 2.1, ВШ = 1,31 (95% ДІ; 1,03–1,68), $p = 0,038$. Отже, комбінована терапія із досліджуваним комплексним пробіотиком, що призначалась Групі 2.2, була більш ефективною в контексті зменшення таких проявів СПК-Д, як здуття, вісцеральна чутливість та діарея, а також досягнення терапевтичних цілей у зменшенні здуття та адекватного покращення згідно шкали СПК-АП у порівнянні з монотерапією холестираміном, що призначалась Групі 2.1.

Оцінка вираженості супутніх до СПК тривожного та депресивного розладів виявила, що 12-тижневе лікування обома схемами мало ефект по окремої в зменшенні вираженості тривожного та депресивного розладів згідно шкал РНQ-9, госпітальної шкали тривоги (ГШТД-Т) та депресії (ГШТД-Д), Бека через різні проміжки часу, окрім останньої в Групі 2.1. Наступне порівняння

значень між групами показало, що в Групі 2.2 значення ГШТД-Д в середньому (їхні центральні тенденції) були достовірно нижчими через 12 тижнів дослідження порівняно з Групою 2.1, $p=0,046$.

Обидві схеми лікування, що призначались Групі 2.1 та Групі 2.2, по окремої достовірно змінили більшість параметрів метаболізму ЖК після 12 тижнів прийому препаратів. Відносно сЖК було виявлено зниження абсолютних рівнів загальних сЖК, первинних та вторинних сЖК в обох групах. У той час як відносні рівні первинних сЖК були знижені, а вторинних сЖК – підвищені лише в Групі 2.2. Що стосується фЖК, було виявлено підвищення абсолютних рівнів загальних та вторинних фЖК, а також відносних рівнів вторинних фЖК в обох групах. Тоді як абсолютні й відносні рівні первинних фЖК були знижені в обох групах. Наступне порівняння між групами показало, що всі індикатори обміну ЖК, окрім абсолютних рівнів вторинних сЖК, достовірно відрізнялись між Групою 2.1 та Групою 2.2 через 12 тижнів прийому медикаментів, $p<0,05$ у всіх порівняннях. Через 12 тижнів дослідження було виявлено, що значення ВА ГСЖК достовірно відрізнялись між контрольною (0,2 (0,14-0,32) Од/мл), Групою 2.1 (0,1 (0,05-0,13) Од/мл) та Групою 2.2 (0,18 (0,13-0,22) Од/мл), $p<0,001$. Апостеріорний аналіз показав, що активність ГСЖК у учасників контрольної групи була достовірно вищою у порівнянні тільки з Групою 2.1, $p<0,01$. В цей же час не було виявлено достовірних відмінностей у значеннях ВА ГСЖК між контрольною та Групою 2.2. Тоді як ВА ГСЖК у пацієнтів з Групи 2.2 вже була достовірно вищою у порівнянні з Групою 2.1, $p < 0,01$.

При побудові однофакторних моделей логістичної регресії було виявлено, що зі збільшенням ВА ГСЖК ризик недосягнення цілі лікування відносно зменшення форми стулу за Брістольською шкалою ($ВШ = 1,44 \cdot 10^{-4}$ (95% ВІ; $3,9 \cdot 10^{-7} - 0,05$), $p=0,003$) та зменшення здуття ($\geq 30\%$ за ВАШ) ($ВШ = 0,0024$ (95% ВІ; $1,1 \cdot 10^{-5} - 0,54$), $p=0,029$) знижується.

Наукова новизна отриманих результатів. Були розширені та уточнені дані відносно особливостей метаболізму ЖК у пацієнтів із СПК, включаючи активність ферменту ГСЖК у кишках пацієнтів, показників сироваткових та

фекальних ЖК, їх взаємозв'язок з клінічними симптомами, тяжкістю захворювання та вісцеральною чутливістю. Вперше було виявлено зв'язок між активністю кишкової бактеріальної ГСЖК та рівнями сироваткових ЖК (сЖК) та фекальних ЖК (фЖК) у пацієнтів із СПК. Вперше було виявлено, що зниження активності бактеріальної ГСЖК в кишках пацієнтів асоційоване з більш тяжчим перебігом СПК-Д та більш вираженими симптомами. Вперше було виявлено наявність зв'язку між ризиком СПК-Д, активністю кишкової бактеріальної ГСЖК та рівнями сироваткових та фекальних ЖК. Були доповнені дані відносно активності ГСЖК пробіотичних бактерій штамів *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* та *Saccharomyces*; уточнені та розширені дані стосовно клінічної ефективності холестираміну та пробіотиків у пацієнтів із СПК-Д, а також їх впливу на супутні до СПК тривожно-депресивні розлади. Вперше було виявлено, що додавання комплексного пробіотику на основі штамів *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* та *Saccharomyces* до холестираміну мало більший ефект в зменшенні здуття, діареї та вісцеральної чутливості, в досягненні кінцевих цілей лікування, а також в зменшенні вираженості депресивного розладу у пацієнтів із СПК-Д. Були розширені дані відносно впливу холестираміну та пробіотичних бактерій на сироваткові та фекальні показники обміну ЖК. Вперше було оцінено вплив комбінації пробіотиків з холестираміном на показники метаболізму ЖК. Вперше було оцінено активність кишкової бактеріальної ГСЖК у пацієнтів із СПК-Д після прийому холестираміну та його комбінації із комплексним пробіотичним препаратом основі штамів *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* та *Saccharomyces*. Вперше було оцінено зв'язок між активністю кишкової бактеріальної ГСЖК та ризиком недосягнення кінцевих цілей лікування СПК-Д.

Практичне значення отриманих результатів. Було теоретично та практично обґрунтовано доцільність визначення сироваткових та фекальних ЖК, а також ферментативної активності кишкової бактеріальної ГСЖК у пацієнтів із СПК з метою оцінки ймовірної мальабсорбції ЖК (МЖК), ризику СПК-Д, а також ризику недосягнення кінцевих цілей лікування СПК-Д.

Для відбору потенційно більш ефективних пробіотичних бактерій в контексті модифікації обміну ЖК при лікуванні СПК-Д слід попередньо оцінювати активність ГСЖК відповідних пробіотичних препаратів.

На основі результатів дисертаційного дослідження були розроблені практичні рекомендації відносно призначення пробіотичного препарату на основі ГСЖК-експресуючих штамів *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*) та *Saccharomyces boulardii* в якості додаткової терапії СПК-Д, в тому числі пацієнтам з ймовірною або доведеною МЖК, для симптоматичного лікування здуття та діареї. Доцільно комбінувати зазначений пробіотичний препарат та холестирамін впродовж не менше 12 тижнів для досягнення кращих результатів лікування СПК-Д.

Висновки.

У дисертаційному дослідженні була теоретично й експериментально обґрунтована та запропонована нова опція для вирішення актуальної проблеми гастроентерології – підвищення ефективності лікування пацієнтів із СПК-Д на основі модифікації активності кишкової бактеріальної ГСЖК та відповідної корекції обміну ЖК шляхом застосування комплексного пробіотичного препарату, що містить ГСЖК-експресуючі штами *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*) та *Saccharomyces boulardii*.

1. ВА кишкової бактеріальної ГСЖК, відносні рівні вторинних сЖК та фЖК були достовірно нижчими, а абсолютні та відносні рівні первинних сЖК та фЖК, рівні загальних фЖК – вищими у пацієнтів із СПК-Д порівняно з практично здоровими учасниками та пацієнтами із СПК-3. Абсолютні рівні вторинних фЖК були достовірно нижчими у СПК-Д пацієнтів порівняно з СПК-3 пацієнтами. Виявлені відхилення індикаторів обміну ЖК мали зв'язок з активністю ГСЖК, клінічними

симптомами та характеристиками учасників дослідження, а також ризиком СПК-Д.

2. ВА ГСЖК досліджуваних капсул із пробіотичними бактеріями *L.rhamnosus*, *L.plantarum*, *S.thermophilus*, *L.acidophilus*, *B.bifidum*, *B.longum*, *B.infantis* та *S.boulardii* в середньому була практично у 70 разів вищою порівняно з генетично-модифікованим штамом *Lactobacillus plantarum* і у 2 рази вищою порівняно з капсулами з диким типом *Lactobacillus plantarum* WT.
3. Додаткове до холестираміну застосування пробіотичного препарату на основі *L.rhamnosus*, *L.plantarum*, *S.thermophilus*, *L.acidophilus*, *B.bifidum*, *B.longum*, *B.infantis* та *S.boulardii* було більше ефективним у зменшенні здуття та вісцеральної чутливості, починаючи з 8 тижня, та форми й частоти випорожнень через 12 тижнів лікування, в досягненні терапевтичних цілей по зменшенню здуття ($\geq 30\%$ за ВАШ) та адекватного покращення згідно шкали СПК-АП, а також в корекції супутнього до СПК депресивного розладу (оціненого згідно ГШТД-Д) при порівнянні з монотерапією холестираміном.
4. Комбінація холестираміну та пробіотичного препарату на основі *L.rhamnosus*, *L.plantarum*, *S.thermophilus*, *L.acidophilus*, *B.bifidum*, *B.longum*, *B.infantis* та *S.boulardii* була більш ефективною в модифікації абсолютних та відносних значень сЖК та фЖК (окрім абсолютних рівнів вторинних сЖК) через 12 тижнів прийому медикаментів порівняно з монотерапією холестираміном.
5. Додаткове до холестираміну застосування пробіотичного препарату на основі *L.rhamnosus*, *L.plantarum*, *S.thermophilus*, *L.acidophilus*, *B.bifidum*, *B.longum*, *B.infantis* та *S.boulardii* впродовж 12 тижнів призводило до достовірного збільшення ВА кишкової бактеріальної ГСЖК порівняно з вихідними значеннями та монотерапією холестираміном. Збільшення ВА ГСЖК у кишках пацієнтів було

асоційоване зі зниженням ризику недосягнення цілі лікування відносно зменшення здуття та форми стулу за Брістольською шкалою.

6. У пацієнтів із СПК-Д рекомендовано призначати комбінацію холестираміну у дозі 4 г 2 рази на добу та капсул із живими ліофілізованими бактеріями у кількості $1,94 \times 10^9$ КУО (*L.rhamnosus*, *L.plantarum*, *S.thermophilus*, *L.acidophilus*, *B.bifidum*, *B.longum*, *B.infantis*), *Saccharomyces boulardii* (65 мг), сухим екстрактом квіток ромашки аптечної (50 мг) та інуліном (200 мг) – 1 капсула 2 рази на добу впродовж не менше 12 тижнів, що призводить до кращих результатів лікування за рахунок зменшення здуття, вісцеральної чутливості, проявів діареї, супутнього депресивного розладу, а також досягнення кінцевих цілей лікування.

Результати даної дисертаційної роботи були впроваджені в навчальний процес при викладанні гастроентерологічних тем в рамках курсу внутрішньої медицини студентам 4 та 6 курсу навчання на кафедрі внутрішньої медицини №1 Національного медичного університету імені О. О. Богомольця; в лікувально-діагностичний процес клінічної бази кафедри внутрішньої медицини №1 – медичного центру ТОВ «ГАСТРОЦЕНТР».

Ключові слова: синдром подразненої кишки, діарея, жовчні кислоти, мальабсорбція, гідролаза солей жовчних кислот, кишковий мікробіом, пробіотики, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*, *Saccharomyces boulardii*.

ANNOTATION

Polishchuk S. P. Clinical effectiveness of gut bacterial bile salt hydrolase activity modification in patients with functional bowel disorders. – Qualifying scientific work as a Manuscript Copyright.

The Thesis submitted for the Doctor of Philosophy (PhD) degree, branch of knowledge – 22 “Health care”, specialty – 222 “Medicine”. – Bogomolets National Medical University, Ministry of Health of Ukraine, 2024.

Annotation content.

The dissertation trial proposed a new option for increasing the effectiveness of treatment of patients with irritable bowel syndrome (IBS) with diarrhea (IBS-D) based on the modification of the activity of gut bacterial bile salt hydrolase (BSH) and the corresponding correction of bile acid (BA) metabolism through the use of a complex probiotic containing BSH-expressing strains of *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*) and *Saccharomyces boulardii*.

The relevance of the study lies in the significant role of functional gastrointestinal disorders (FGID), especially IBS-D, in the routine clinical practice of primary care physicians and gastroenterologists, which takes up a large part of their daily workload at outpatient appointments. Update of the scientific concept of FGID, research of new mechanisms of IBS-D, including impaired metabolism of BA, ineffectiveness of the first line treatment, limitations of existing medications on the pharmaceutical market, their cost and side effects determine the need to investigation of alternative approaches to effective treatment of IBS-D with an emphasis on mechanisms of its development.

The aim of the study. Increasing the effectiveness of the treatment of IBS-D based on the assessment of gut bacterial BSH total activity and its modification with preparations containing BSH-expressing strains of probiotic bacteria.

Objectives of the study.

1. To assess and compare the total activity of gut bacterial BSH and indicators of BA metabolism in almost healthy individuals and in patients with IBS.
2. To assess and compare the bacterial BSH total activity of probiotic preparations with BSH-expressing strains of *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* and *Saccharomyces*.
3. To evaluate the effect of probiotic preparations with BSH-expressing strains of *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* and *Saccharomyces* on clinical features and severity of symptoms in patients with IBS-D based on the evaluation of validated clinical scales.
4. To assess the effect of probiotic preparations with BSH-expressing strains of *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* and *Saccharomyces* on indicators of BA metabolism in patients with IBS-D in the course of treatment.
5. To assess the total activity of gut bacterial BSH in the course of treatment of the trial's groups.
6. To develop practical recommendations for prescribing probiotic preparations with BSH-expressing strains of *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* and *Saccharomyces* for the treatment of patients with IBS-D.

The dissertation work included two phases that were conducted with different designs: phase 1 was conducted as a case-control study, and phase 2 – as a randomized open parallel study. For the 1st phase, almost healthy participants and patients with IBS-D and IBS with constipation (IBS-C) were recruited, in whom the levels of serum BA (sBA), fecal BA (fBA), relative activity (RA) of gut bacterial BSH, as well as severity of symptoms and clinical severity of IBS-D according to validated scales/questionnaires were assessed. To carry out the 2nd phase of the work, only patients with IBS-D were involved, who were randomly divided into two experimental groups that received comparable treatment regimens for 12 weeks. Every 4 weeks of treatment, study participants were assessed according to validated

scales/questionnaires, and at the end of 12 weeks of treatment, levels of sBA, fBA, and activity of gut bacterial BSH were determined for all patients with IBS-D.

A total of 173 participants, including 145 patients with IBS, were involved to achieve the goal of the study and solve the research tasks. The control group consisted of 28 almost healthy volunteers aged 19 to 45 years. Group 1 consisted of 37 patients with IBS-C aged 18 to 44 years, Group 2 consisted of 108 patients with IBS-D aged 18 to 44 years. In accordance with the purpose of the work, during the 2nd phase of the study, patients of Group 2 were randomly divided into two subgroups: Group 2.1 – included 51 patients who were prescribed monotherapy with cholestyramine at a dose of 4 g ("PMS-cholestyramine regular with orange flavor" manufactured "Pharmascience Inc." (Canada) – 1 sachet 2 times a day; Group 2.2 – included 57 patients who were prescribed combined therapy: cholestyramine in a dose of 4 g ("PMS-cholestyramine regular with orange flavor" manufactured by "Pharmascience Inc." (Pharmascience Inc.), Canada) - 1 sachet 2 times a day and capsules containing live lyophilized bacteria in the amount of 1.94×10^9 CFU (*Lactobacillus rhamnosus* – 0.5×10^9 CFU, *Lactobacillus plantarum* – 0.2×10^9 CFU, *Streptococcus thermophilus* – 0.5×10^9 CFU, *Lactobacillus acidophilus* – 0.5×10^9 CFU, *Bifidobacterium* spp. (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*) – 0.24×10^9 CFU); *Saccharomyces boulardii* - 65 mg; dry extract of chamomile flowers (*Matricaria chamomilla* L.) – 50 mg; inulin - 200 mg) ("Opefera" manufactured by World Medicine, Romania) – 1 capsule 2 times a day.

Clinical examinations of study participants, filling out scales and questionnaires, laboratory tests of blood and feces to determine the levels of BA, prescription and control of treatment were performed at the clinical bases of the Department of Internal Medicine №1 of Bogomolets National Medical University. The assessment of the activity of bacterial BSH was carried out in the Laboratory of bioorganic chemistry and molecular imaging of the Institute of Chemical Sciences and Engineering, Lausanne, Switzerland (memorandum of cooperation valid from 05.14.2018).

It was found that the levels of total sBA and absolute levels of secondary sBA were not statistically different between all study groups. Absolute and relative

(percentage of total) levels of primary sBA were significantly higher and relative levels of secondary sBA were significantly lower in patients from Group 2 compared to controls and Group 1 ($p < 0.01$), but no significant difference was found between control and Group 1 ($p > 0.05$). Total fBA levels, absolute and relative levels of primary fBA were significantly higher and relative levels of secondary fBA were significantly lower in patients from Group 2 compared to control and Group 1 ($p < 0.01$), but no difference was found between control and Group 1 ($p > 0.05$). Absolute levels of secondary fBA were significantly lower in Group 2 compared to Group 1 ($p < 0.01$), but there were no differences in pairwise comparisons between Group 2 and the control group, between Group 1 and the control group ($p > 0.05$). The RA of gut bacterial BSH was significantly lower in Group 2 (0.1 (0.05-0.13) U/ml) compared to the control (0.2 (0.14-0.32) U/ml) and Group 1 (0.17 (0.1-0.21) U/ml) ($p < 0.01$), however, no significant difference was found between the last two ($p > 0.05$). Therefore, the indicators of BA metabolism differed in patients with IBS with different subtypes and almost healthy volunteers. The revealed decrease in the activity of gut bacterial BSH in patients with IBS-D if compare to IBS-C and the control group may be one of the possible explanations for such profiles of serum and faecal BA. It was revealed that RA of gut bacterial BSH was negatively correlated with the absolute and relative levels of primary sBA ($r = -0.25$ and $r = -0.38$, respectively) and fBA ($r = -0.5$ and $r = -0.48$, respectively), total fBA ($r = -0.4$), and was also positively correlated with the relative levels of secondary sBA ($r = 0.38$) and fBA ($r = 0.48$).

It was shown that the absolute and relative levels of primary sBA, levels of total, as well as absolute and relative levels of fBA were positively correlated with all clinical features: abdominal pain, bloating, Bristol stool scale, daily stool frequency, visceral sensitivity index (VSI), functional bowel disorder severity index (FBDSI) ($p < 0.05$). Whereas the relative levels of secondary sBA and fBA, as well as the enzymatic activity of gut bacterial BSH, were negatively correlated with all the clinical characteristics mentioned above ($p < 0.05$). Constructed univariate logistic regression models showed that the risk of IBS-D decreases with an increase in the activity of gut bacterial BSH ($OR = 3.7 \times 10^{-10}$ (95% CI; 2.8×10^{-13} - 4.8×10^{-7})), as well as with an

increase in absolute (OR=0.47 (95% CI; 0.23 – 0.95)) and relative (OR=0.75 (95% CI; 0.68-0.82)) levels of secondary sBA. The risk of IBS-D increases with an increase in the level of total sBA (OR=1.85 (95% CI; 1.22 - 2.78)), with an increase in absolute (OR=36.3 (95% CI; 9-146)) and relative (OR=1.34 (95% CI; 1.22 - 1.48)) levels of primary sBA, with an increase in the level of total fBA (OR=7.23 (95% CI; 3.94-13.3)), as well as with an increase in the absolute levels of primary fBA (OR= 2.5×10^8 (95% CI; 1.2×10^3 - 5×10^{13})) and secondary fBA (OR=1.84 (95% CI; 1.18-2.87)). The constructed multivariate 4-factor (RA of gut bacterial BSH, levels of total sBA and fBA, relative levels of primary sBA) risk prediction model for IBS-D showed that with an increase in the RA of gut bacterial BSH, the risk of IBS-D decreases (OR= 2×10^{-9} (95% CI; 6×10^{-15} - 6.4×10^{-4}), while with an increase in the levels of total sBA (OR=3.15 (95% VI; 1.16 - 8.56), fBA (OR=4, 3 (95% CI; 1.75-10.5) and relative levels of primary sBA (OR = 1.36 (95% CI; 1.16 – 1.59)) – increases when standardized by other factors.

RA of bacterial BSH of probiotic capsules with strains of *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*), *Saccharomyces boulardii* was 2.08 ± 0.06 U/ml compared to 1 ± 0.04 U/ml of the sample with the wild type of *Lactobacillus plantarum* WT and 0.03 ± 0.01 U/ml of the sample with *Lactobacillus plantarum* strain without the BSH genes, $p < 0.05$.

Both studied regimens of therapy, which were assigned to Group 2.1 and Group 2.2, separately had an effect in the treatment of IBS-D at different intervals after its onset (except for bloating in Group 2.1, where monotherapy with cholestyramine was prescribed). Comparison of clinical parameters between groups showed that in Group 2.2, where combined treatment with the study complex probiotic was prescribed, the severity of bloating and VSI values were lower after 8 and 12 weeks of the study, and the values of the Bristol stool type and daily defecation frequency were lower after 12 weeks compared to Group 2.1, where only cholestyramine monotherapy was prescribed, $p < 0.05$ in all comparisons. In Group 2.2, where combination therapy was

prescribed, bloating decreased by an average of 42.9 (20-71.4) % compared to 25 (-25-50) % in Group 2.1, $p = 0.005$. The rate of achieving the treatment endpoint of reduction in bloating ($\geq 30\%$ according to VAS) in Group 2.2 was 71.9% compared with 47.1% in Group 2.1, $OR=1.53$ (95% CI; 1.1-2.13), $p=0.016$. According to the IBS-AR scale, the frequency of achieving a clinical effect in Group 2.2 was 82.5% compared to 62.7% in Group 2.1, $OR=1.31$ (95% CI; 1.03–1.68), $p = 0.038$. Therefore, the combination therapy with the investigated complex probiotic assigned to Group 2.2 was more effective in the context of reducing the symptoms of IBS-D, such as bloating, visceral sensitivity and diarrhea, as well as achieving the therapeutic goals of reducing bloating and adequate improvement according to the IBS-AR scale in comparison with cholestyramine monotherapy assigned to Group 2.1.

The assessment of the severity of anxiety and depressive disorders accompanying IBS revealed that 12-week treatment with both regimens separately had effect in reducing the severity of anxiety and depressive disorders according to the PHQ-9, HADS-A, HADS-D and Beck scales after different time intervals, except of the latter in Group 2.1. A subsequent comparison of values between groups showed that in Group 2.2, HADS-D values on average (their central tendencies) were significantly lower after 12 weeks of the treatment compared to Group 2.1, $p=0.046$.

Both treatment regimens assigned to Group 2.1 and Group 2.2 independently significantly changed most parameters of BA metabolism after 12 weeks of the trial. Regarding sBA, a decrease in the absolute levels of total sBA, primary and secondary sBA was found in both groups. While the relative levels of primary sBA were decreased and secondary sBA were increased only in Group 2.2. Regarding fBA, an increase in absolute levels of total and secondary fBA, as well as relative levels of secondary fBA, was found in both groups. While the absolute and relative levels of primary fBA were reduced in both groups. A subsequent comparison between groups showed that all indicators of BA metabolism, except absolute levels of secondary sBA, were significantly different between Group 2.1 and Group 2.2 after 12 weeks of treatment, $p<0.05$ in all comparisons. After 12 weeks of the study, it was found that the values of RA of gut bacterial BSH were significantly different between the control

group (0.2 (0.14-0.32) U/ml), Group 2.1 (0.1 (0.05-0.13) U/ml) and Group 2.2 (0.18 (0.13-0.22) U/ml), $p < 0.001$. Post-hoc analysis showed that the activity of gut bacterial BSH in participants of the control group was significantly higher compared to only Group 2.1, $p < 0.01$. At the same time, no significant differences were found in the values of the RA of gut bacterial BSH between the control group and Group 2.2. Whereas, the RA of gut bacterial BSH in patients from Group 2.2 was already significantly higher compared to Group 2.1, $p < 0.01$.

When constructing univariate logistic regression models, it was found that with an increase in the RA of gut bacterial BSH, the risk of failure to achieve the treatment goals relative to the reduction of the Bristol stool type ($OR = 1.44 \cdot 10^{-4}$ (95% CI; $3.9 \cdot 10^{-7} - 0.05$), $p = 0.003$) and bloating reduction ($\geq 30\%$ according to VAS) ($OR = 0.0024$ (95% CI; $1.1 \cdot 10^{-5} - 0.54$), $p = 0.029$) decreases.

Scientific novelty of the obtained results. The data regarding the characteristics of BA metabolism in patients with IBS, including the activity of the gut bacterial BSH, indicators of serum and fecal FA, their relationship with clinical symptoms, disease severity and visceral sensitivity, were expanded and clarified. For the first time, the relationship between the activity of gut bacterial BSH and the levels of sBA and fBA in patients with IBS was revealed. For the first time, it was found that a decrease in the activity of the bacterial BSH in the intestines of patients is associated with a more severe course of IBS-D and more pronounced symptoms. For the first time, the existence of a relationship between the risk of IBS-D, the activity of gut bacterial BSH and the levels of serum and fecal BA was revealed. Data were expanded regarding the activity of bacterial BSH of probiotic bacteria strains of *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* and *Saccharomyces*; clarified and expanded data on the clinical effectiveness of cholestyramine and probiotics therapy in patients with IBS-D, as well as their impact on anxiety-depressive disorders accompanying IBS. For the first time, it was found that the addition of a complex probiotic with strains of *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* and *Saccharomyces* to cholestyramine had a greater effect in reducing bloating, diarrhea and visceral sensitivity, in achieving the goals of treatment, as well as in reducing the severity of depressive disorder in

patients with IBS-D. Data on the effect of cholestyramine and probiotic bacteria on serum and fecal parameters of BA metabolism were extended. For the first time, the effect of the combination of probiotics with cholestyramine on the parameters of the BA metabolism was evaluated. For the first time, the activity of gut bacterial BSH was evaluated in patients with IBS-D after treatment with cholestyramine and its combination with a complex probiotic preparation with strains of *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* and *Saccharomyces*. For the first time, the relationship between the activity of gut bacterial BSH and the risk of failure to achieve the IBS-D treatment endpoints was evaluated.

The practical significance of the obtained results. The expediency of the assessment of serum and fecal BA, as well as the enzymatic activity of gut bacterial BSH in patients with IBS was theoretically and practically substantiated in order to evaluate the probable bile acids malabsorption (BAM), the risk of IBS-D, as well as the risk of failure to achieve the final goals of the treatment of IBS-D.

For the selection of potentially more effective probiotic bacteria in the context of modification of BA metabolism in the treatment of IBS-D, the activity of the BSH of the corresponding probiotic preparations should be previously evaluated.

On the basis of the dissertation research results, practical recommendations were developed regarding the prescription of a probiotic preparation based on BSH-expressing strains of *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*) and *Saccharomyces boulardii* as an adjunctive therapy of IBS-D, including patients with probable or proven BAM, for the symptomatic treatment of bloating and diarrhea. It is advisable to combine the mentioned above probiotic preparation and cholestyramine for at least 12 weeks to achieve better results in the treatment of IBS-D.

Conclusions.

In the dissertation research, a new option for solving the current problem of gastroenterology was theoretically and experimentally substantiated and proposed – increasing the effectiveness of the treatment of patients with IBS-D based on the

modification of the activity of gut bacterial BSH and the corresponding correction of BA metabolism by using a complex probiotic preparation containing BSH-expressing strains of *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*) and *Saccharomyces boulardii*.

1. RA of gut bacterial BSH, relative levels of secondary sBA and fBA were significantly lower, and absolute and relative levels of primary sBA and fBA, levels of total fBA were higher in patients with IBS-D compared to almost healthy participants and patients with IBS-C. Absolute levels of secondary fBA were significantly lower in IBS-D patients compared to IBS-C patients. The detected deviations of the indicators of BA metabolism were related to the activity of BSH, clinical symptoms and features of the study participants, as well as the risk of IBS-D.
2. RA of bacterial BSH of the studied capsules with probiotic bacteria *L.rhamnosus*, *L.plantarum*, *S.thermophilus*, *L.acidophilus*, *B.bifidum*, *B.longum*, *B.infantis* and *S.boulardii* was on average almost 70 times higher compared to genetically modified *Lactobacillus plantarum* strain and 2 times higher compared to capsules with wild type *Lactobacillus plantarum* WT.
3. In addition to cholestyramine, the use of a probiotic preparation with *L.rhamnosus*, *L.plantarum*, *S.thermophilus*, *L.acidophilus*, *B.bifidum*, *B.longum*, *B.infantis* and *S.boulardii* was more effective in reducing bloating and visceral sensitivity, starting from week 8, and the type and frequency of stool after 12 weeks of treatment, in achieving the therapeutic goals of reducing bloating ($\geq 30\%$ according to VAS) and adequate relief according to the IBS-AR scale, as well as in the correction of depressive disorder accompanying IBS (assessed according to HADS-D) when compared with cholestyramine monotherapy.
4. The combination of cholestyramine and a probiotic preparation with *L.rhamnosus*, *L.plantarum*, *S.thermophilus*, *L.acidophilus*, *B.bifidum*,

B.longum, *B.infantis* and *S.boulardii* was more effective in modifying the absolute and relative levels of sBA and fBA (excluding absolute levels of secondary fBA) after 12 weeks of treatment compared with cholestyramine monotherapy.

5. In addition to cholestyramine, the use of a probiotic preparation with *L.rhamnosus*, *L.plantarum*, *S.thermophilus*, *L.acidophilus*, *B.bifidum*, *B.longum*, *B.infantis* and *S.boulardii* for 12 weeks led to a significant increase in the RA of gut bacterial BSH compared to baseline values and cholestyramine monotherapy. An increase in the RA of gut bacterial BSH was associated with a reduced risk of failure to achieve the treatment goals relative to a reduction in bloating and the Bristol stool form.
6. In patients with IBS-D it is recommended to use the combination of cholestyramine in a dose of 4 g 2 times a day and capsules with live lyophilized bacteria in the amount of 1.94×10^9 CFU (*L.rhamnosus*, *L.plantarum*, *S.thermophilus*, *L.acidophilus*, *B.bifidum*, *B.longum*, *B.infantis*), *Saccharomyces boulardii* (65 mg), dry extract of chamomile flowers (50 mg) and inulin (200 mg) – 1 capsule 2 times a day for at least 12 weeks, that leads to better results in the treatment due to reduction of bloating, visceral sensitivity, features of diarrhea, accompanying depressive disorder, as well as achieving the treatment endpoints.

The results of this dissertation work were implemented in the educational process when teaching gastroenterological topics within the internal medicine course to students of the 4th and 6th year of study at the Department of Internal Medicine №1 of the Bogomolets National Medical University; in the treatment and diagnostic process of the clinical base of the Department of Internal Medicine №1 – the medical center LCC «ГACTΠOIQEHTP».

Key words: irritable bowel syndrome, diarrhea, bile acids, malabsorption, bile salt hydrolase, gut microbiome, probiotics, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*, *Saccharomyces boulardii*.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Polishchuk S, Neverovskyi A, Shypulin V. Alterations of bile acid metabolism in patients with functional bowel disorders: a case-control study. *Gastroenterology Review/Przegląd Gastroenterologiczny*. 2023;18(4):442-448. doi:10.5114/pg.2023.133062. *(Автором сформовані ідея та дизайн дослідження, проводились обстеження учасників дослідження, збір, аналіз, узагальнення та статистична обробка отриманих результатів, написання манускрипту).*
2. Поліщук С, Неверовський А. Ефективність пробіотичних бактерій, які синтезують гідролазу солей жовчних кислот, у лікуванні синдрому подразненої кишки з діареєю. *GASTRO [інтернет]*. 22, Червень 2023 [цит. за 17, Червень 2024];57(2):108-14. доступний у: <https://gastro.zaslavsky.com.ua/index.php/journal/article/view/540>. *(Автором сформовані концепція та дизайн дослідження, проводились огляди пацієнтів, збір, обробка та аналіз результатів, написання тексту статті та його фінальне затвердження).*
3. Neverovskyi A, Polishchuk S. Modification of bile acids metabolism with multi-strain probiotic in patients with diarrhea predominant irritable bowel syndrome: a randomized study. *USMYJ [Internet]*. 2023Oct.27 [cited 2024Jun.25];142(4):55-1. Available from: <https://mmj.nmuofficial.com/index.php/journal/article/view/115>. *(Автором сформовані концепція та дизайн дослідження, проводились обстеження пацієнтів, збір та обробка результатів, їх аналіз та інтерпретація, написання манускрипту статті, його критична оцінка та фінальне затвердження).*

ОПУБЛІКОВАНІ ПРАЦІ АПРОБАЦІЙНОГО ХАРАКТЕРУ

1. Neverovskyi A, Polishchuk S. Bile salt hydrolase producing probiotics in the management of irritable bowel syndrome with diarrhea: a randomized study. [abstract MP412]. United European Gastroenterol J. 2023;11(S8):473. <https://doi.org/10.1002/ueg2.12460>.
2. Поліщук С.П., Неверовський А.В., Шипулін В.П. Розлади обміну жовчних кислот у пацієнтів із синдромом подразненої кишки. Гастроентерологія. 2023;57(2):108.
3. Neverovskyi A, Polishchuk S. Anxiety, depression and visceral sensitivity in patients with diarrheal irritable bowel syndrome treated with multi-strain probiotics: a randomized study. [abstract PP0781]. United European Gastroenterol J. 2024;12(S8):1111. <https://doi.org/10.1002/ueg2.12615>.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	27
ВСТУП.....	29
РОЗДІЛ 1. ЖОВЧНІ КИСЛОТИ: ФІЗІОЛОГІЧНА РОЛЬ ТА ПАТОЛОГІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ПРИ ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАННЯХ КИШКИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).	37
1.1. Обмін жовчних кислот, їх ентерогепатична циркуляція та фізіологічна роль... ..	37
1.2. Бактеріальна ГСЖК: генетичні варіанти та ферментативна активність в нормі та при патології.....	40
1.3. Інтестинальні ефекти жовчних кислот.	44
1.4. Мальабсорбція жовчних кислот, діарея жовчних кислот та функціональні захворювання кишки.....	47
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	55
2.1. Загальний опис, дизайн та програма дисертаційного дослідження.....	55
2.2. Базові демографічні та клінічні дані учасників дослідження.....	61
2.3. Методи досліджень.	64
2.4. Кінцеві змінні (точки) ефективності лікування.	68
РОЗДІЛ 3. ПОКАЗНИКИ ОБМІНУ ЖК, АКТИВНІСТЬ ГСЖК ТА ЇХ ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК З КЛІНІЧНИМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ СПК.....	69
РОЗДІЛ 4. ЕФЕКТИВНІСТЬ ГСЖК-СИНТЕЗУЮЧИХ ПРОБІОТИЧНИХ БАКТЕРІЙ У ЗМЕНШЕННІ КЛІНІЧНИХ ПРОЯВІВ СПК-Д.	82
4.1. Ефективність порівнюваних схем лікування у зменшенні клінічних проявів СПК-Д.....	84
4.2. Досягнення первинних кінцевих точок ефективності лікування.....	90
4.3. Ефективність порівнюваних схем лікування у зменшенні проявів супутніх до СПК депресивного та тривожного розладів	92

РОЗДІЛ 5. ЕФЕКТИВНІСТЬ КОМПЛЕКСНОГО ПРОБІОТИЧНОГО ПРЕПАРАТУ У МОДИФІКАЦІЇ ПОКАЗНИКІВ ОБМІНУ ЖК ТА АКТИВНОСТІ ГСЖК У ПАЦІЄНТІВ ІЗ СПК	97
5.1. Модифікація показників обміну ЖК через 12 тижнів лікування досліджуваними схемами терапії.	99
5.2. Аналіз взаємозв'язку ризику недосягнення кінцевих цілей лікування та ВА ГСЖК на 12 тижні дослідження.	107
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ РОБОТИ.....	111
ВИСНОВКИ.....	125
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	127
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	128
ДОДАТКИ.....	151

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ВА – відносна активність

ВАШ – візуально-аналогова шкала

ВЕРХ-МС – високоефективна рідинна хроматографія – мас-спектрометрія

ГСЖК – гідролаза солей жовчних кислот

ГШОП-СПК – глобальна шкала оцінки поліпшення СПК

ГШТД-Д – госпітальна шкали депресії

ГШТД-Т – госпітальна шкали тривоги

ДЖК – діарея жовчних кислот

ДХК – дезоксихолева кислота

ЖК – жовчні кислоти

ЖМ – жовчний міхур

ІВЧ – індекс вісцеральної чутливості

ІТФЗК – індекс тяжкості функціональних захворювань кишки

ЛХК – літохолева кислота

МЖК – мальабсорбція жовчних кислот

сЖК – сироваткові жовчні кислоти

СПК – синдром подразненої кишки

СПК-АП – опитувальник «СПК-адекватне поліпшення»

СПК-Д – синдром подразненої кишки з діареєю

СПК-З – синдром подразненої кишки із закрепом

УДХК – урсодезоксихолева кислота

УЕРХ-МС – ультраефективна рідинна хроматографія із мас-спектрометрією

ФД – функціональна діарея

фЖК – фекальні жовчні кислоти

ФЗК – функціональні захворювання кишки

ФЗШКТ – функціональні захворювання шлунково-кишкового тракту

ХДХК – хенодизоксихолієва кислота

ХК – холієва кислота

ЦНС – центральна нервова система

ШКТ – шлунково-кишковий тракт

ШОЕ – швидкість осідання еритроцитів

FGF-19 – фібробластоподібний фактору росту 19

FODMAP – підлягаючі ферментації олігосахариди, дисахариди, моносахариди та поліюли

FXR – фарнезоїдний рецептор X

PHQ-9 – опитувальник самооцінки депресивного розладу

SeHCAT – тест із гомотаурохолевою кислотою, міченою ¹⁴селеном

ВСТУП

Функціональні захворювання шлунково-кишкового тракту (ФЗШКТ) є одними з найчастіших причин звернень пацієнтів за медичною допомогою в амбулаторній практиці, становлячи 12 % навантаження лікарів загальної практики, 31 % — інтерністів і 40 % — гастроентерологів [1-3]. Останні популяційні дослідження показали, що розповсюдженість ФЗШКТ в загальній популяції складає більше 40% [4, 5]. Розглядаючи детально окремі варіанти ФЗШКТ, варто зазначити, що найбільш розповсюдженими серед них є функціональні захворювання кишки (ФЗК), які зустрічаються в більш, ніж 30% населення світу [4, 5]. Причому ФЗК з наявністю діареї, такі як функціональна діарея (ФД) та синдром подразненої кишки (СПК) з діареєю (СПК-Д), є одними з найбільш частих ФЗК: випадки СПК-Д орієнтовно становлять третину від усіх варіантів СПК [5, 6], а ФД є в 5 % популяції [4]. Крім того, було показано, що кожна п'ята людина звертається за медичною допомогою саме через діарею [7].

Наукове розуміння механізмів та причин розвитку ФЗШКТ еволюціонувало протягом років: від справді «функціональних», коли вони розглядались в якості захворювань «виключення» з відсутністю морфологічного та іншого патофізіологічного підґрунтя, до розладів взаємодії «кишка – головний мозок» [8, 9]. Сучасна концепція ФЗШКТ полягає в тому, що в розрізі існування взаємодії «кишка – головний мозок» різні структурно-морфологічні та біохімічні чинники можуть лежати в основі виникнення та розвитку ФЗШКТ [10, 11]. Генетична схильність, порушення імунної регуляції, кишкове запалення низької активності, вісцеральна гіперчутливість, периферична та центральна сенситизація з порушенням обробки нервових сигналів в центральній нервовій системі (ЦНС), зміни кишкового мікробіому, мальабсорбція жовчних кислот (МЖК) тощо в тій чи іншій мірі асоційовані з СПК [11-15]. В контексті останнього окремої уваги заслуговує порушення обміну жовчних кислот (ЖК) у вигляді їх мальабсорбції в кишці. В попередніх дослідженнях було виявлено, що до 50% всіх пацієнтів з ФЗК та діареєю (СПК-Д та ФД) мають докази МЖК та ймовірної діареї жовчних кислот (ДЖК) [16-20]. До того ж, передбачається, що

1% відсоток популяції світу може мати МЖК та ДЖК [21]. Рядом авторів було показано, що пацієнти з СПК-Д мають збільшений рівень первинних ЖК у калі [22-24], що є одним з діагностичних критеріїв ДЖК [25,26], та знижений рівень фекальних та сироваткових вторинних ЖК [27]. Такі зміни можуть бути частково пов'язані з ймовірним зниженням активності ферменту бактеріальної гідролази солей жовчних кислот (ГСЖК), що синтезується представниками кишкового мікробіому та розщеплює в кишечнику первинні ЖК у вторинні їх форми [28, 29]. Додатково, рядом авторів було виявлено зменшення в кишці пацієнтів із СПК-Д кількості ГСЖК-експресуючих бактерій [22], а також зменшення кількості генів кишкової бактеріальної ГСЖК у пацієнтів з тяжким СПК-Д [30].

Однак, МЖК та ДЖК і досі залишаються недодіагностованими та недооціненими чинниками розвитку СПК-Д та ФД [31, 32], ведучи до незадовільних результатів лікування останніх. Найбільш доказів в контексті лікування діагностованої та ймовірної ДЖК при ФЗК з діареєю мають секвестранти ЖК (наприклад, холестирамін), які рекомендовані багатьма клінічними настановами [32-34]. Проте малодоступність на фармацевтичному ринку, висока вартість, наявність побічних ефектів та погана переносимість обмежують застосування даної групи препаратів на практиці [18, 35, 36]. Це обумовлює доцільність дослідження додаткових та альтернативних підходів до терапії ФЗК з діареєю в контексті модифікації обміну ЖК та корекції МЖК.

Перспективним напрямком є вивчення пробіотичних бактерій, здатних синтезувати ГСЖК. Обмежена кількість експериментальних та клінічних наукових робіт зазначає ймовірний ефект пробіотичних бактерій у лікуванні СПК завдяки синтезу зазначеного ферменту та відповідної модифікації обміну ЖК [37-41]. І хоча загалом застосування пробіотичних бактерій є рекомендованим при лікуванні СПК [42, 43], даних по ефективності використання саме ГСЖК-експресуючих штамів з метою впливу на обмін ЖК вкрай мало. До того ж, практично відсутні дані відносно активності кишкової бактеріальної ГСЖК у пацієнтів з ФЗК [27] та клінічної ефективності її модифікації при лікуванні пацієнтів з ФЗК, включаючи СПК. Це і стало

передумовою проведення даного дисертаційного дослідження та зумовило його мету та задачі.

Мета дослідження. Підвищення ефективності лікування синдрому подразненої кишки з діареєю на основі вивчення загальної активності кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот та її модифікації препаратами на основі ГСЖК-експресуючих штамів пробіотичних бактерій.

Задачі дослідження.

1. Визначити та порівняти загальну активність кишкової бактеріальної ГСЖК та показники обміну ЖК у практично здорових осіб та у пацієнтів із СПК.
2. Визначити та порівняти загальну активність бактеріальної ГСЖК пробіотичних препаратів на основі ГСЖК-експресуючих штамів *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* та *Saccharomyces*.
3. Оцінити вплив пробіотичних препаратів на основі ГСЖК-експресуючих штамів *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* та *Saccharomyces* на клінічні прояви та вираженість симптомів у пацієнтів із СПК-Д на основі оцінки валідованих клінічних шкал.
4. Оцінити вплив пробіотичних препаратів на основі ГСЖК-експресуючих штамів *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* та *Saccharomyces* на показники обміну ЖК у пацієнтів із СПК-Д в динаміці лікування.
5. Оцінити загальну активність кишкової бактеріальної ГСЖК в динаміці лікування досліджуваних груп.
6. Розробити практичні рекомендації щодо призначення пробіотичних препаратів на основі ГСЖК-експресуючих штамів *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* та *Saccharomyces* для лікування пацієнтів із СПК-Д.

Об'єкт дослідження: загальна активність кишкової бактеріальної ГСЖК у кишечнику пацієнтів із СПК та пробіотичних препаратах на основі *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* та *Saccharomyces*.

Предмет дослідження: взаємозв'язок загальної активності кишкової бактеріальної ГСЖК, показників обміну ЖК та клінічних проявів у пацієнтів із СПК-Д в динаміці лікування.

Методи дослідження.

1. Загальноклінічні: скарги, анамнез, об'єктивне обстеження, включаючи оцінку симптомів «тривоги», класифікаційних критеріїв СПК згідно Римських критеріїв IV перегляду [44, 45].
2. Лабораторні: загальний аналіз крові; фекальні кальпротектин, трансферин та гемоглобін в калі; сироваткові IgA загальні та IgA до тканинної транслутаминази; сироваткові рівні первинних та вторинних ЖК; рівні первинних та вторинних ЖК у калі.
3. Ультраефективна рідинна хроматографія із мас-спектрометрією (УЕРХ-МС) для визначення загальної активності ГСЖК зразків калу та капсул із пробіотичними бактеріями на основі ГСЖК-експресуючих штамів *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* та *Saccharomyces*.
4. Оцінка вираженості клінічних симптомів, тяжкості перебігу СПК та відповіді на лікування із застосуванням валідованих шкал: візуально-аналогові шкали (ВАШ) оцінки абдомінального болю та здуття [46], Бристольська шкала форми стугу [47], денна частота випорожнень, індекс вісцеральної чутливості (ІВЧ) [48, 49], індекс тяжкості функціональних захворювань кишки (ІТФЗК) [50], опитувальник «СПК-адекватне поліпшення» (СПК-АП) [46, 51], глобальна шкала оцінки поліпшення СПК (ГШОП-СПК) [46, 52].
5. Оцінка вираженості супутніх до СПК депресивного та тривожного розладів із застосуванням шкал PHQ-9 [53, 54], Бека [55, 56], госпітальної шкали тривоги (ГШТД-Т) та депресії (ГШТД-Д) [54, 57].
6. Статистична обробка результатів дослідження із використанням статистичного пакету IBM SPSS Statistics Base v.22 for Windows.

Наукова новизна отриманих результатів.

Були розширені та уточнені дані відносно особливостей метаболізму ЖК у пацієнтів із СПК, включаючи активність ферменту ГСЖК у кишках пацієнтів, показників сироваткових та фекальних ЖК, їх взаємозв'язок з клінічними симптомами, тяжкістю захворювання та вісцеральною чутливістю. Вперше було виявлено зв'язок між активністю кишкової бактеріальної ГСЖК та рівнями сироваткових ЖК (сЖК) та фекальних ЖК (фЖК) у пацієнтів із СПК. Вперше було виявлено, що зниження активності бактеріальної ГСЖК в кишках пацієнтів асоційоване з більш тяжчим перебігом СПК-Д та більш вираженими симптомами. Вперше було виявлено наявність зв'язку між ризиком СПК-Д, активністю кишкової бактеріальної ГСЖК та рівнями сироваткових та фекальних ЖК. Були доповнені дані відносно активності ГСЖК пробіотичних бактерій штамів *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* та *Saccharomyces*; уточнені та розширені дані стосовно клінічної ефективності холестираміну та пробіотиків у пацієнтів із СПК-Д, а також їх впливу на супутні до СПК тривожно-депресивні розлади. Вперше було виявлено, що додавання комплексного пробіотику на основі штамів *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* та *Saccharomyces* до холестираміну мало більший ефект в зменшенні здуття, діареї та вісцеральної чутливості, в досягненні кінцевих цілей лікування, а також в зменшенні вираженості депресивного розладу у пацієнтів із СПК-Д. Були розширені дані відносно впливу холестираміну та пробіотичних бактерій на сироваткові та фекальні показники обміну ЖК. Вперше було оцінено вплив комбінації пробіотиків з холестираміном на показники метаболізму ЖК. Вперше було оцінено активність кишкової бактеріальної ГСЖК у пацієнтів із СПК-Д після прийому холестираміну та його комбінації із комплексним пробіотичним препаратом основі штамів *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* та *Saccharomyces*. Вперше було оцінено зв'язок між активністю кишкової бактеріальної ГСЖК та ризиком недосягнення кінцевих цілей лікування СПК-Д.

Практичне значення отриманих результатів.

Було теоретично та практично обґрунтовано доцільність визначення сироваткових та фекальних ЖК, а також ферментативної активності кишкової бактеріальної ГСЖК у пацієнтів із СПК з метою оцінки ймовірної МЖК/ДЖК, ризику СПК-Д, а також ризику недосягнення кінцевих цілей лікування СПК-Д.

Для відбору потенційно більш ефективних пробіотичних бактерій в контексті модифікації обміну ЖК при лікуванні СПК-Д слід попередньо оцінювати активність ГСЖК відповідних пробіотичних препаратів.

На основі результатів дисертаційного дослідження були розроблені практичні рекомендації відносно призначення пробіотичного препарату на основі ГСЖК-експресуючих штамів *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*) та *Saccharomyces boulardii* в якості додаткової терапії СПК-Д, в тому числі пацієнтам з ймовірною або доведеною МЖК, для симптоматичного лікування здуття та діареї. Доцільно комбінувати зазначений пробіотичний препарат та холестирамін впродовж не менше 12 тижнів для досягнення кращих результатів лікування СПК-Д.

Впровадження результатів дослідження у практику.

Результати даної дисертаційної роботи були впроваджені в навчальний процес при викладанні гастроентерологічних тем в рамках курсу внутрішньої медицини студентам 4 та 6 курсу навчання на кафедрі внутрішньої медицини №1 Національного медичного університету імені О. О. Богомольця; в лікувально-діагностичний процес клінічної бази кафедри внутрішньої медицини №1 – медичного центру ТОВ «ГАСТРОЦЕНТР».

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дане дисертаційне дослідження виконувалось в рамках планових науково-дослідних тем кафедри внутрішньої медицини №1 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця: «Оптимізація діагностики та лікування органів травної системи в умовах коморбідності» (№ держреєстрації НДР - 0119U100576, 2019-2022 рр.) та «Вивчення клініко-патогенетичних зв'язків в

умовах коморбідного перебігу захворювань та станів травної системи та удосконалення лікування» (№ держреєстрації НДР - 0123U100922, 2023-2025 рр.).

Особистий внесок здобувача.

Дана дисертаційна робота була виконана особисто аспірантом на клінічних базах кафедри внутрішньої медицини №1 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця. Для виконання лабораторних вимірювань ферментативної активності ГСЖК зразків калу учасників дослідження та препаратів із пробіотичними бактеріями штамів *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* та *Saccharomyces* були залучені працівники лабораторії біоорганічної хімії і молекулярної візуалізації Інституту хімічних наук та інженерії (Лозанна, Швейцарія) на основі діючого між кафедрою внутрішньої медицини №1 та зазначеною лабораторією меморандуму про співробітництво (№1 від 14.05.2018). Спільно з науковим керівником дисертантом були сформульовані тема дослідження, її мета та задачі, а також обрані відповідні методи та дизайн роботи. Всі етапи ведення пацієнтів, включаючи скринінг, клінічні огляди та обстеження з постановкою діагнозу, призначення досліджуваних схем лікування, оцінка переносимості та можливих побічних ефектів терапії, її ефективності та інший моніторинг учасників дослідження виконувались здобувачем, а також співавторами опублікованих за темою дисертації наукових робіт. Дисертант особисто провів аналіз існуючої по темі дослідження наукової літератури, зібрав та обробив результати проведеного власного дослідження. Аналіз, інтерпретація отриманих даних, їх узагальнення та формулювання висновків були виконані особисто здобувачем. Разом із співавторами аспірантом були написані та опубліковані наукові статі по темі дослідження, а також підготовлені тези постерних доповідей на наукових конференціях в Україні та за кордоном. Будь-які наукові ідеї та аспекти інтелектуальної власності інших науковців були використані із зазначенням відповідних посилань. Дане дисертаційне дослідження є власною роботою аспіранта.

Апробація результатів дисертації.

Результати дисертаційного дослідження були представлені на наступних наукових заходах вітчизняного та міжнародного рівня: «ХІ наукова сесія Інституту гастроентерології НАМН України. Новітні технології в теоретичній та клінічній гастроентерології» (14–15 червня 2023 р., м. Дніпро, Україна) – публікація тез; «United European Gastroenterology Week 2023» (15-17 жовтня 2023 р., м. Копенгаген, Королівство Данія) – публікація тез та усна доповідь; «United European Gastroenterology Week 2024» (12-15 жовтня 2024 р., м. Відень, Австрія) – публікація тез та постерна доповідь.

Публікації.

За результатами дисертаційного дослідження було опубліковано 3 наукові статті: одна в закордонному журналі, що індексується в міжнародній наукометричній базі Scopus та віднесений до Q3 згідно SCImago Journal and Country Rank класифікації; дві у вітчизняних фахових журналах категорії В, один з яких індексується в міжнародній наукометричній базі Scopus та віднесений до Q4 згідно SCImago Journal and Country Rank класифікації. Також було опубліковано троє тез у збірках конференцій: одна у вітчизняній, дві у закордонних збірках.

Структура та обсяг дисертації.

Рукопис дисертаційного дослідження написаний українською мовою на 155 сторінках друкованого тексту та включає наступні частини: вступ, розділ 1 (огляд літератури), матеріали та методи дослідження, 3 розділи з описом отриманих в ході дослідження результатів, розділ аналізу та узагальнення результатів роботи, висновки, практичні рекомендації, список використаної літератури та додатки. Дисертаційна робота містить 29 рисунків та 22 таблиці.

РОЗДІЛ 1

ЖОВЧНІ КИСЛОТИ: ФІЗІОЛОГІЧНА РОЛЬ ТА ПАТОЛОГІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ПРИ ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАННЯХ КИШКИ (огляд літератури)

1.1. Обмін жовчних кислот, їх ентерогепатична циркуляція та фізіологічна роль.

Жовчні кислоти – основні ліпідні компоненти жовчі – синтезуються в печінці з холестерину плазми крові, для чого залучається орієнтовно половина його сироваткових рівнів. В гепатоцитах в результаті двох основних метаболічних шляхів (класичного та альтернативного) утворюється 02,-0,6 г первинних ЖК, до яких відносяться переважно холієва (ХК) та хенодизоксихолієва кислоти (ХДХК) [58-61]. Надалі, для збільшення їх водорозчинності та зменшення токсичності, відбувається кон'югація щойно синтезованих первинних ЖК з гліцином або таурином з наступною секрецією утворених солей у жовч, яка концентрується та зберігається в жовчному міхурі (ЖМ). У відповідь на споживання їжі ЖМ стимулюється холецистокінін-панкреозиміном та виділяє жовч в дванадцятипалу кишку, де ЖК виконують свою головну роль, діючи як сурфактанти та забезпечуючи емульсифікацію жирів та абсорбцію холестерину, тригліцеридів, жирних кислот та жиророзчинних вітамінів [58, 62].

Більшість первинних ЖК (близько 95%), що потрапили в дванадцятипалу кишку, надалі транспортуються по тонкій кишці, де в термінальних відділах клубової кишки відбувається їх переважно активна та частково пасивна реабсорбція у систему ворітної вени, звідки вони потрапляють назад до печінки, замикаючи таким чином коло ентерогепатичної циркуляції ЖК [58-60, 63, 64]. Проте менша кількість первинних ЖК (орієнтовно 5-15%), що досягли кінцевих відділів тонкої кишки, не реабсорбуються та потрапляють у товсту кишку, де завдяки представникам кишкового мікробіому підлягають цілому ряду

трансформацій [65-67]. Класично виділяють 4 основні шляхи бактеріальної трансформації ЖК у кишці: декон'югація, дегідроксилювання, окислення та епімеризація [66]. Основною та «ключовою» реакцією є декон'югація, або гідроліз, первинних ЖК за допомогою ферменту бактеріальної гідролази солей жовчних кислот, в результаті чого утворюються дві вторинні ЖК: літохолева (ЛХК) та дезоксихолева (ДХК) ЖК, які є менш водорозчинними та більш ліпофільними і можуть виводитись зі стулом [66-69]. Слід зазначити, що лише незначна кількість ЖК потрапляють в системний кровообіг та виводяться із нирками, однак більшість перебуває саме в межах ентерогепатичної циркуляції [58]. Отже, пул циркулюючих ЖК в організмі людини залежить від їх de novo синтезу в печінці, секреції в жовч, накопичення в ЖМ та наступного виділення в дванадцятипалу кишку, подальшого кишкового транзиту, інтестинальної реабсорбції, біотрансформації кишковим мікробіомом та виведення з калом [58]. Схематична ілюстрація обміну ЖК представлена на Рис.1. [28].

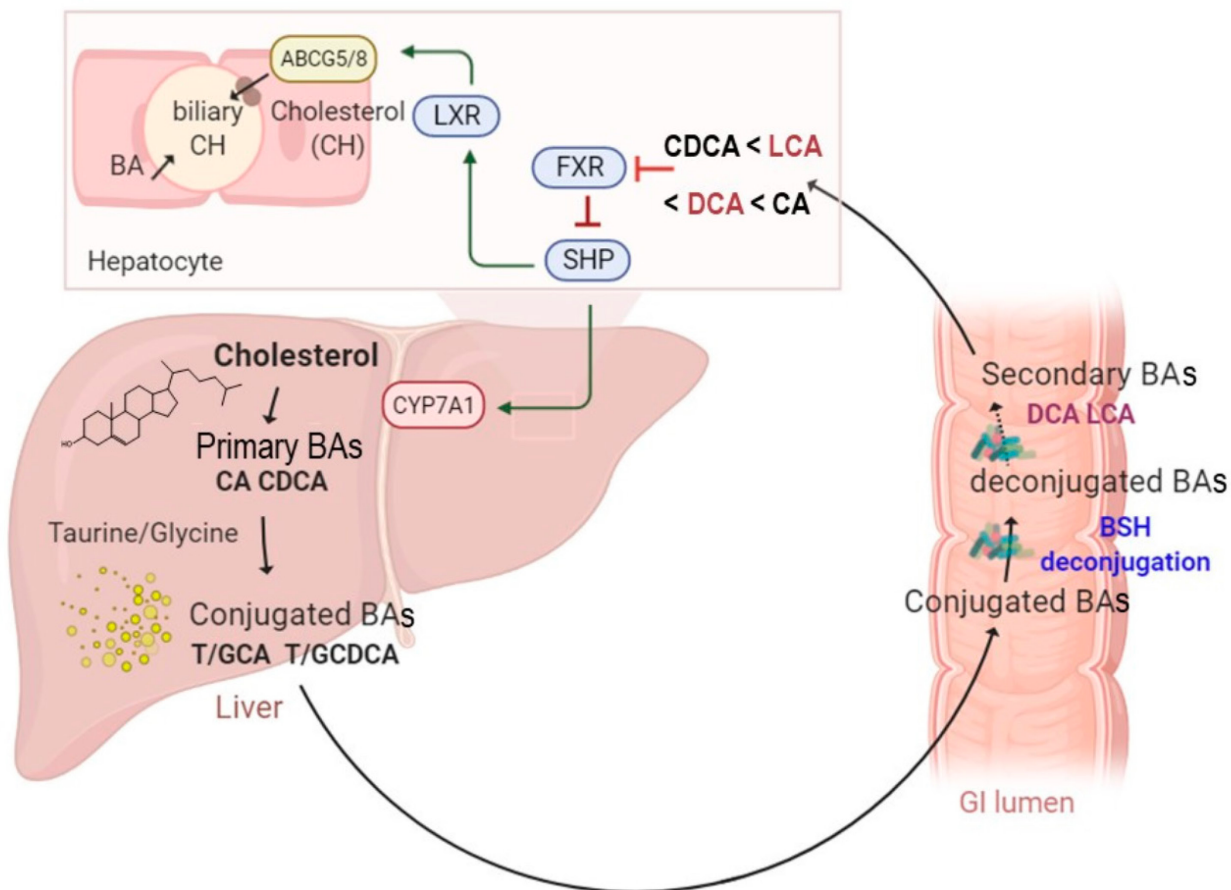


Рис.1. Основні етапи обміну ЖК в організмі людини.

На сьогоднішній день, фізіологічна роль ЖК не обмежується лише їх участю в абсорбції жирів та жиророзчинних вітамінів. ЖК розглядаються в якості сигнальних молекул, впливаючи на ряд рецепторів та метаболічних процесів та формуючи окрему вісь «жовчні кислоти-кишка-мікробіом-печінка» [38, 70, 71]. Як первинні, так і вторинні ЖК є тропними до рецепторів FXR, PAR, вітаміну D, TGR5 та інших, граючи роль у метаболізмі ліпідів, глюкози, процесах запалення та імунної відповіді, проліферації клітин, проникності гематоенцефалічного бар'єру та процесах нейродегенерації, функцій кишечника, модуляції кишкового мікробіому тощо [58, 60-62, 67, 71, 72]. В контексті останнього варто зазначити, що вторинні ЖК, особливо ДХК, мають антибактеріальні властивості за рахунок пошкодження клітинних мембран бактерій, модифікуючи таким чином склад кишкового мікробіому [58, 69, 71, 73]. Причому, це має саме захисний ефект проти кишкових патогенів [74], що також підтверджується експериментальними дослідженнями про розвиток синдрому надмірного бактеріального росту при біліарній обструкції [75], який може зникати після додаткового введення ЖК. До того ж, взаємодія кишкових бактерій та ЖК модулює бар'єрну функцію кишки [69, 76].

Отже, взаємодія між представниками мікробіому кишки та ЖК є двонаправленою та комплексною, а порушення функціонування такої системи та інших компонентів згаданої вище вісі «жовчні кислоти-кишка-мікробіом-печінка» може бути причиною розвитку різних захворювань: ожиріння, метаболічний синдром та цукровий діабет, стеатотична хвороба печінки, неврологічні захворювання, запальні захворювання кишки, а також функціональні захворювання кишки [38, 67, 77-79]. Останні – ФЗК – представляють значний інтерес через високу розповсюдженість даної групи захворювань в загальній популяції та водночас недооціненість ролі порушень обміну ЖК в їх розвитку. Дослідженню цього і присвячена дана дисертаційна робота.

1.2. Бактеріальна ГСЖК: генетичні варіанти та ферментативна активність в нормі та при патології.

Бактеріальна ГСЖК (або ЕС 3.5.1.24) – фермент, що відноситься до сімейства холоїлгліцин гідролаз та синтезується мікробіотою кишки. Як зазначалось вище, даний фермент забезпечує гідроліз (декон'югацію) солей первинних ЖК, що є «ворітною» реакцією утворення вторинних ЖК [28, 80], Рис. 2. [81].

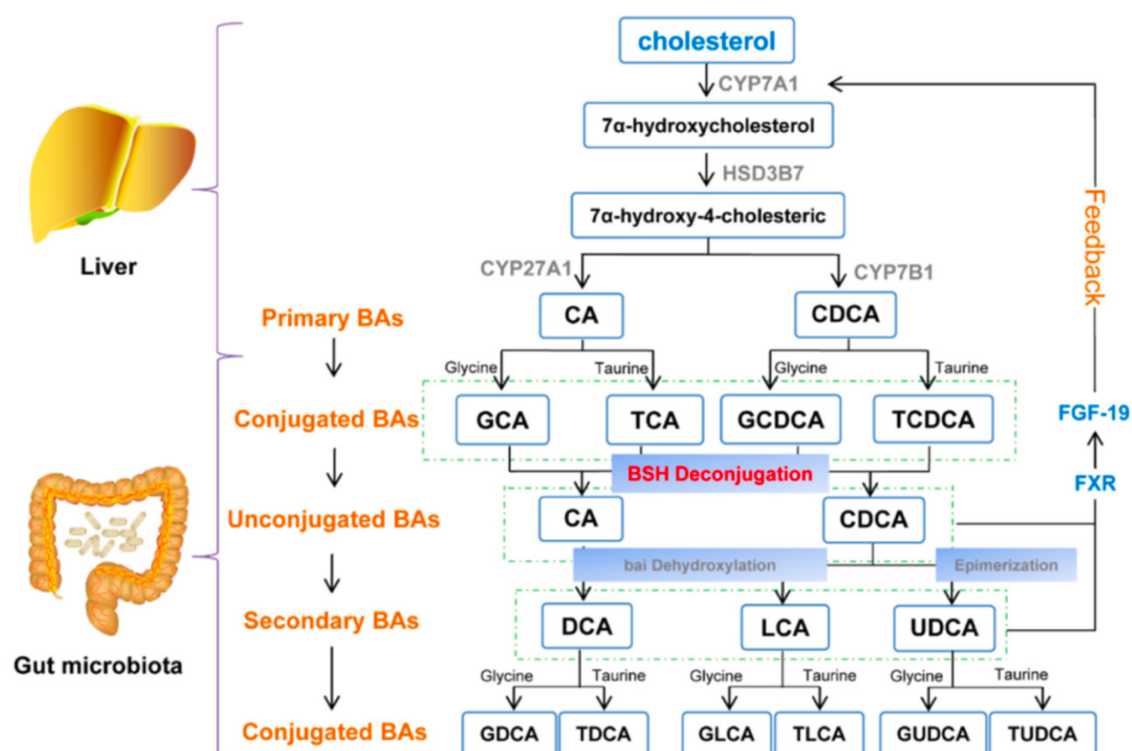


Рис. 2. Участь бактеріальної ГСЖК в обміні ЖК та їх ентерогепатичній циркуляції.

Зважаючи на ключову роль ГСЖК в обміні ЖК, які на даний момент розглядаються в якості важливих сигнальних молекул, науковцями акцентується увага на необхідності ґрунтовних досліджень ролі бактеріальної ГСЖК, розподілу її генів серед різних типів та родів кишкових бактерій, функціональної активності у фізіологічних умовах та при різних захворюваннях [62]. На сьогодні відомо, що гени ГСЖК присутні в усіх головних типах бактерій, включаючи Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria та Proteobacteria. Причому більшу активність мають грам-позитивні представники *Lactobacillus*, *Bifidumbacterium*,

Clostridium, *Enterococcus*, *Listeria*. Однак активність ГСЖК не обмежена тільки грам-позитивними штамми. Грам-негативні представники *Bacteroides*, *Stenotrophomonas*, *Brucella* та інші також вносять свій вклад в загальну активність ГСЖК кишки [62, 66, 69, 81-85]. Більш того, активність ГСЖК може бути наявна в мікроорганізмах грибового типу, наприклад *Saccharomyces boulardii* [86]. Згідно одного з найбільших метагеномних досліджень, більше чвертини всіх кишкових бактерій можуть продукувати ферментативно-активну ГСЖК. Проте розподіл генів ГСЖК серед різних типів, родів та штамів кишкових бактерій відрізняється, до того ж вони можуть експресувати даний фермент у варіаціях з відмінною функціональною активністю [81]. Універсальної та «ідеальної» композиції кишкового мікробіому не існує, оскільки на його склад впливає багато чинників: стиль життя та дієта [87], географія проживання та національність [88], генетика [89] тощо. Відповідно, і кількість генів, а також рівень активності гідролази солей жовчних кислот може бути різними у різних людей, навіть за умови їх приналежності до якоїсь групи за певною ознакою.

Вище згадане велике таксономічне дослідження [81], а також інші метагеномні дослідження [82, 90], які обстежили одинадцять різних здорових популяцій із шести материків світу, виявили 591 варіант бактеріальної ГСЖК, розподілений між 117 родами та 447 штамми бактерій. Більшість ідентифікованих варіантів ГСЖК належало до п'яти родів. При цьому було запропоновано виділити вісім [81] (а за даними Jia та інш. [90] – сім) різних філотипів ГСЖК на основі філогенетичного аналізу. Окрім відмінності генів, що кодують ГСЖК, різні її філогенетичні варіанти відрізняються ступенем ферментативної активності [81, 90, 91]. Філотипи T0, T1, T3, T4 та T7 активні відносно практично всіх солей ЖК, тоді як T5 та T6 мають низьку специфічність до кон'югованої ХК. Для порівняння, філогенетичні варіанти T1 (експресується *Clostridium*, *Ruminococcus* та іншими), T3 (експресується переважно *Lactobacillus*), T4 (експресується *Bifidobacterium* та іншими) мають найвищу активність відносно їх основного субстрату – кон'югованої з гліцином ХК [81].

Що стосується солей ХДХК, то найвищу активність до неї має філотип ГСЖК T2, який експресується *Streptococcus*, *Enterococcus* та іншими [81]. Ця інформація є важливою, оскільки впливає на рішення відносно майбутнього вибору штамів для виробництва та практичного застосування пробіотичних препаратів з метою впливу на активність кишкової бактеріальної ГСЖК та відповідно обмін ЖК. Однак варто зазначити, що наявність генів в тих чи інших штаммах бактерій не обов'язково свідчить про те, що вони будуть задіяні та експресуватись, відповідно і функціональна активність самого ферменту ГСЖК не завжди корелюватиме з присутністю і кількістю генів конкретних представників мікробіому.

Зазначені раніше метагеномні та таксономічні дослідження [81, 90, 92] також виявили зв'язок між «поширеністю» в кишковому мікробіомі генів ГСЖК різних філогенетичних варіантів та різними нозологіями. Дані відрізнялись залежно від варіанту ГСЖК, а також конкретної популяції. Загалом, дослідниками було обстежено пацієнтів із запальними захворюваннями кишки, колоректальним раком та аденомою, атеросклерозом та серцево-судинними захворюваннями, дисліпідемією, цукровим діабетом 2 типу, ожирінням, стеатотичною хворобою печінки та цирозом печінки, раком молочної залози, неврологічними захворюваннями. Залежно від популяції та певного філогенетичного варіанту ГСЖК кореляція з конкретними патологіями була як позитивно, так і негативною. Тим не менше, авторами [81] було зазначено, що ГСЖК переважно має позитивний вплив на метаболізм. До того ж, підкреслювалось, що в дослідженні визначалась асоціація чи кореляція захворювань із кількістю саме генів ГСЖК, які не обов'язково будуть реалізовані у вигляді функціонуючого в кишечнику ферменту, що потребує додаткових досліджень і, певно, більшої уваги.

На жаль, наведені великі метагеномні дослідження [81, 90, 92] не включали пацієнтів із функціональними захворюваннями кишки. Нами було знайдено лише кілька робіт по оцінці взаємозв'язку між генами, що кодують ГСЖК, та ФЗК. В одному з досліджень, яке включало 71 пацієнта з СПК-Д та доведеною

мальабсорбцією ЖК, було виявлено зменшення кількості генів холоїлгліцин гідролази (синонім ГСЖК), асоційоване з порушеним складом кишкової мікрофлори за рахунок зменшення кількості *Bacteroides* та *Alistipes* [30]. В іншому дослідженні, яке включало 105 пацієнтів із СПК-Д, було показано зменшення кількості генів ГСЖК у даній категорії пацієнтів, що було непрямо асоційовано зі зміненими рівнями фекальних ЖК, характерних для МЖК [93]. Невелике філогенетичне дослідження, засноване на методі реконструкції неспостережуваних станів (PICRUSt), із залученням 7 пацієнтів із СПК-Д виявило, що 2 ортологи (набори генів), відповідальні за біосинтез вторинних ЖК (метаболічний шлях ko00121), були достовірно зменшеними при СПК [94]. І хоча в зазначеному дослідженні не проводилась оцінка безпосередньо кількості генів ГСЖК, а також незважаючи на невелику вибірку, авторами було зроблено висновки про наявність зв'язку порушеної біотрансформації ЖК, складу кишкової мікробіоти та СПК.

Як вже неодноразово зазначалось вище, наявність та кількість генів ГСЖК кишкової мікробіоти та її ферментативна активність не є тотожними. У практичному сенсі друге має більше значення, оскільки активність ферменту визначає його ефективність та відповідні фізіологічні, патофізіологічні та клінічні наслідки. Відносно дослідження активності ГСЖК у кишечнику пацієнтів із різними захворюваннями, літературних даних мало. Ймовірно, це пов'язано з вартістю та технічними складнощами виконання тестів прямого визначення ферментативної активності. Нами було знайдено роботу по визначенню активності кишкової бактеріальної ГСЖК у тварин та її зв'язок з вагою та рівнями різних складових ліпідограми. Авторами було виявлено негативну асоціацію між значеннями холестерину та активністю ГСЖК, що вказувало на ймовірно позитивну роль останньої в підтримці нормальних рівнів холестерину [95]. Також було знайдено декілька робіт по визначенню активності ГСЖК у пацієнтів із запальними захворюваннями кишки. В обох дослідженнях рівень активності зазначеного ферменту був достовірно меншим у даній когорті пацієнтів [96, 97]. До того ж, це було асоційоване з порушенням складу

мікробіоти у вигляді зменшення співвідношення між *Faecalibacterium prausnitzii* та *Escherichia coli* [97]. Що стосується СПК, то нами було знайдено два дослідження, в яких проводилось безпосереднє визначення ферментативної активності ГСЖК у зразках калу даних пацієнтів [27, 30]. Обидві роботи виявили зниження активності ГСЖК у пацієнтів із СПК-Д, а також «дисбіоз» у вигляді збільшення кількості *Escherichia coli* [27] та *Clostridia* [30] з наявністю стійкої кореляції таких змін мікробіоти та порушенням метаболізмом ЖК [30]. На жаль, більше робіт серед медичної літератури знайдено не було.

Отже, бактеріальна ГСЖК є важливим ферментом, активність якого в кишечнику визначає особливості обміну ЖК в нормальних фізіологічних умовах та при різних захворюваннях, включаючи органічні та функціональні розлади кишки. Однак подальші рандомізовані дослідження із залученням великої кількості пацієнтів є необхідними для визначення чіткої ролі даного ферменту при різних нозологіях, особливо його ферментативної активності. Надалі це може мати практичне застосування, що буде направлене на модифікацію активності ГСЖК як потенційного терапевтичного таргету. Це в свою чергу може дозволити розширити опції лікування різних захворювань, наприклад СПК-Д. На вивчення частини аспектів останнього і спрямоване дане дисертаційне дослідження.

1.3. Інтестинальні ефекти жовчних кислот.

Як вже зазначалось в попередніх пунктах, на додаток до забезпечення емульсифікації та наступного всмоктування жирів та жиророзчинних вітамінів, ЖК приймають участі в ряді метаболічних процесів за рахунок впливу на певні рецептори. Додатково, ЖК також мають вплив на функції кишечника [16, 98, 99], Рис. 3 [99]. Що стосується ефекту на інтестинальну секрецію рідини, то загалом ЖК розглядаються в якості просекреторних молекул [16, 100]. При цьому найбільший просекреторний ефект мають саме первинна ХДХК та вторинна ДХК [16, 101]. Але варто зазначити, що в той же час остання у фізіологічних кількостях зменшує секреторну функцію кишкових епітеліоцитів [102].

Додатково, вторинні урсодезоксихолева кислота (УДХК, продукт декон'югації та епімеризації ХДХК) [103] та ЛХК [104] мають антисекреторний ефект. Відносно значення кон'югації у процесах секреції, то теоретично кон'юговані ЖК за рахунок своєї гідрофільності та відповідної неможливості проникнення через клітинні мембрани мали би мати менший вплив на секрецію [16]. Однак, у високих – патологічних – концентраціях вони збільшують проникність кишкового епітелію, що в підсумку дозволяє їм забезпечити свою просекреторну дію [16, 105]. Дослідження на тваринних моделях по впливу ЖК на рецептори TGR5 показали, що їх активація на нейронах субмукозних сплетень призводить до пригнічення як базальної, так і агоніст-стимульованої секреції електролітів кишковим епітелієм [99, 106]. В контексті цього слід зазначити, що найбільшу силу по активації TGR5 мають саме вторинні ЖК – ЛХК та ДХК [99, 107], які, як вже зазначалось, є продуктом бактеріальної трансформації первинних ЖК, в тому числі за рахунок ферментативної активності ГСЖК. Проте і первинні ЖК – ХК та ХДХК – також є тропними до зазначеного рецептору.

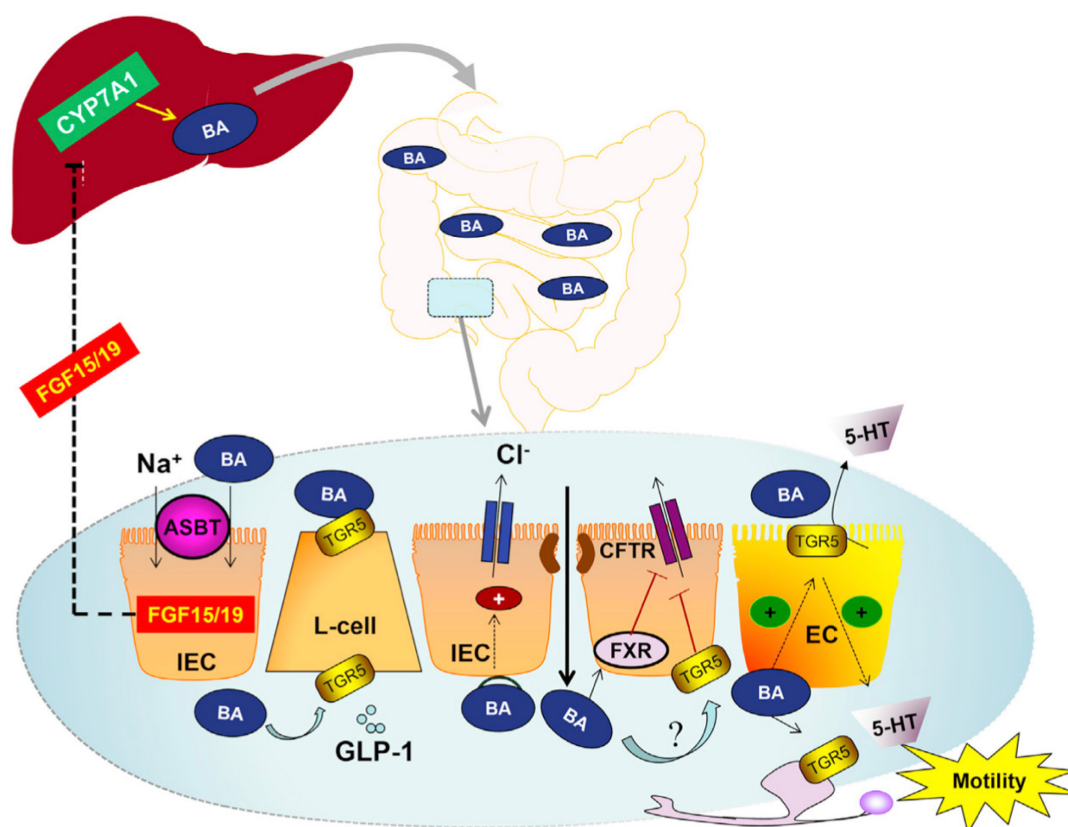


Рис. 3. Взаємодія ЖК з рецепторами та їх інтестинальні ефекти.

Окрім впливу на інтестинальну секрецію, ЖК також модулюють моторику кишки [16, 99]. Найбільшу роль в цьому грає згаданий вище рецептор TGR5, який експресується інгібіторними та холінергічними нейронами шлунка, тонкої та товстої кишок [108, 109]. Дослідження *in vivo* на трансгенних мишах виявили, що дефіцит TGR5 призводить до зменшення моторики, затримки кишкового пасажу та закрепу у вигляді зменшеної частоти стулу та вмісту рідини у фекаліях тварин. І навпаки, надмірна експресія даного рецептору асоційована з більш швидким транзитом кишкового вмісту та збільшеною частотою стулу у трансгенних мишей [99, 110]. Але в той же час, залежно від виду нейрону, його розташування в певному відділі кишки, активація наявних на ньому TGR5 жовчними кислотами може мати як стимулюючий, так і пригнічуючий ефекти на рухливість кишки [99]. Наприклад, активація вторинною ДХК даного рецептору на інгібіторних моторних нейронах кишки зменшує її моторику та відповідно гастроінтестинальний транзит [108]. Варто зазначити, що рецептор TGR5 експресується і в ентерохромафінних клітинах товстої кишки, відповідальних за секрецію серотоніну [99, 111], який є добре відомим регулятором кишкової моторики. Активація TGR5 на цих клітинах може збільшувати продукцію серотоніну, який посилюватиме інтестинальну моторику [99]. Цікавими є результати досліджень із залученням людей. Введення первинної ХДХК в пряму кишку пацієнтів призводило до виникнення перистальтичних хвиль, що розповсюджувались проксимально по товстій кишці [16, 112]. В іншому дослідженні по застосуванню цієї ж первинної ЖК, ХДХК була чітко асоційована з більшим індексом товстокишкової моторики [16, 113]. А пероральне введення ХДХК мало ефект у покращенні симптомів закрепу у пацієнтів із СПК та хронічним закрепом [16, 114].

На додаток до ролі ЖК в кишковій секреції та моториці, ці сигнальні сполуки також можуть модифікувати чутливість кишки [16]. Експериментальні дослідження на тваринах показали, що ЖК можуть бути чинниками розвитку вісцеральної гіперчутливості [16, 115, 116]. Одним з механізмів цього є активація рецепторів FXR, яка веде до вивільнення фактору росту нервів з мастоцитів

[115]. Крім того, ЖК як агоністи TGR5 активують ряд сенсорних нейронів ободочної кишки, що запускає анкірин A1-залежний механізм аферентної гіперчутливості [116]. А вже згадане раніше дослідження по ректальному введенню ДХК та ХДХК [112] показало, що у фізіологічних кількостях дані ЖК зменшують поріг чутливості прямої кишки.

Отже, вплив як первинних, так і вторинних ЖК на кишечник є багатонаправленим, що у фізіологічних умовах забезпечує адекватну секреторну, моторну та сенсорну його функції. Однак подальші експериментальні та клінічні дослідження можуть дозволити окреслити більш чітко спірні питання про роль конкретних ЖК у відповідних процесах роботи кишечника, що в свою чергу стане теоретичним підґрунтям подальшого їх практичного застосування.

1.4. Мальабсорбція жовчних кислот, діарея жовчних кислот та функціональні захворювання кишки.

Окрім ряду важливих фізіологічних функцій, описаних в попередніх пунктах, ЖК відіграють і патофізіологічну роль у розвитку МЖК та відповідно ДЖК, яка може розвиватись як при органічних, та і функціональних захворюваннях кишки [117]. Описані вище інтестинальні ефекти ЖК, в особливості секреторний та моторний, при надмірній кількості останніх в кишці можуть призводити до розвитку клінічних симптомів МЖК та ДЖК. Причинами надмірної кількості інтестинальних ЖК можуть бути:

1. Мутації в генах, відповідальних за експресію транспортерів ЖК в термінальних відділах клубової кишки (наприклад, верхівковий натрій-залежний транспортер ЖК) [118-120]. Відповідно, втрата функцій ілеальних транспортерів може призводити до «випадання» ЖК з ентерогепатичної циркуляції та їх накопичення в просвіті кишки. Однак, такі мутації є доволі рідкісними і не відносяться до основних механізмів ідіопатичної МЖК [40].

2. Ураження термінальних відділів клубової кишки, які є основними місцями активної реабсорбції ЖК у систему портального кровообігу [17, 121].
3. Надмірний біосинтез первинних ЖК через порушення функціонування механізму негативного зворотнього зв'язку. Основною причиною цього є зменшення експресії та продукції ентероцитами фібробластоподібного фактору росту 19 (FGF-19), який у фізіологічних умовах пригнічує функцію основного ферменту (CYP7A1) синтезу первинних ЖК у гепатоцитах [40, 117, 122, 123].

Окрім надмірної кількості ЖК, іншими можливими причинами розвитку симптомів ДЖК можуть бути збільшення експресії генів аквапоринових каналів [40, 124] та генів, відповідальних за збільшену проникність слизової оболонки ободочної кишки для води [118, 125]. Останнє підтверджується результатами оцінки екскреції ^{13}C -манітолу [126], яка збільшена у пацієнтів з ДЖК, що є маркером збільшеної кишкової проникності.

Окремої уваги варто приділити порушенню складу мікробіоти як можливої причини МЖК та ДЖК [40]. Останнє представляє особливий інтерес, зважаючи на роль кишкових бактерій у трансформації ЖК та регуляції їх пулу, про що неодноразово було зазначено вище. Причому зв'язок між ними є двонаправленим, оскільки різні ЖК, в свою чергу, можуть модифікувати склад кишкового мікробіому [40]. Одне з нещодавніх досліджень виявило, що у пацієнтів з доведеною ДЖК наявне загальне зменшення бактеріальної різноманітності мікробіому кишечнику з одночасним збільшенням кількості 10 анаеробних таксонів [127]. Однак, авторами зазначається, що незрозумілим залишається питання, чи ці зміни мікробіому є причиною МЖК, чи наслідком надмірної кількості ЖК в кишці. Іншими авторами було показано зменшення альфа-різноманітності [120], кількості *bifidobacteria* та збільшення кількості *Blautia*, *Streptococcus*, *Ruminococcus gnavus* та *Akkermansia muciniphila* [128] у пацієнтів з МЖК та ДЖК. А в дослідженні, яке вивчало ДЖК у пацієнтів після холецистектомії, було показано, що у таких пацієнтів наявне достовірне

збільшення екскреції ЖК із калом та зменшення бактеріальної різноманітності кишкового мікробіому переважно за рахунок зменшення Firmicutes [129], які, як вже було вже описано вище, є одними з основних продуцентів ГСЖК. Причому авторами зазначається, що дефіцит кишкової бактеріальної ГСЖК, можливо більше ніж сама холецистектомія, є причиною збільшеної екскреції кон'югованих ЖК та розвитку ДЖК [129]. Цікавими є також результати роботи по оцінці мікробіоти у пацієнтів з ДЖК, які отримували лікування колесевеламом [130]. Було виявлено, що до початку лікування у пацієнтів з ДЖК спостерігалось зменшення альфа-різноманітності мікробіому кишечника (особливо у когорті пацієнтів з ідіопатичною ДЖК). Проте на фоні лікування колесеваломом, який є секвестрантом ЖК, у пацієнтів збільшилась кількість *Fusobacteria* та *Ruminococcus*, що приймають активну участь у трансформації первинних ЖК у вторинні їх форми [130].

На сьогодні більшість авторів виділяють 4 типи МЖК, базуючись на ймовірній причині, що веде до мальабсорбції та діареї [17, 38, 40, 117, 131]:

1. 1-й тип, пов'язаний із захворюваннями клубової кишки і відповідно порушеною реабсорбцією ЖК в її термінальних відділах (наприклад, хвороба Крона, резекції, радіаційний ентерит).
2. 2-й тип, який розглядається в якості ідіопатичного (первинного), який наявний переважно у пацієнтів із ФЗК, наприклад ФД та СПК-Д. Вважається, що основним механізмом розвитку ДЖК при цьому типі є надмірний синтез ЖК у печінці через зниження продукції FGF-19, про що зазначалось вище. Саме цей тип відноситься до найбільш недодіагностованих. Результати нещодавніх ретроспективних досліджень показали, що близько половини пацієнтів з незрозумілою діареєю мають докази МЖК [132]. Аналогічно, до половини пацієнтів, що відповідають критеріям СПК-Д та ФД, мають докази МЖК [16-20].
3. 3-й тип, пов'язаний із захворюваннями шлунково-кишкового тракту (ШКТ), не асоційованими з порушеною ілеальною абсорбцією ЖК (наприклад, целиакія, хронічний панкреатит, холецистектомія,

ваготомія, мікроскопічний коліт, синдром надмірного бактеріального росту). Останні систематичні огляди зазначають, що даний тип не є таким частим при вказаних захворюваннях ШКТ, як вважалось раніше [40].

4. 4-й тип, асоційований із збільшеним біосинтезом ЖК внаслідок вживання деяких медикаментів, наприклад, метформіну [40, 117]. Додатково, ряд інших метаболічних захворювань може бути асоційований зі збільшеним синтезом ЖК та розвитком ДЖК (гіпертригліцеридемія, стеатотична хвороба печінки, ожиріння) [40, 133].

Для діагностики МЖК/ДЖК застосовуються різні методи, які можна розділити на прямі та непрямі [17, 134, 135]. До прямих відносяться ¹⁴С-глікохолатний дихальний та стул-тест, тест із гомотаурохолевою кислотою, міченою ¹⁴селеном (SeHCAT тест), вимірювання сироваткових рівнів С4 (7α-hydroxy-4-cholesten-3-one), вимірювання фекальних рівнів ЖК. До непрямих методів відносяться визначення сироваткових значень FGF-19, сечових рівнів 2-пропанолу та ацетаміду. Кожен з цих методів має різні специфічність та чутливість, а також переваги та противаги. Систематичний огляд по діагностичній цінності цих методів виявив, що найбільшу діагностичну точність має SeHCAT тест, а на другому місці – визначення сироваткових С4 [134]. Але в той же час цей огляд констатує відсутність реального «золотого» стандарту для діагностики МЖК/ДЖК. Британські рекомендації Національного інституту здоров'я і досконалості допомоги (NICE) рекомендують застосування SeHCAT тесту [136], тоді як Британська спілка гастроентерології додатково рекомендує застосування С4, а при відсутності – вимірювання фекальних ЖК [137]. Клінічні настанови Канадської асоціації гастроентерологів в якості основного методу діагностики МЖК/ДЖК рекомендують SeHCAT тест, а визначення сироваткових С4 – для оцінки ймовірності, але не підтвердження діагнозу [32]. Проте доступність зазначених методів є вкрай обмеженою в більшості країн, включаючи економічно розвинуті. Тому варто зазначити метод пробного

лікування секвестрантами ЖК, який також фігурує в деяких клінічних рекомендаціях, наприклад Американської гастроентерологічної асоціації [138]. І хоча цей підхід є простим та клінічно доцільним, проте через погану переносимість та порушення прихильності до секвестрантів ЖК не може бути методом підтвердження чи виключення діагнозу [135].

Окремо слід зупинитись на результатах досліджень, що вивчали порушений обмін ЖК у пацієнтів з діагностованими ФЗК, особливо СПК [16, 22-24, 26, 27, 30, 93, 139-150]. Дані цих досліджень є доволі гетерогенними та в частині випадків навіть протилежними. У ряді досліджень з азійських країн було показано, що загальні рівні фекальних ЖК (фЖК) були достовірно вищими у пацієнтів із СПК-Д порівняно з практично здоровими людьми [30, 93, 143, 149]. Але в той же час в дослідженнях із залученням пацієнтів із західних країн не було знайдено достовірної різниці у рівнях загальних фЖК між СПК-Д та здоровими учасниками [22, 24, 27]. Можливо, це було пов'язано з вимірюванням фЖК у разових зразках стулу, а не зібраних впродовж 48 годин. Однак додатково, у цих же дослідженнях була знайдена достовірна різниця у значеннях загальних фЖК між СПК-Д та СПК із закрепом [24]. Тому в одному з оглядів 2022 року автори зазначають наявність загальної тенденції до збільшеної екскреції з калом ЖК у пацієнтів з СПК-Д порівняно з СПК із закрепом (СПК-З) та практично здоровими людьми [16]. Що стосується складу фЖК, то результати досліджень виявили збільшення частки саме кон'югованих ЖК у стулі пацієнтів із СПК-Д та збільшення їх пропорційного вмісту до некон'югованих ЖК [143]. У більшості досліджень було показано збільшення частки первинних ЖК та зменшення вторинних ЖК у стулі пацієнтів із СПК-Д [22, 23, 27, 30, 143, 149, 150]. Такі результати теоретично можуть бути пов'язані з недостатньою активністю кишкової бактеріальної ГСЖК, яка є ключовим ферментом у каскаді мікробної трансформації ЖК у кишечнику. Але тільки в 2 дослідженнях [27, 30], зазначених вище, проводилась оцінка активності ГСЖК, яка була знижена у пацієнтів із СПК-Д. Проте в цей же час нами було знайдено роботи з протилежними результатами [93]: збільшення пропорційного вмісту вторинних

ДХК та ЛХК у випорожнення пацієнтів із СПК-Д на тлі збільшеної загальної екскреції фЖК. В клінічних дослідженнях із залученням пацієнтів з перевагою закрепи було показано зменшення загальної екскреції фЖК [141, 144] з одночасним зменшенням кількості первинних ЖК [141] та збільшенням вторинної ЛХК [141, 144] у стулі пацієнтів. Додатково, в зазначених дослідженнях було виявлено позитивну кореляцію між часткою первинних фЖК та формою стулу за Бристольською шкалою і денною частотою стулу [27, 143]; негативну кореляцію між вторинними фЖК та частотою дефекацій [143, 149]. А рівні загальних та первинних фЖК були достовірними предикторами збільшеної ваги, частоти та консистенції стулу [141]. І навпаки, зменшення загальних та первинних фЖК та збільшення ЛХК були предикторами зменшеної ваги, частоти та консистенції стулу [141, 144]. Також деякими авторами було показано позитивну кореляцію між рівнями первинних фЖК та вираженістю абдомінального болю у пацієнтів із СПК [27], що може свідчити про роль ЖК у розвитку вісцеральної гіперчутливості [16]. Окрім оцінки показників метаболізму ЖК, у багатьох роботах досліджувались і параметри мікробіоти кишки у пацієнтів із СПК [22, 27, 30, 143], яка переважно була змінена порівняно зі здоровими людьми. Більш того, деякими авторами було знайдено різну кореляцію між певними штамами бактеріями та конкретними ЖК [143]. Проте, як зазначається в огляді 2022 року [16], кореляційний зв'язок не обов'язково є причинно-наслідковим. До того ж, залишається незрозумілим, що є первинним: порушення складу мікробіоти, що веде до дисметаболізму ЖК, чи надмірна кількість та змінений склад ЖК модифікує мікробний склад кишечника.

Сучасні рекомендації по лікуванню МЖК/ДЖК включають дієтичні рекомендації та медикаменти. Дієта з низьким вмістом жиру (20% загального споживання енергії) є ефективною у зменшенні таких клінічних проявів, як біль в животі, позиви до дефекації, нічна діарея [151]. Що стосується медикаментів, то найбільш доведеною групою препаратів є секвестранти ЖК (холестирамін, колесевелам, колестіпол), які зв'язують ЖК у просвіті кишки, формуючи нерозчинні комплекси, що виводяться зі стулом [32, 35, 40, 118]. До того ж,

пробне лікування ними може бути одним з методів діагностики МЖК, як зазначалось раніше в даному підрозділі, хоч і не найкращим. Але не дивлячись на те, що по цим медикаментам проводились рандомізовані клінічні дослідження при МЖК/ДЖК, і вони наявні в клінічних настановах [32, 137], їх застосування досі залишається в багатьох країнах «off-label» [118]. В Україні на початок дисертаційного дослідження був лише наявний лише один секвестрант ЖК – холестирамін [152]. В українській інструкції одним з показань до його використання зазначено діарею, спричинену жовчними кислотами у хворих із синдромом короткого кишечника. Інших показань в контексті лікування МЖК/ДЖК немає. Але, на жаль, про що вже було зазначено вище, секвестранти ЖК мають свої обмеження в застосуванні, переважно через побічні ефекти (вздуття, метеоризм) та пов'язану з ними низьку прихильність, порушення всмоктування інших препаратів через особливості фармакодинаміки, обмеженість на ринку та низьку доступність через високу вартість [35, 36]. Інші лікарські засоби для потенційного лікування МЖК/ДЖК на сьогодні перебувають на етапі клінічних досліджень. Наприклад, агоністи рецепторів FXR (обетіхілева кислота, тропіфексор) [118, 153], аналоги FGF19 (алдафермін) [154], змішані агоністи опіатних рецепторів (елюксадолін) [155], агоністи глюкагоноподібного пептиду 1 (ліраглутид) [156]. Що стосується модифікації кишкового мікробіому як потенційного напрямку терапії МЖК/ДЖК, то досліджень серед літературних даних вкрай мало [157]. Нами було знайдено одну експериментальну роботу на мишах із застосуванням пробіотику VSL#3, який містить 8 штамів бактерій родів *Streptococcus*, *Bifidobacterium* та *Lactobacillus* [37]. VSL#3 показав ефект у збільшенні декон'югації ЖК та їх виведення з калом, а також збільшенні синтезу ЖК в печінці шляхом впливу на вісь FXR-FGF15. Застосування цього ж пробіотику в клінічному дослідженні за участі пацієнтів із СПК [158] показало його ефект у зменшенні абдомінального болю, проте не вплинуло на рівні фЖК порівняно зі значеннями до початку лікування. Використання рифаксиміну як опції модифікації кишкової мікробіоти у пацієнтів із СПК теж мало клінічний ефект, але не виявило його у зміні

кількісного та якісного складу фЖК [159]. І хоча в багатьох оглядах [39, 40, 157] зазначається роль кишкового мікробіому у розвитку МЖК/ДЖК та теоретично обґрунтованої ефективності його модифікації для лікування останньої, тим не менше, клінічних досліджень, які б вивчали це, практично немає.

Отже, ЖК внаслідок різних причин та за рахунок ряду механізмів можуть грати патологічну роль у розвитку діареї та інших інтестинальних симптомів, що визначається як МЖК/ДЖК. Пацієнти, які відповідають критеріям ФЗК, часто мають докази МЖК/ДЖК, що на сьогоднішній день розглядається в якості одного з ймовірних механізмів розвитку ФЗК з діареєю. Першою лінією терапії МЖК/ДЖК є секвестранти ЖК, які, на жаль, мають ряд недоліків, що обмежують їх практичне застосування. Альтернативні підходи лікування даних розладів, включаючи модифікацію кишкового мікробіому, перебувають на етапі досліджень, проте наявних на сьогодні даних поки що недостатньо для рекомендації їх застосування в клінічній практиці.

Підсумовуючи даний розділ дисертаційної роботи, варто зупинитись на «пробілах у знаннях», які існують в контексті метаболізму ЖК та ФЗК. Недостатньо даних відносно ферментативної активності ГСЖК у кишечнику пацієнтів із СПК (нами було знайдено лише 2 дослідження); неоднозначність та спірність даних, що стосуються показників обміну ЖК у пацієнтів із СПК, не дивлячись на зростаючу кількість клінічних досліджень в даній тематиці; практично відсутність клінічних досліджень по застосуванню пробіотичних бактерій з метою корекції порушеного обміну ЖК та ймовірної МЖК/ДЖК у пацієнтів із СПК (було знайдено лише 1 дослідження); відсутність досліджень по оцінці модифікації активності ГСЖК після застосування пробіотичних бактерій у пацієнтів із СПК та ймовірною МЖК/ДЖК. Для заповнення цих «прогалин» і було направлено дане дисертаційне дослідження.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Загальний опис, дизайн та програма дисертаційного дослідження.

Клінічні огляди практично здорових добровольців та пацієнтів із СПК, лабораторні дослідження крові та зразків калу на визначення рівнів ЖК, призначення досліджуваних схем лікування та контрольні спостереження за учасниками дослідження виконувались дисертантом та співавторами опублікованих робіт на клінічних базах кафедри внутрішньої медицини №1 Національного медичного університету імені О. О. Богомольця. Визначення активності ферменту бактеріальної ГСЖК у зразках капсул, що містили пробіотичні бактерії різних видів та штамів, а також калу учасників дослідження проводились у лабораторії біоорганічної хімії і молекулярної візуалізації Інституту хімічних наук та інженерії (м. Лозанна, Швейцарія) в рамках співробітництва з кафедрою внутрішньої медицини №1 (діючий від 14.05.2018 меморандум про співробітництво, додаток Б).

Загалом, дисертаційна робота складалась з двох етапів, проведених за різними дизайнами: 1-й етап був виконаний за дизайном «випадок-контроль», а 2-й етап – рандомізованого відкритого паралельного дослідження. Для проведення першого етапу були залучені практично здорові учасники та пацієнти зі СПК-Д та СПК-З, у яких оцінювались рівні сироваткових ЖК (сЖК), фЖК, активність кишкової бактеріальної ГСЖК, а також вираженість симптомів та клінічна тяжкість СПК за валідованими шкалами/опитувальниками. Перед початком 2-го етапу, для вибору потенційно більш ефективного препарату на основі пробіотичних бактерій, було проведено визначення активності бактеріальної ГСЖК зразків пробіотичних засобів з різними штамами бактерій. Для проведення 2-го етапу роботи були залучені пацієнти тільки з СПК-Д, які випадковим чином були розділені на дві експериментальні групи, що отримували порівнювані схеми лікування впродовж 12 тижнів. Кожні 4 тижні лікування учасники дослідження оцінювались згідно валідованих шкал/опитувальників, а також по завершенню 12 тижнів лікування всім

пацієнтам із СПК-Д було визначено рівні сироваткових ЖК (сЖК), фЖК та активність кишкової бактеріальної ГСЖК.

Дисертаційне дослідження було проведено відповідно до законодавства України, принципів належної клінічної практики та етичних вимог Гельсінської декларації. Перед початком дослідження всі учасники підписали письмову інформовану згоду на участь у дослідженні, протокол якого був затверджений Комісією з питань біоетичної експертизи та етики наукових досліджень Національного медичного університету імені О.О. Богомольця (протокол № 152 від 15.11.2021 р.).

Для досягнення мети та вирішення задач дослідження в цілому було залучено 173 учасника, включаючи 145 пацієнтів із СПК.

Контрольна група складалась з 28 практично здорових добровольців віком від 19 до 45 років (20 жінок та 8 чоловіків), у яких не було діагностовано жодних захворювань ШКТ, включаючи функціональних. Додатково, учасники включались у контрольну групу за умови відсутності анамнезу вживання менше ніж за 3 місяці до початку дослідження будь-яких медикаментів, здатних впливати на склад кишкової мікробіоти (антибіотики та інші антибактеріальні засоби, пре- та пробіотичні препарати), а також послаблюючих засобів та секвестрантів ЖК. Учасники контрольної групи залучались у дослідження при відсутності суб'єктивних скарг на здоров'я.

Група 1 складалась із 37 пацієнтів із СПК-3, встановленим згідно Римських критеріїв IV перегляду, віком від 18 до 44 років (24 жінки та 13 чоловіків).

Група 2 складалась із 108 пацієнтів із СПК-Д, встановленим згідно Римських критеріїв IV перегляду, віком від 18 до 44 років (77 жінок, 31 чоловік). Відповідно до мети роботи, під час 2-го етапу дослідження пацієнти Групи 2 були додатково розділені на дві підгрупи випадковим чином (засліплена рандомізація):

- 1) **Група 2.1** – включала 51 пацієнта, яким призначалась монотерапія холестираміном у дозі 4 г («ПМС-холестирамін регуляр зі смаком

апельсина» виробництва «Фарма- сайнс Інк.» (Pharmascience Inc.), Канада) – 1 пакетик 2 рази на добу;

- 2) **Група 2.2** – включала 57 пацієнтів, яким призначалась комбінована терапія: холестирамін у дозі 4 г («ПМС-холестирамін регуляр зі смаком апельсина» виробництва «Фарма- сайнс Інк.» (Pharmascience Inc.), Канада) – 1 пакетик 2 рази на добу та капсули, що містять живі ліофілізовані бактерії $1,94 \times 10^9$ КУО (*Lactobacillus rhamnosus* – $0,5 \times 10^9$ КУО, *Lactobacillus plantarum* – $0,2 \times 10^9$ КУО, *Streptococcus thermophilus* – $0,5 \times 10^9$ КУО, *Lactobacillus acidophilus* – $0,5 \times 10^9$ КУО, *Bifidobacterium* spp. (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*) – $0,24 \times 10^9$ КУО); *Saccharomyces boulardii* – 65 мг; сухий екстракт квіток ромашки аптечної (*Matricaria chamomilla* L.) – 50 мг; інулін – 200 мг) («Опефера» виробництва World Medicine, Румунія) – 1 капсула 2 рази на добу.

Критерії включення для пацієнтів із СПК були наступними: жінки і чоловіки віком 18–45 років зі встановленим діагнозом СПК згідно Римських критеріїв IV перегляду [44] та «позитивної» стратегії діагностики [160], негативний скринінг на целиацію (нормальні рівні імуноглобуліну А загального та імуноглобуліну А до тканинної трансглютамінази), нормальні рівні фекального кальпротекину кількісного у пацієнтів з діареєю (<50 мкг/г), негативний аналіз калу на приховану кров (гемоглобін та трансферин в калі), негативний тест на вагітність для жінок, підписана інформована згода на участь у дослідженні.

Критерії не включення для пацієнтів із СПК були наступними: вік понад 45 років, наявність симптомів «тривоги» (сімейний анамнез колоректального раку у родичів 1-го порядку, об'єктивні й лабораторні ознаки анемії, наявність видимої крові в калі, нічні симптоми, втрата ваги, лихоманка, наявність утворення в черевній порожнині, що пальпується); органічні захворювання ШКТ; анамнез вживання менше ніж за 3 місяці до початку дослідження будь-яких медикаментів, здатних впливати на склад кишкової мікробіоти

(антибіотики та інші антибактеріальні засоби, пре- та пробіотичні препарати), а також послаблюючих засобів та секвестрантів ЖК; зловживання алкоголем і наркотичними речовинами; вагітність і лактація; онкологічні, тяжкі соматичні захворювання; гострі захворювання менше ніж за 2 місяці до початку дослідження; паралельна участь в інших дослідженнях.

Обстеження пацієнтів та дисертаційне дослідження тривало, в середньому, 14 тижнів та включало 3 основні фази:

1. Перша фаза була підготовчою (доклінічною), під час якої проводилось визначення активності бактеріальної ГСЖК зразків пробіотичних препаратів, що містили різні штами та кількості бактерій. В результаті було обрано один препарат (зазначено вище) як потенційно більш ефективний, який надалі призначався Групі 2.2 під час третьої фази дослідження.
2. Друга фаза включала набір практично здорових добровольців до контрольної групи, а також відбір пацієнтів із СПК до Групи 1 та Групи 2 шляхом визначення їх відповідності критеріям включення та невідповідності критеріям не включення. Тривалість даної фази складала до 14 діб та включала два відвідування дослідного центру. Під час першого відвідування потенційні учасники ознайомлювались із та підписували інформовану згоду на участь у дослідженні, а також дисертантом проводились ретельний збір скарг, анамнезу та фізикальне обстеження пацієнтів, забір зразків крові (для загального аналізу, скринінгу на целиацію) та калу (для визначення кальпротектину та прихованої крові). Під час другого відвідування відбувалась оцінка відповідності критеріям включення та не включення з наступним забором аналізів крові для визначення сЖК, калу для визначення фЖК і активності кишкової бактеріальної ГСЖК, а також заповнення клінічних шкал/опитувальників у вже включених в дослідні групи учасників дослідження. Надалі учасники Групи 2 рандомно (за допомогою «засліплених» конвертів) розподілялись у Групу 2.1 або

Групу 2.2 і отримували відповідні досліджувані схеми лікування залежно від групи. Для реєстрації можливих побічних дій, включаючи алергічні реакції, перше вживання досліджуваних препаратів відбувалась в присутності дисертанта з наступним спостереженням впродовж 2 годин.

- Третя фаза включала 12 тижнів прийому препаратів Групою 2.1 та Групою 2.2. Кожні 4 тижні пацієнти планово відвідували клінічну базу дослідження для моніторингу лікування, оцінки можливих побічних реакцій, а також заповнення клінічних шкал/опитувальників. Під час останнього відвідування дослідного центру, по закінченню повних 12 тижнів прийому порівнюваних схем лікування, у пацієнтів забирались зразки крові для аналізу на визначення сЖК та калу для визначення фЖК і активності кишкової бактеріальної ГСЖК.

Моніторинг учасників відбувався на амбулаторній основі згідно попередньо запланованих дат відвідувань клінічної бази для кожного учасника. За умов неможливості з'явитись у заплановану дату допускалось відтермінування/завчасне відвідування на один-два дні від запланованого. Узагальнений дизайн дослідження представлений на Рис 2.1. Схема відвідувань з відповідними втручаннями представлена у таблиці 2.1.

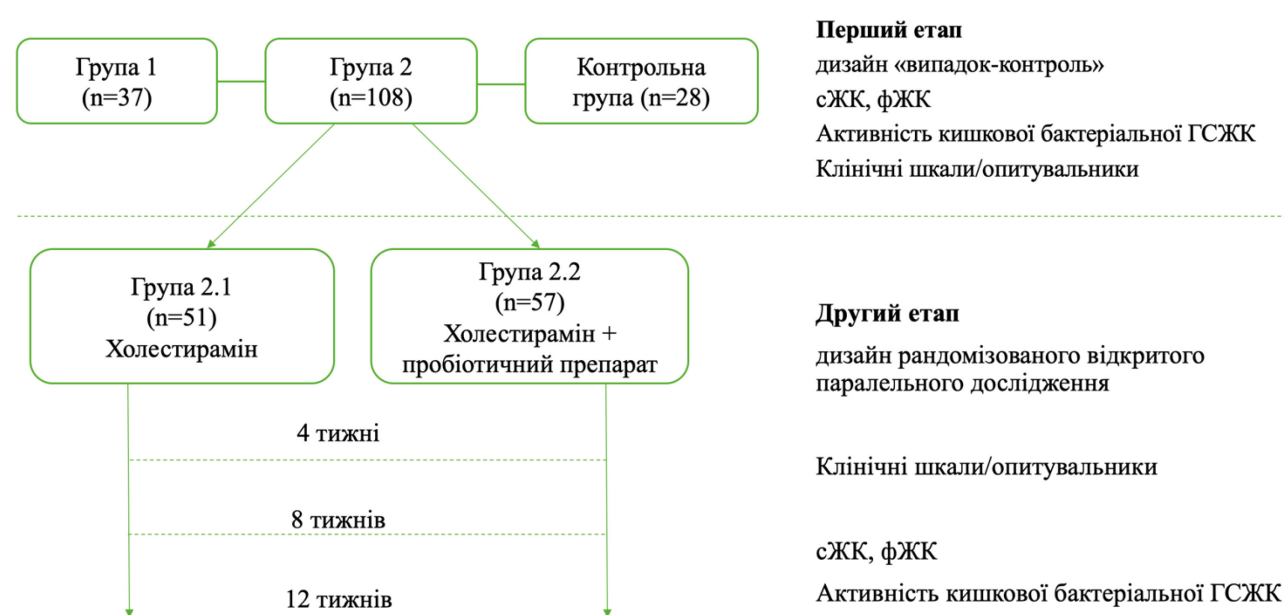


Рис. 2.1. Узагальнений дизайн дисертаційного дослідження.

Таблиця 2.1.

**Схема відвідувань учасниками дослідного центру (програма
обстежень та виконуваних втручань).**

Виконувані втручання	Етапи та відвідування				
	Перший етап		Другий етап		
	1	Через 3-14 діб	4 тиж.	8 тиж.	12 тиж.
Підпис інформованої згоди	+				
Збір анамнезу	+				
Фізикальні обстеження	+		+	+	+
Загальний аналіз крові, скринінг на целякію, кальпротектин та прихована кров у калі	+				
Відповідність критеріям включення		+			
Визначення сЖК, фЖК, активності кишкової бактеріальної ГСЖК		+			+
Заповнення клінічних опитувальників		+	+	+	+
Рандомізація, видача схем лікування		+			
Оцінка побічних дій, ефективності препаратів			+	+	+

Всі пацієнти отримували рекомендації щодо харчування, включно з дієтою з низьким вмістом FODMAP (підлягаючі ферментації олігосахариди, дисахариди, моносахариди та поліюли), і модифікації способу життя згідно з міжнародними клінічними настановами [42, 43]. Протягом дослідження пацієнтам заборонялось приймати інші пробіотичні препарати, пребіотичні дієтичні добавки, антибактеріальні медикаменти, протидіарейні засоби. За умови розвитку будь-яких несприятливих/побічних ефектів під час прийому досліджуваних препаратів, учасники мали негайно повідомити дослідника.

Заборонялось самостійно змінювати чи припиняти лікування досліджуваними схемами.

Умовами для виключення учасників із дослідження були: особиста відмова від подальшої участі, порушення запланованих дат відвідувань клінічної бази згідно програми дослідження, самостійна зміна прийому схем лікування чи їх відміна/пропуск у прийомі, відсутність комплаєнсу із учасником, розвиток несприятливих/побічних реакцій під час прийому медикаментів, що несли загрозу здоров'ю пацієнта та унеможливлювали його подальшу участь у дослідженні. Загалом до участі в дисертаційному дослідженні було відібрано 28 здорових добровольців, 37 пацієнтів із СПК-3 та 115 пацієнтів із СПК-Д. Серед останніх – пацієнтів із СПК-Д – впродовж роботи 7 було виключено з дослідження (3 – за власним бажанням, 4 – за порушення запланованих дат відвідувань). Повністю завершили всі етапи дослідження 108 пацієнтів із СПК-Д, всі пацієнти із СПК-3 та всі добровольці з контрольної групи. Отже, дані 173 учасників дослідження були проаналізовані та включені до остаточних результатів роботи.

Впродовж другого етапу дослідження не було зареєстровано виражених побічних дій, включаючи алергічні реакції, які б вимагали припинення прийому препаратів та виключення пацієнтів із дослідження. Найчастішою побічною реакцією, яка спостерігалась у деяких пацієнтів на фоні прийому холестираміну, було посилення здуття, яке не вимагало обов'язкового припинення прийому медикаменту.

2.2. Базові демографічні та клінічні дані учасників дослідження.

У таблиці 2.2. наведені базові демографічні та клінічні показники досліджуваних контрольної групи, Групи 1 та Групи 2. При множинних порівняннях (із апостеріорним аналізом) вихідних показників трьох зазначених груп не було виявлено достовірних відмінностей за віком ($p=0,224$) та співвідношенням за статтю ($p=0,749$). В той же час було виявлено, що такі клінічні характеристики, як біль у животі та вираженість здуття за ВАШ, рівні

ІВЧ та ІТФЗК, тяжкість депресії за шкалами PHQ-9, Бека, ГШТД-Д та тривоги за шкалою ГШТД-Т були статистично достовірно вищими в Групі 1 та Групі 2 порівняно з контрольною групою ($p < 0,01$), але при цьому не було достовірної різниці між Групою 1 та Групою 2 ($p > 0,05$). Добова частота дефекації була вищою в Групі 2 порівняно з контрольною групою та Групою 1 ($p < 0,01$), але не було різниці між контрольною групою та Групою 1 ($p > 0,05$). Середні значення форми стулу за Бристольською шкалою були різними між усіма трьома дослідними групами в попарних порівняннях ($p < 0,05$).

Таблиця 2.2.

**Вихідні демографічні та клінічні показники контрольної групи,
Групи 1 та Групи 2.**

Показник		Контрольна група (n=28)*	Група 1 (n=37)*	Група 2 (n=108) *	P**
Вік, роки		29 (22–31,5)	30 (26-35)	30,5(25,5-37)	0,224
Стать	Чол.	8 (28,6%)	13 (35,1%)	31 (28,7%)	0,749
	Жін.	20 (71,4%)	24 (64,9%)	77 (71,3%)	
ВАШ абдомінальний біль, бали		0 (0-0) ^{#§}	4 (3-5)	5 (4-5)	<0,001
ВАШ здуття, бали		0 (0-0.5) ^{#§}	4 (3-5)	4 (3-5)	<0,001
Добова частота стулу, к-ть/добу		1 (1-1) [#]	0.5 (0.5-1)	3 (2-3) ^{&}	<0,001
Бристольська шкала форми стулу, тип		3 (2,5-3) ^{#§}	1 (1-2)	5 (5-6) ^{&}	<0,001
ІВЧ, бали		1,5 (1-3) ^{#§}	34 (30-40)	36 (31-41)	<0,001
ІТФЗК, бали		0 (0-0) ^{#§}	137 (60-167)	156 (51-168)	<0,001
PHQ-9, бали		1 (0-2) ^{#§}	5 (5-7)	5,5 (5-7)	<0,001
ГШТД-Т, бали		1 (1-3)	6 (5-8)	7 (5-9)	<0,001
ГШТД-Д, бали		1 (0,5-2,5)	3 (3-5)	4 (3-6)	<0,001
Шкала Бека, бали		2 (1-3,5)	13 (12-17)	15 (12-18)	<0,001

*Дані представлені у вигляді Median (Q1-Q3), за винятком статі. Розподіл за статтю представлений в абсолютній кількості (у відсотках). **Використовувався тест Крускала-Уолліса та критерій Данна для апостеріорного аналізу, за винятком статі. Відмінності у співвідношенні за статтю перевіряли за критерієм хі-квадрат. #Достовірна різниця в порівнянні з Групою 2 ($p < 0,05$). §Достовірна різниця в порівнянні з Групою 1 ($p < 0,05$). &Достовірна різниця в порівнянні з Групою 1 ($p < 0,05$).

У таблиці 2.3. наведені базові демографічні та клінічні показники досліджуваних Групи 2.1 та Групи 2.2 (утворені після рандомного поділу Групи 2 для проведення другого етапу дослідження).

Таблиця 2.3.

Вихідні демографічні та клінічні показники Групи 2.1 та Групи 2.2

Показник		Група 2.1 (n=51)*	Група 2.2 (n=57) *	p**
Вік, роки		30 (23–38)	31 (26–36)	0,978
Стать	Чол.	16 (31,4)	15 (26,3)	0,712
	Жін.	35 (68,6)	42 (73,7)	
ВАШ абдомінальний біль, бали		4,35±1,64	4,74±1,48	0,203
ВАШ здуття, бали		4 (3-5)	5 (3-6)	0,067
Добова частота стулу, к-ть/добу		2,96±1,04	2,77±1,1	0,365
Бристольська шкала форми стулу, тип		5,61±0,92	5,58±0,94	0,873
ІВЧ, бали		36,33±7,15	36,11±7,02	0,865
ІТФЗК, бали		156 (51-68)	156 (51-68)	0,82
РНQ-9, бали		5,77±1,85	5,83±1,7	0,857
ГШТД-Т, бали		6 (5-9)	7 (5-9)	0,807
ГШТД-Д, бали		4 (2-6)	4 (3-6)	0,108
Шкала Бека, бали		15,88±4,11	15,56±3,73	0,668

* Дані наведені у вигляді Mean $\pm$ SD або Median (Q1-Q3) при нормальному й відмінному від нормального розподілі відповідно, за винятком статі. Розподіл за статтю представлений в абсолютній кількості (у відсотках).

** Використовувався непарний t-критерій Стюдента або критерій Вілкоксона при нормальному й відмінному від нормального розподілі відповідно.

Група 2.1 та Група 2.2 достовірно не відрізнялись між собою за всіма показниками перед початком другого етапу дослідження. Отже, ці групи були статистично однорідними та підлягали наступному порівнянню впродовж 12 тижнів лікування (другий етап роботи) для виявлення ймовірної різниці у ефективності використовуваних схем терапії.

2.3. Методи досліджень.

Базовий клінічний огляд учасників дослідження складався зі збору скарг, включаючи детальне опитування по системам органів з прицілом на шлунково-кишковий тракт, історії захворювання та анамнезу життя, фізикального огляду, включаючи поверхневу та глибоку пальпацію живота та інші методи об'єктивного дослідження за потреби. Особлива увага приділялась пошуку симптомів «червоних прапорців», які потенційно могли бути ознакою органічних уражень ШКТ (сімейний анамнез колоректального раку у родичів 1-го порядку, об'єктивні ознаки анемії, наявність видимої крові в калі, нічні симптоми, втрата ваги, лихоманка, наявність утворення в черевній порожнині, що пальпується тощо).

Лабораторні дослідження включали:

1. Клінічний аналіз крові розгорнутий (автоматизований з ручним підрахунком лейкоцитарної формули) виконувався за загальноприйнятою методикою проточної цитофлуориметрії. Основною метою виконання даного аналізу було виключення анемії та інших ознак ймовірних органічних захворювань (лейкоцтоз, тромбоцитопенія, підвищення швидкості осідання еритроцитів (ШОЕ) тощо).

2. Визначення сироваткових рівнів загального імуноглобуліну А імунотурбідиметричним методом та імуноглобуліну А до тканинної трансглутамінази імунофлюороферментним методом (ELIA Phadia). Визначення зазначених показників було спрямовано на виключення целиакії.
3. Визначення рівнів фекального кальпротектину методом твердофазного імуноферментного аналізу. Значення кальпротетину < 50 мкг/г дозволяли виключити кишкове запалення.
4. Визначення фекальних гемоглобіну спектрофотометричним методом та трансферину імунотурбідиметричним методом (прихована кров). Негативні значення даних маркерів дозволяли виключити органічні захворювання ШКТ, що можуть супроводжуватись прихованою кровотечею.
5. Визначення рівнів сЖК методом високоефективної рідинної хроматографії – мас-спектрометрії (ВЕРХ-МС). Вимірювались рівні загальних, первинних ХК і ХДХК, вторинних ДХК і ЛХК згідно описаних раніше методик [27]. Отримані рівні ЖК виражались в нмоль/л. Крім того, рівні первинних та вторинних сЖК були виражені у відсотках від загального рівня сЖК.
6. Визначення рівнів фЖК методом ВЕРХ-МС. Вимірювались рівні загальних, первинних ХК і ХДХК, вторинних ДХК і ЛХК згідно описаних раніше методик [22, 27]. Отримані рівні фЖК виражались в нмоль/г фекалій. Крім того, рівні первинних та вторинних фЖК були виражені у відсотках від загального рівня фЖК.
7. Визначення загальної активності ГСЖК зразків калу та капсул із пробіотичними бактеріями на основі ГСЖК-експресуючих штамів *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* та *Saccharomyces* методом УЕРХ-МС згідно описаної раніше методики [95]. Ферментативна активність ГСЖК виражалась в одиницях холоїлгліцин гідролази/мл (з *Clostridium perfringens*, EC 3.5.1.24, Sigma-Aldrich).

Неінструментальні обстеження (клінічні шкали та опитувальники).

1. ВАШ для оцінки вираженості абдомінального болю та здуття [46].
Пацієнти мали оцінити в середньому симптоми за останні 7 діб від 0 до 10 балів, де 0 – відсутність болю/здуття, а 10 – нестерпний біль/здуття.
2. Бристольська шкала форми стулу [47]. Пацієнти мали оцінити в середньому тип стулу за останні 7 діб від 1 до 7. Типи 1-2 відповідали закрепу, типи 3-4 – нормальному стулу, типи 5-7 відповідали діареї.
3. Денна частота випорожнень. Учасники дослідження мали зазначити кількість дефекацій за останні 7 діб. Надалі розраховувалась середня частота стулу за добу.
4. Оцінка ІВЧ [48, 49]. Даний індекс дозволяє оцінювати тяжкість ШКТ-направленої тривоги (вісцеральну чутливість) та включає 15 питань із діапазоном від 1 (повністю згоден) до 6 (зовсім не згоден), які потім конвертуються у 5 – 0 балів відповідно. Загальний бал ІВЧ може бути від 0 до 75, де більш високі значення вказують на більш виражену ШКТ-направлену тривогу.
5. Оцінка ІТФЗК [50]. Даний індекс включає 3 питання: тяжкість абдомінального болю на основі ВАШ (бали від 0 до 100), встановлений діагноз хронічного функціонального абдомінального болю та кількість візитів до лікаря протягом останніх 6 місяців. Загальна оцінка ІТФЗК менше 37 балів вказує на легку тяжкість ФЗК, 37–110 балів вказує на помірну тяжкість ФЗК, а більше 110 балів вказує на тяжкий перебіг ФЗК.
6. Визначення СПК-АП [46, 51], що є бінарною шкалою, яка містить одне питання: «Чи спостерігалось у Вас явне полегшення симптомів СПК за останні 7 діб?».
7. Визначення ГШОП-СПК [46, 52], що містить одне питання: «Якими були Ваші симптоми СПК протягом останніх 7 діб порівняно з тим, що було до початку дослідження?» та 7 можливих відповідей: 1) «значно гіршими»; 2) «помірно гіршими»; 3) «трохи гіршими»; 4) «без змін»; 5)

«трохи легшими»; 6) «помірно легшими» та 7) «значно легшими». Учасники дослідження, які відповідали 6 та 7 варіантами, вважались відповідачами на лікування.

8. Визначення PHQ-9 [53, 54], що є опитувальником для самооцінки депресивного розладу та складається з дев'яти питань та 4 варіантів відповіді до кожного: 0 – «не турбували взагалі», 1 – «протягом декількох днів», 2 – «більше половини цього часу», 3 – «майже кожного дня». Загальна сума балів до 4 відповідає відсутності депресії, > 20 балів – тяжкій депресії.
9. Оцінка шкали депресії Бека [55, 56], яка включає 21 питання та 4 можливих відповіді до кожного з них, які оцінюються від 0 до 3 балів. Загальна сума балів до 9 вказує на мінімальну депресію, а > 30 – на важку депресію.
10. Оцінка ГШТД-Т та ГШТД-Д [54, 57], які містять по 7 тверджень та 4 можливих відповіді до кожного з них, які оцінюються від 0 до 3 балів. Загальна сума балів по кожній шкалі до 7 відповідає нормі, 8-10 балів відповідають субклінічним депресії чи тривозі, 11 та більше балів – клінічно вираженим депресії чи тривозі.

Статистична обробка результатів дослідження. Використовувався статистичний програмний пакет IBM SPSS Statistics Base v.22 for Windows. Кількісні дані перевірялись на нормальність розподілу критерієм Шапіро — Уїлка. При нормальному розподілі дані наводились у вигляді середнього арифметичного зі стандартним відхиленням ($\text{Mean} \pm \text{SD}$), а при розподілі, відмінному від нормального, — у вигляді медіани з першим і третім квартилями (Median (Q1-Q3)). Для порівняння середніх значень трьох дослідних груп використовувались однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA (у випадку нормального розподілу даних) або тест Крускала-Уолліса (у випадку відмінного від нормального розподілу даних). Апостеріорний пост-факторний аналіз після ANOVA проводився за t-критерієм Ст'юдента для незалежних вибірок з використанням поправки Бонферроні, тоді як після тесту Крускала-Уолліса – за

тестом Данна. Для перевірки вірогідності різниці між середніми значеннями 2 груп при нормальному розподілі даних застосовувався непарний t-критерій Ст'юдента, а при розподілі, відмінному від нормального, – критерій Вілкоксона. При повторних вимірюваннях вірогідність різниці між двома й трьома та більше середніми значеннями при нормальному розподілі перевірялась за допомогою парного t-критерію Ст'юдента та методу RMANOVA відповідно; при відмінному від нормального розподілі – тестом зіставлених пар Вілкоксона та тестом Фрідмена відповідно. Вірогідність відмінностей між категорійними даними перевірялась із застосуванням критерію хі-квадрат. Для визначення статистичного зв'язку між даними використовувались коефіцієнт рангової кореляції Спірмена (r), а також методи однофакторної та багатфакторної логістичної регресії. Клінічний ефект оцінювався за показником відношення шансів (ВШ). Відмінності вважались вірогідними за умови значення $p < 0,05$.

2.4. Кінцеві змінні (точки) ефективності лікування.

Первинними кінцевими точками були зміни абсолютних значень форми випорожнень згідно з Брістольською шкалою, добової частоти стулу, вираженості абдомінального болю та здуття згідно з ВАШ, ІТФЗК, ІВЧ, наявність адекватного поліпшення за шкалами СПК-АП і ГШОП-СПК, а також зміни абсолютних та відносних (у відсотках) значень сЖК, фЖК та активності кишкової бактеріальної ГСЖК. Лікування вважалось ефективним у разі досягнення наступних умов через 12 тижнів лікування: зменшення вираженості абдомінального болю та здуття на $\geq 30\%$, зменшення добової частоти стулу на ≥ 1 /добу або її значення ≤ 2 /добу, покращення форми стулу в менший бік на ≥ 1 за Брістольською шкалою, позитивна відповідь по шкалі СПК-АП, 6 і 7 варіанти відповіді по шкалі ГШОП-СПК [46, 51, 52].

Вторинними кінцевими точками ефективності терапії досліджуваними схемами були зміни значень клінічних шкал/опитувальників, що оцінювали супутні до СПК депресивний та тривожний розлади (РНQ-9, Бека, ГШТД-Т та ГШТД-Д).

РОЗДІЛ 3

ПОКАЗНИКИ ОБМІНУ ЖК, АКТИВНІСТЬ ГСЖК ТА ЇХ ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК З КЛІНІЧНИМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ СПК

Як виходить з першого розділу дисертаційної роботи, що стосувався огляду існуючих на сьогодні літературних даних, порушення метаболізму та всмоктування ЖК є одними з чинників розвитку функціональних розладів ШКТ. Більшість досліджень акцентувались на оцінці рівнів сЖК та фЖК у пацієнтів із СПК, включаючи співвідношення первинних та вторинних ЖК. Однак, результати цих клінічних робіт виявились доволі неоднозначними та в ряді випадків протилежними. Відносно оцінки активності ГСЖК літературних даних недостатньо, оскільки було знайдено лише 2 клінічних дослідження. Тому було вирішено провести перший етап даного дисертаційного дослідження за дизайном «випадок-контроль», основною метою якого було оцінити показники метаболізму ЖК, активність ГСЖК та їх зв'язок з клінічними характеристиками у пацієнтів із різними варіантами СПК та практично здорових добровольців.

Для досягнення мети 1-го етапу роботи було залучено 37 пацієнтів із СПК-3 (Група 1), 108 – із СПК-Д (Група 2) та 28 практично здорових добровольців (контрольна група). Їх вихідні (базові) показники, що представлені в таблиці 2.2., були однорідними за віком та гендерним розподілом, але неоднорідними (достовірно відрізнялись) за іншими клінічними показниками.

У таблиці 3.1. представлені результати визначення сЖК, фЖК та відносної активності (ВА) кишкової бактеріальної ГСЖК трьох дослідних груп. При множинних порівняннях (із пост-факторним апостеріорним аналізом) було показано, що рівні загальних сЖК та абсолютні рівні вторинних сЖК статистично не відрізнялись між всіма групами. Абсолютні та відносні (у відсотках від загальних) рівні первинних сЖК були достовірно вищими, а відносні рівні вторинних сЖК – достовірно нижчими у пацієнтів з Групи 2

порівняно з контрольною та Групою 1 ($p<0,01$), проте не було виявлено достовірної різниці між контрольною та Групою 1 ($p>0,05$).

Таблиця 3.1.

Вихідні значення сЖК, фЖК та ВА ГСЖК учасників контрольної групи, Групи 1 та Групи 2.

Показник	Контрольна група (n=28)*	Група 1 (n=37)*	Група 2 (n=108) *	P**
Загальні сЖК, нмоль/л	1,36 (0,93-2,05)	1,56 (1,25-1,77)	1,68 (1,15-2,67)	0,101
Первинні сЖК, нмоль/л	0,47 (0,32-0,68)	0,52 (0,45-0,7)	0,86 (0,64-1,37) ^{#§}	<0,001
Первинні сЖК, %	34,4 (28,5-38,7)	36,9 (31,7-41,8)	55,2 (46-62,9) ^{#§}	<0,001
Вторинні сЖК, нмоль/л	0,92 (0,62-1,3)	0,96 (0,79-1,16)	0,73 (0,46-1,26)	0,114
Вторинні сЖК, %	65,6 (61,3-71,5)	63,1 (58,2-68,3)	44,7 (37-54) ^{#§}	<0,001
Загальні фЖК, нмоль/г	4,64 (4,19-4,85)	4,24 (3,9-4,75)	5,7 (5,22-6,36) ^{#§}	<0,001
Первинні фЖК, нмоль/г	0,3 (0,27-0,33)	0,3 (0,27-0,35)	1,27 (1,08-1,5) ^{#§}	<0,001
Первинні фЖК, %	6,65±0,1	7,1±0,9	22,7±4,5 ^{#§}	<0,001
Вторинні фЖК, нмоль/г	4,34 (3,9-4,52)	3,89 (3,63-4,43)	4,35 (4,03-4,96) [§]	0,002
Вторинні фЖК, %	93,35±1	92,9±0,9	77,3±4,5 ^{#§}	<0,001
ВА ГСЖК, Од/мл	0,2 (0,14-0,32)	0,17 (0,1-0,21)	0,1 (0,05-0,13) ^{#§}	<0,001

* Дані наведені у вигляді Mean $\pm$ SD або Median (Q1-Q3) при нормальному й відмінному від нормального розподілі відповідно. ** Використовувався однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA або тест Крускала-Уолліса при нормальному й відмінному від нормального розподілі відповідно. # Достовірна різниця при порівнянні з контрольною групою ($p < 0,05$). § Достовірна різниця при порівнянні з Групою 1 ($p < 0,05$).

Рівні загальних фЖК, абсолютні та відносні рівні первинних фЖК були достовірно вищими, а відносні рівні вторинних фЖК – достовірно нижчими у пацієнтів з Групи 2 порівняно з контрольною та Групою 1 ($p < 0,01$), проте не було виявлено достовірної різниці між контрольною та Групою 1 ($p > 0,05$). Абсолютні рівні вторинних фЖК були достовірно нижчими у Групі 2 порівняно з Групою 1 ($p < 0,01$), проте не було різниці при попарних порівняннях між Групою 2 та контрольною групою, між Групою 1 та контрольною групою ($p > 0,05$).

ВА кишкової бактеріальної ГСЖК була достовірно нижчою у Групі 2 порівняно з контрольною та Групою 1 ($p < 0,01$), проте не було виявлено достовірної різниці між двома останніми ($p > 0,05$) (Рис 3.1.).

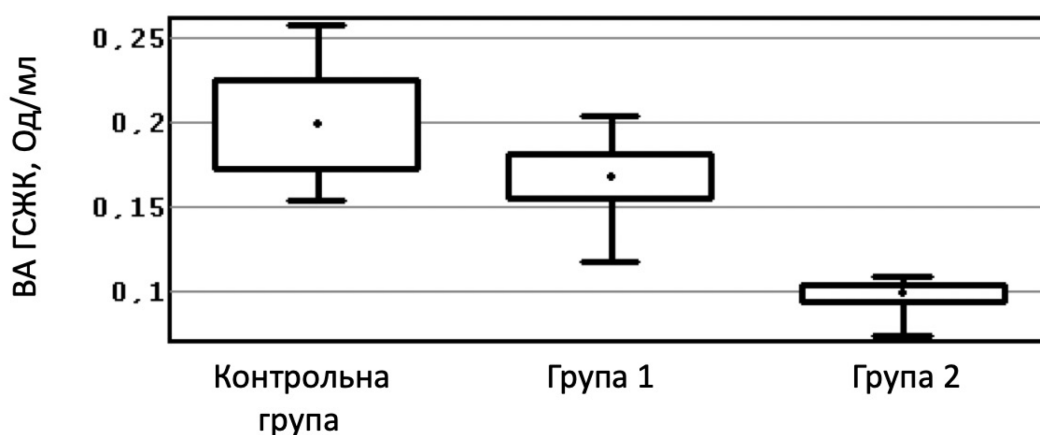


Рис.3.1. Значення ВА кишкової бактеріальної ГСЖК у учасників контрольної групи, Групи 1 та Групи 2 (медіана з першим та третім кватілями та вірогідними інтервалами).

Отже, індикатори метаболізму ЖК відрізнялись у пацієнтів із СПК з різними підтипами та практично здорових добровольців. У пацієнтів із СПК-Д, які складали Групу 2, були збільшеними рівні первинних сЖК та знижені відносні рівні вторинних сЖК при порівнянні з пацієнтами з СПК-З та здоровими добровольцями. В цей же час рівні загальних та первинних фЖК були вищими, а відносні рівні вторинних фЖК – нижчими у пацієнтів із СПК-Д порівняно з пацієнтами із закрепом та практично здоровими учасниками. До того ж, абсолютні значення вторинних ЖК були вищими у пацієнтів із СПК-З порівняно із СПК-Д. Виявлене зменшення активності кишкової бактеріальної ГСЖК у пацієнтів із СПК-Д порівняно із СПК-З та контрольною групою може бути одним з можливих пояснень таких профілів сироваткових та фекальних ЖК. Тому для оцінки ймовірного зв'язку між активністю ГСЖК та індикаторами обміну ЖК був проведений кореляційний аналіз. Було виявлено, що активність кишкової бактеріальної ГСЖК негативно корелювала із абсолютними та відносними рівнями первинних сЖК та фЖК, загальних фЖК, а також позитивно корелювала із відносними рівнями вторинних сЖК та фЖК (таб. 3.2).

Надалі, для виявлення можливого взаємозв'язку між показниками обміну ЖК та клінічними характеристиками учасників дослідження, використовувався кореляційний аналіз, результати якого наведені у таблиці 3.2. Розглядаючи всіх учасників дослідження разом, було виявлено, що абсолютні та відносні рівні первинних сЖК, рівні загальних, а також абсолютні та відносні рівні фЖК позитивно корелювали із всіма клінічними показниками ($p < 0,05$). Це свідчить, що вищі значення даних показників метаболізму ЖК були асоційовані з більш вираженим болем в животі, здуттям, діареєю, сильнішою вісцеральною чутливістю та тяжчим перебігом СПК. В цей же час, такі показники, як відносні рівні вторинних сЖК та фЖК, а також ферментативна активність кишкової бактеріальної ГСЖК негативно корелювали із всіма клінічними характеристиками ($p < 0,05$). Це означає, що їх вищі значення були асоційовані з легшим болем у животі, здуттям, більш оформленим стулом та меншою добовою

частотою стулу, а також менш вираженими вісцеральною чутливістю та тяжкістю перебігу СПК.

Таблиця 3.2.

Коефіцієнти кореляції між показниками обміну ЖК, ВА ГСЖК та клінічними характеристиками учасників дослідження ($p < 0,05$ у всіх кореляціях)

Показник	ВАШ абдомінальний біль	ВАШ здуття	Бристольська шкала форми стулу	Добова частота стулу	ІВЧ	ІТФЗК	ВА ГСЖК
Первинні сЖК, абс.	0,24	0,22	0,33	0,37	0,2	0,2	-0,25
Первинні сЖК, %	0,29	0,37	0,61	0,56	0,33	0,28	-0,38
Вторинні сЖК, %	-0,29	-0,37	-0,61	-0,56	-0,33	-0,28	0,38
Загальні фЖК, абс.	0,23	0,2	0,52	0,56	0,26	0,2	-0,4
Первинні фЖК, абс.	0,4	0,34	0,67	0,66	0,34	0,32	-0,5
Первинні фЖК, %	0,44	0,37	0,68	0,65	0,43	0,37	-0,48
Вторинні фЖК, %	-0,44	-0,37	-0,68	-0,65	-0,43	-0,37	0,48
ВА ГСЖК	-0,3	-0,3	-0,46	-0,4	-0,29	-0,36	-

Додатково, для оцінки ймовірного зв'язку між різними показниками обміну ЖК та ризиком саме підтипу СПК з діареєю, застосовувався статистичний метод логістичної регресії, включаючи однофакторний та багатфакторний, з побудовою ROC-кривих (криві операційних характеристик). У таблиці 3.3. наведені коефіцієнти однофакторних моделей логістичної регресії.

Таблиця 3.3.

**Коефіцієнти однофакторних моделей логістичної регресії зв'язку
ризиків СПК-Д та індикаторів метаболізму ЖК.**

Фактор ризику	Коефіцієнт моделі, $b \pm m^*$	Рівень значимості, p	ВШ (95% ВІ)
ВА ГСЖК	$-21,72 \pm 3,66$	$< 0,001$	$3,7 \cdot 10^{-10}$ ($2,8 \cdot 10^{-13}$ - $4,8 \cdot 10^{-7}$)
Загальні сЖК	$0,61 \pm 0,21$	0,0035	1,85 (1,22 - 2,78)
Первинні сЖК, абс.	$3,59 \pm 0,71$	$< 0,001$	36,3 (9-146)
Первинні сЖК, %	$0,29 \pm 0,05$	$< 0,001$	1,34 (1,22 - 1,48)
Вторинні сЖК, абс.	$-0,76 \pm 0,36$	0,036	0,47 (0,23 - 0,95)
Вторинні сЖК, %	$-0,29 \pm 0,05$	$< 0,001$	0,75 (0,68-0,82)
Загальні фЖК, абс.	$1,98 \pm 0,31$	$< 0,001$	7,23 (3,94-13,3)
Первинні фЖК, абс.	$19,33 \pm 6,23$	$< 0,01$	$2,5 \cdot 10^8$ ($1,2 \cdot 10^3$ - $5 \cdot 10^{13}$)
Первинні фЖК, %	9 ± 3796	0,99	-
Вторинні фЖК, абс	$0,6 \pm 0,23$	0,008	1,84 (1,18-2,87)
Вторинні фЖК, %	-9 ± 3796	0,99	-

* b – коефіцієнт, m – стандартна похибка.

При проведенні однофакторного аналізу було виявлено, що:

1) зі збільшенням активності бактеріальної ГСЖК у кишках пацієнтів ризик СПК-Д знижується, ВШ= $3,7 \cdot 10^{-10}$ (95% ВІ; $2,8 \cdot 10^{-13}$ - $4,8 \cdot 10^{-7}$). Крива операційних характеристик даної моделі наведена у Рис. 3.2., площа під якою AUC=0,82 (95% ВІ; 0,75-0,89), що вказує на дуже добру якість побудованої моделі.

2) зі збільшенням рівня загальних сЖК ризик СПК-Д підвищується, ВШ=1,85 (95% ВІ; 1,22 - 2,78). Крива операційних характеристик даної моделі наведена у Рис. 3.3., площа під якою AUC=0,59 (95% ВІ; 0,51-0,68), однак це вказує на погану якість побудованої моделі.

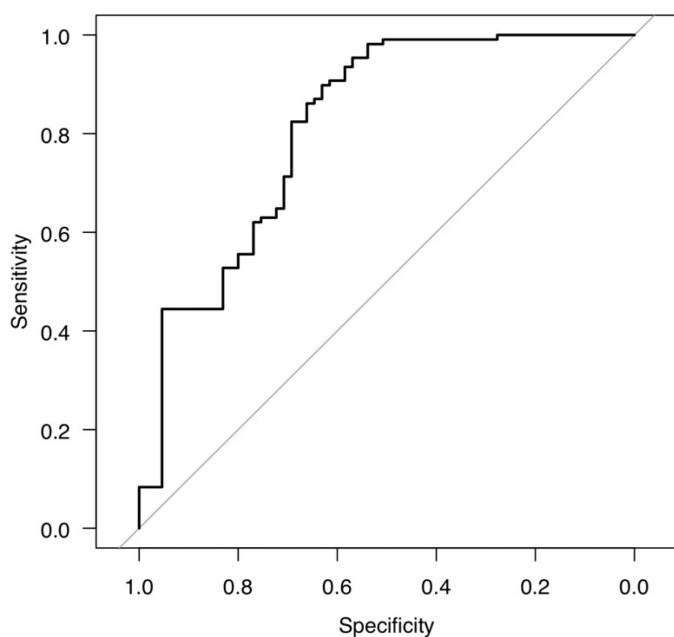


Рис. 3.2. ROC-крива однофакторної моделі логістичної регресії зв'язку ризику СПК-Д та ВА ГСЖК.

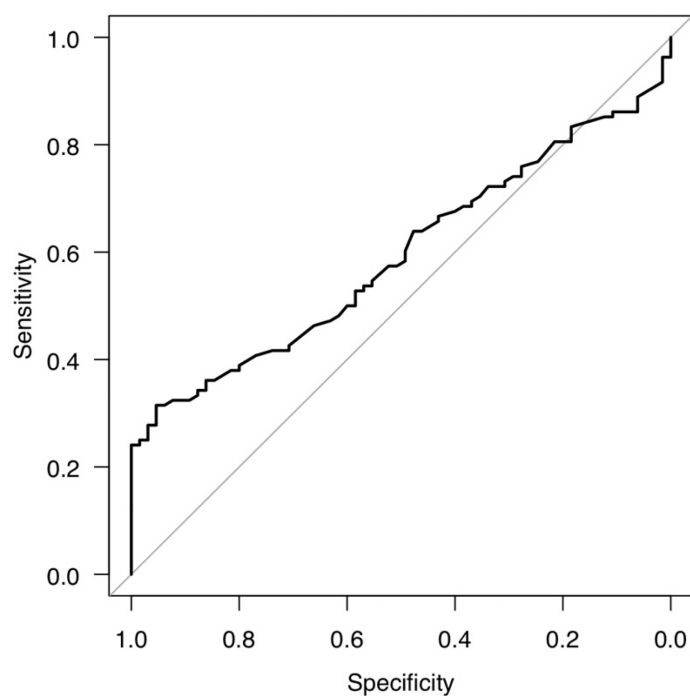


Рис. 3.3. ROC-крива однофакторної моделі логістичної регресії зв'язку ризику СПК-Д та рівнями загальних сЖК.

3) зі збільшенням абсолютного рівня первинних сЖК ризик СПК-Д підвищується, ВШ=36,3 (95% ВІ; 9-146). Крива операційних характеристик даної моделі наведена у Рис. 3.4., площа під якою $AUC=0,8$ (95% ВІ; 0,73-0,86), що вказує на добру якість побудованої моделі.

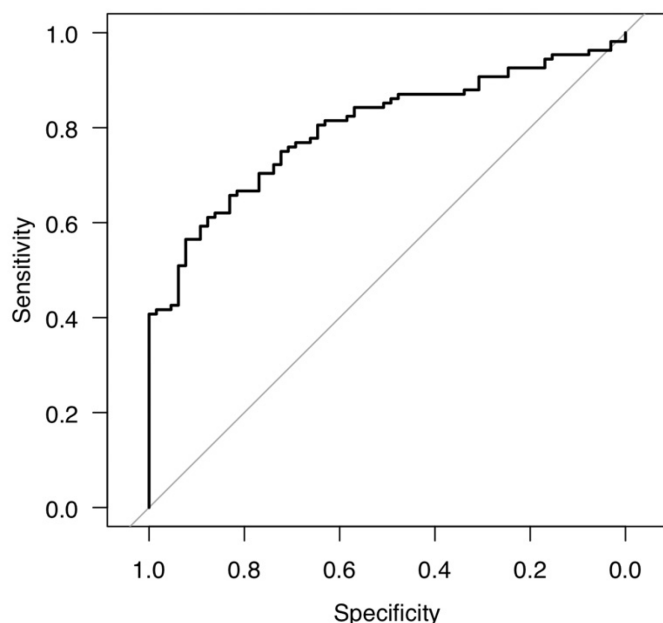


Рис. 3.4. ROC-крива однофакторної моделі логістичної регресії зв'язку ризику СПК-Д та абсолютними рівнями первинних сЖК.

4) зі збільшенням відносного (у %) рівня первинних сЖК ризик СПК-Д підвищується, ВШ=1,34 (95% ВІ; 1,22 – 1,48). Крива операційних характеристик даної моделі наведена у Рис. 3.5., площа під якою AUC=0,95 (95% ВІ; 0,92-0,98), що вказує на відмінну якість побудованої моделі.

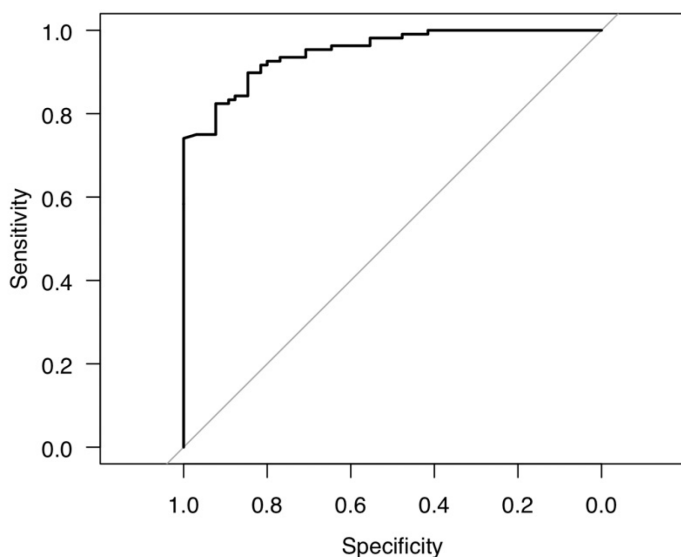


Рис. 3.5. ROC-крива однофакторної моделі логістичної регресії зв'язку ризику СПК-Д та відносними (у %) рівнями первинних сЖК.

5) зі збільшенням абсолютного рівня вторинних сЖК ризик СПК-Д знижується, ВШ=0,47 (95% ВІ; 0,23 – 0,95). Крива операційних характеристик

даної моделі наведена у Рис. 3.6., площа під якою $AUC=0,64$ (95% ВІ; 0,55-0,72), що вказує на задовільну якість побудованої моделі.

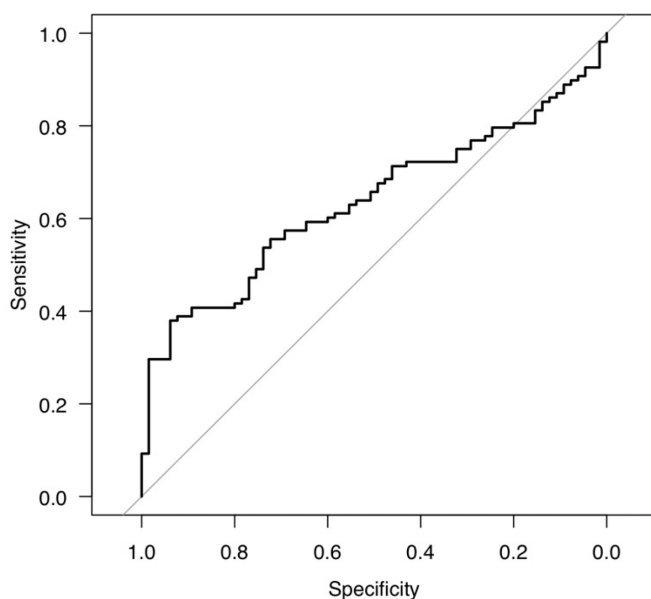


Рис. 3.6. ROC-крива однофакторної моделі логістичної регресії зв'язку ризику СПК-Д та абсолютними рівнями вторинних сЖК.

б) зі збільшенням відносного (у %) рівня вторинних сЖК ризик СПК-Д знижується, $ВШ=0,75$ (95% ВІ; 0,68-0,82). Крива операційних характеристик даної моделі наведена у Рис. 3.7., площа під якою $AUC=0,95$ (95% ВІ; 0,92-0,98), що вказує на відмінну якість побудованої моделі.

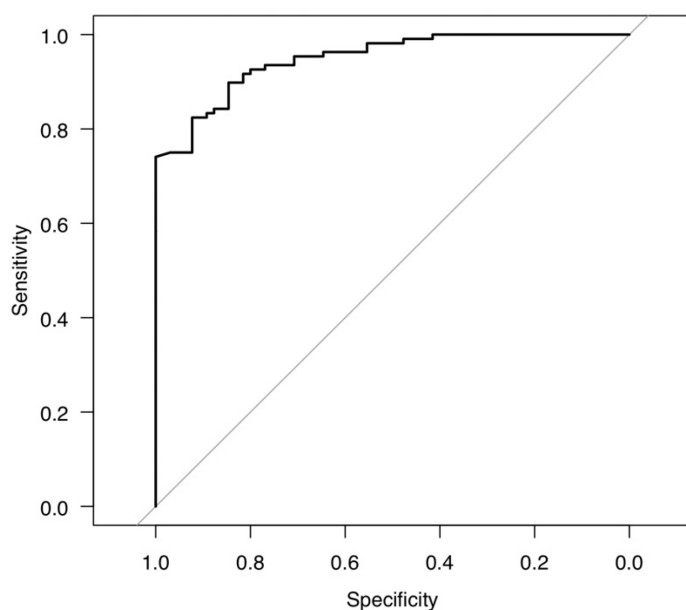


Рис. 3.7. ROC-крива однофакторної моделі логістичної регресії зв'язку ризику СПК-Д та відносними (у %) рівнями вторинних сЖК.

7) зі збільшенням рівня загальних фЖК ризик СПК-Д підвищується, ВШ=7,23 (95% ВІ; 3,94-13,3). Крива операційних характеристик даної моделі наведена у Рис. 3.8., площа під якою $AUC=0,89$ (95% ВІ; 0,84-0,94), що вказує на дуже добру якість побудованої моделі.

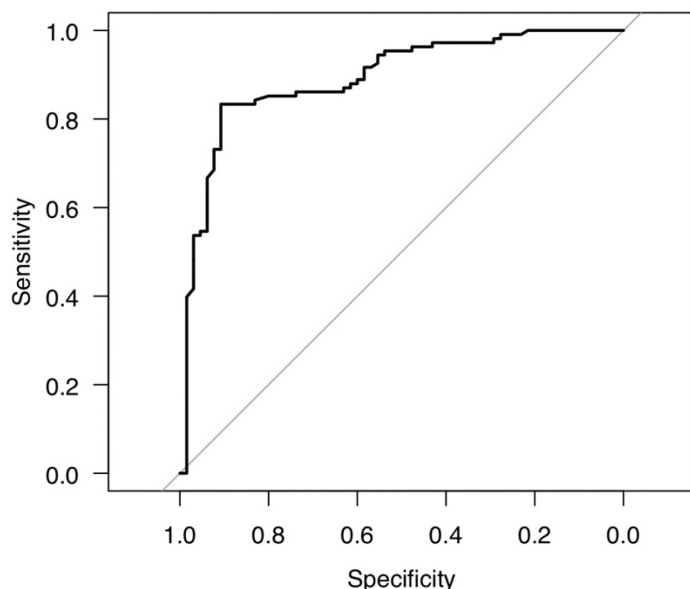


Рис. 3.8. ROC-крива однофакторної моделі логістичної регресії зв'язку ризику СПК-Д та рівнями загальних фЖК.

8) зі збільшенням абсолютного рівня первинних фЖК ризик СПК-Д підвищується, ВШ= $2,5 \cdot 10^8$ (95% ВІ; $1,2 \cdot 10^3$ - $5 \cdot 10^{13}$). Крива операційних характеристик даної моделі наведена у Рис. 3.9., площа під якою $AUC=0,99$ (95% ВІ; 0,99-1), що вказує на відмінну якість побудованої моделі.

9) зі збільшенням абсолютного рівня вторинних фЖК ризик СПК-Д підвищується, ВШ=1,84 (95% ВІ; 1,18-2,87). Крива операційних характеристик даної моделі наведена у Рис. 3.10., площа під якою $AUC=0,65$ (95% ВІ; 0,57-0,73), що вказує на задовільну якість побудованої моделі.

Отже, сконструйовані однофакторні моделі логістичної регресії показали, що збільшення активності ГСЖК та абсолютних і відносних рівнів вторинних сЖК були асоційовані з нижчим ризиком СПК-Д. Відсоткові рівні первинних та вторинних фЖК не показали достовірного зв'язку, а збільшення рівнів всіх інших індикаторів метаболізму ЖК було асоційовано з підвищеним ризиком СПК-Д.

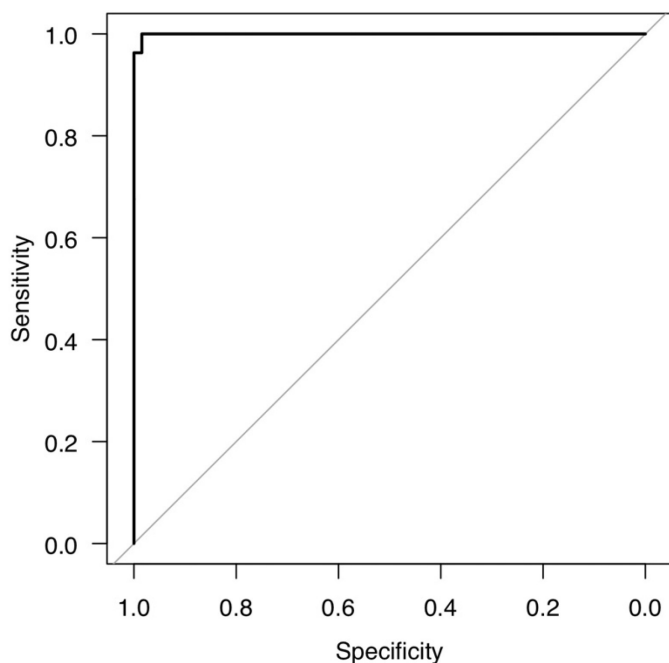


Рис. 3.9. ROC-крива однофакторної моделі логістичної регресії зв'язку ризику СПК-Д та абсолютними рівнями первинних фЖК.

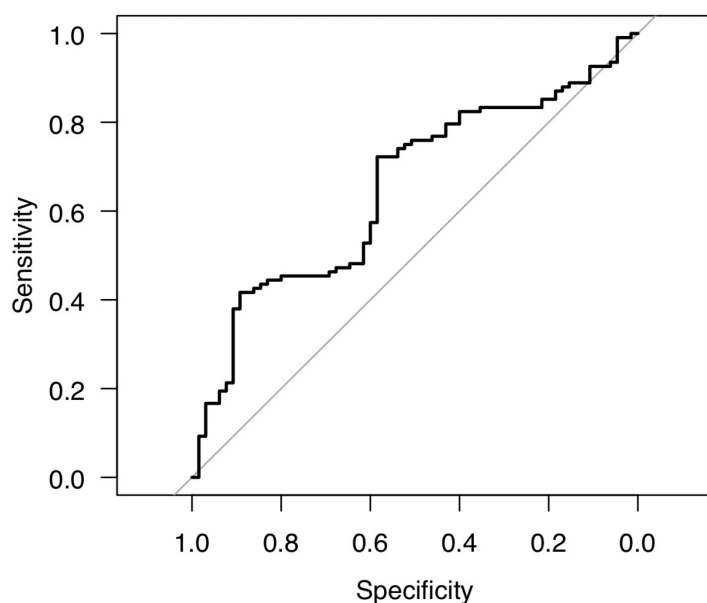


Рис. 3.10. ROC-крива однофакторної моделі логістичної регресії зв'язку ризику СПК-Д та абсолютними рівнями вторинних фЖК.

Надалі, для відбору мінімального переліку чинників, пов'язаних з ризиком СПК-Д, було використано метод побудови багатфакторної моделі логістичної регресії. В аналіз було включено такі чинники: ВА ГСЖК, рівні загальних сЖК, фЖК, абсолютні та відносні рівні первинних та вторинних сЖК. Методом покрокового включення та виключення (на основі AIC) було виділено 4 чинники, асоційованих з ризиком СПК-Д: ВА ГСЖК, рівні загальних сЖК та фЖК,

відсоткові рівні первинних сЖК. Коефіцієнти даної 4-факторної моделі зазначені у таблиці 3.4., крива операційних характеристик моделі наведена у Рис. 3.11., площа під якою $AUC=0,98$ (95% ВІ; 0,96-1), що вказує на відмінну якість побудованої моделі.

Таблиця 3.4.

Коефіцієнти 4-факторної моделі прогнозування ризику СПК-Д.

Фактор ризику	Коефіцієнт моделі, $b \pm m^*$	Рівень значимості, p	ВШ (95% ВІ)
ВА ГСЖК	$-20 \pm 6,48$	0,002	$2 \cdot 10^{-9}$ ($6 \cdot 10^{-15}$ - $6,4 \cdot 10^{-4}$)
Загальні сЖК	$1,15 \pm 0,51$	0,025	3,15 (1,16 - 8,56)
Первинні сЖК, %	$0,31 \pm 0,08$	$< 0,001$	1,36 (1,16 – 1,59)
Загальні фЖК, абс.	$1,46 \pm 0,46$	0,001	4,3 (1,75-10,5)

* b – коефіцієнт, m – стандартна похибка.

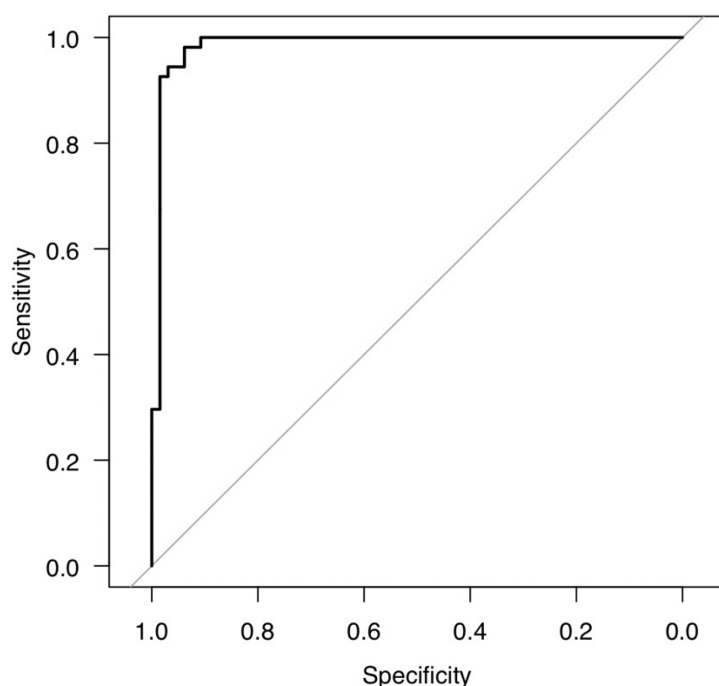


Рис. 3.11. ROC-крива 4-факторної моделі прогнозування ризику СПК-Д.

Згідно побудованої моделі, зі збільшенням активності кишкової бактеріальної ГСЖК ризик СПК-Д знижується (ВШ= $2 \cdot 10^{-9}$ (95% ВІ; $6 \cdot 10^{-15}$ - $6,4 \cdot 10^{-4}$), тоді як зі збільшенням рівнів загальних сЖК (ВШ=3,15 (95% ВІ; 1,16 - 8,56), фЖК (ВШ=4,3 (95% ВІ; 1,75-10,5) та відносних рівнів первинних сЖК

(ВШ=1,36 (95% ВІ; 1,16 – 1,59) – підвищується, при стандартизації за іншими факторами.

Отже, виявлені відхилення індикаторів обміну ЖК в сироватці крові та калі пацієнтів мали зв'язок з ферментативною активністю ГСЖК, клінічними симптомами та характеристиками учасників дослідження, а також ризиком СПК-Д. Вищі значення активності ГСЖК були асоційовані з вищими відносними рівнями вторинних сЖК та фЖК і, навпаки, нижчими абсолютними та відносними рівнями первинних сЖК, фЖК та загальних фЖК. Вищі значення абсолютних та відносних рівнів первинних сЖК та фЖК, загальних фЖК були асоційовані з більш вираженими боєм в животі, здуттям, діареєю, сильнішою вісцеральною чутливістю та тяжчим перебігом СПК. І навпаки, вищі відносні рівні вторинних сЖК та фЖК, а також активність кишкової бактеріальної ГСЖК були асоційовані з менш вираженими клінічними проявами, зазначеними вище. До того ж, аналіз моделей логістичної регресії показав, що ризик СПК-Д підвищувався зі збільшенням рівнів загальних сЖК, фЖК та відносних рівнів первинних сЖК і, навпаки, знижувався зі збільшенням ВА кишкової бактеріальної ГСЖК.

Основні результати з даного розділу дисертаційної роботи були висвітлені у відповідних опублікованих статтях [161].

РОЗДІЛ 4

ЕФЕКТИВНІСТЬ ГСЖК-СИНТЕЗУЮЧИХ ПРОБІОТИЧНИХ БАКТЕРІЙ У ЗМЕНШЕННІ КЛІНІЧНИХ ПРОЯВІВ СПК-Д

Зважаючи на роль ЖК і їх мальабсорбції в розвитку СПК-Д, основним варіантом лікування такого стану є застосування секвестрантів ЖК, яке, тим не менше, не позбавлене ряду суттєвих недоліків і відповідно обмеженого практичного використання. Одним з альтернативних підходів, що перебуває на етапі досліджень, є модифікація кишкового мікробіому. В контексті останнього особливий інтерес представляють пробіотичні бактерії, здатні синтезувати фермент ГСЖК, який грає одну з ключових ролей у гідролізі первинних ЖК. В попередніх дослідженнях, а також по результатах першого етапу дисертаційної роботи (Розділ 3), було показано, що у пацієнтів із СПК-Д наявна збільшена екскреція з калом саме первинних кон'югованих ЖК, рівень яких асоціювався з клінічними проявами СПК-Д. Більш того, в нашій і двох інших роботах було виявлено зменшення активності ферменту ГСЖК у кишках пацієнтів із СПК-Д, що ймовірно може пояснювати збільшену екскрецію фекальних первинних ЖК у таких пацієнтів та відповідні симптоми. Отже, можна логічно припустити, що застосування препаратів із пробіотичними бактеріями збільшуватиме активність ГСЖК у кишках пацієнтів, що може мати ефект в лікуванні МЖК та СПК-Д. Проте наукового підтвердження такого припущення практично немає. Тому однією з цілей другого етапу дисертаційного дослідження було порівняти ефективність комбінованого лікування, що включало комплексний пробіотичний препарат на основі ГСЖК-синтезуючих штамів бактерій та холестирамін, з монотерапією холестираміном у зменшенні клінічних проявів СПК-Д.

Ще на підготовчому етапі роботи (перша доклінічна фаза), для відбору потенційно більш ефективного пробіотичного препарату, було проведено

визначення активності бактеріальної ГСЖК декількох зразків, що містили різні штами та кількості бактерій. Були оцінені наступні зразки:

1. Капсули із генетично-модифікованим (без генів ГСЖК) *Lactobacillus plantarum*.
2. Капсули із диким типом *Lactobacillus plantarum* WT.
3. Капсули на основі штамів *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*), *Saccharomyces boulardii*.

Було виявлено, що ВА ГСЖК 3-го зразку, що містив комбінацію різних штамів пробіотичних бактерій, складав $2,08 \pm 0,06$ Од/мл порівняно із $1 \pm 0,04$ Од/мл 2-го зразку на основі дикого типу *Lactobacillus plantarum* WT та $0,03 \pm 0,01$ Од/мл 1-го зразку, який містив штам *Lactobacillus plantarum* без генів ГСЖК, $p < 0,05$ (рис. 4.1). Отже, третій зразок мав активність ГСЖК практично в 70 разів вищу за перший та в 2 рази вищу за другий зразок. Тому було прийняте рішення використати саме цей зразок для проведення другого етапу дисертаційного дослідження.

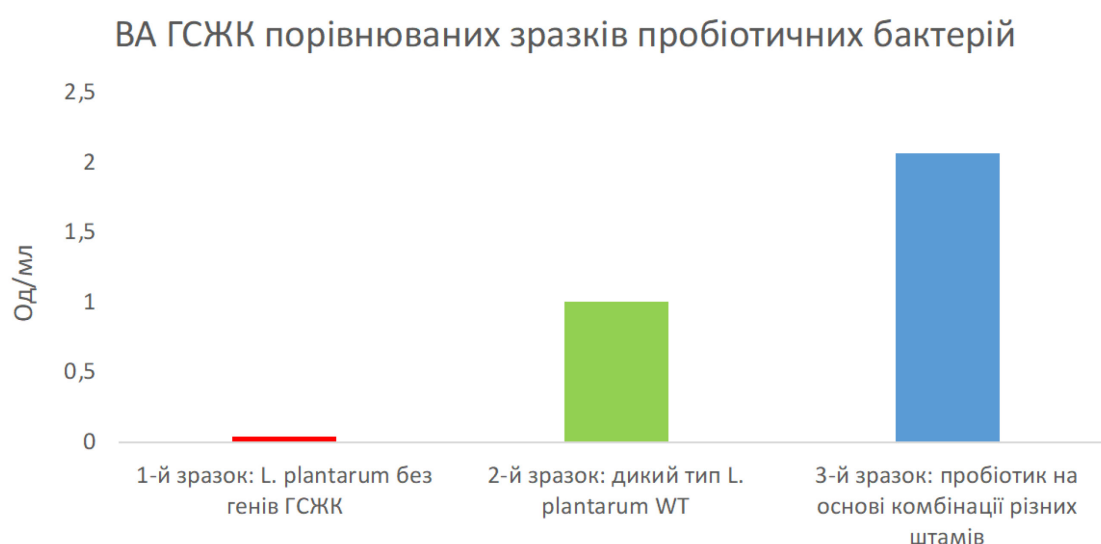


Рис. 4.1. Значення ВА ГСЖК зразків капсул з різними пробіотичними бактеріями.

Для досягнення мети другого етапу дисертаційної роботи учасників з Групи 2, яку складали пацієнти із СПК-Д, було розділено випадковим чином на

дві підгрупи: Група 2.1 (n=51), пацієнти якої отримували монотерапію холестираміном, та Група 2.2 (n=57), учасники якої отримували комбіноване лікування з холестираміну та відібраного як потенційно більш ефективного комплексного пробіотичного препарату на основі штамів *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*), *Saccharomyces boulardii*. Їх вихідні (базові) показники, що представлені в таблиці 2.3., були статистично однорідними (достовірно не відрізнялись) за демографічними та всіма клінічними показниками. Тому групи були порівнюваними впродовж наступних 12 тижнів лікування для оцінки ймовірної різниці у ефективності використовуваних схем терапії.

4.1. Ефективність порівнюваних схем лікування у зменшенні клінічних проявів СПК-Д.

Кожні 4 тижні лікування порівнюваними схемами проводилась оцінка клінічних проявів СПК-Д із застосуванням шкал та опитувальників. У таблиці 4.1. наведені дані по Групі 2.1 між різними часовими інтервалами дослідження. Вираженість абдомінального болю, тип випорожнень за Брістольською шкалою, частота випорожнень, значення ІТФКЗ та ІВЧ вірогідно розрізнялися між часовими проміжками дослідження, $p < 0,05$. При апостеріорному аналізі в Групі 2.1 порівняно з вихідними значеннями вірогідно нижчими були вираженість абдомінального болю та ІТФКЗ тільки через 4 тижні, значення типу випорожнень за Брістольською шкалою і денна частота випорожнень – через 4, 8 і 12 тижнів, а ІВЧ – через 4 і 12 тижнів; додатково денна частота випорожнень була нижчою через 12 тижнів порівняно із значеннями через 4 тижні, $p < 0,05$ у всіх порівняннях. Отже, монотерапія холестираміном, що призначалась Групі 2.1., була ефективною в зменшенні всіх клінічних проявів СПК-Д, окрім здуття, через різні проміжки часу після початку лікування.

Таблиця 4.1.

**Клінічні показники Групи 2.1 упродовж часових інтервалів
дослідження.**

Термін	ВАШ абдомінальний біль, бали*	ВАШ здуття, бали*	Бристольська шкала форми стулу, тип*	Добова частота стулу, к- ть/добу*	ІТФЗК, бали*	ІВЧ, бали*
Вихідні	4,35±1,64	4 (3-5)	5,61±0,92	3 (2-3)	156 (51- 168)	36,33±7,15
4 тиж.	3,69±1,33 [#]	3 (2-4)	4,69±1,3 [#]	3 (2-3) [#]	137 (51- 158) [#]	33,1±6,52 [#]
8 тиж.	3,84±1,41	3 (2-4)	4,67±1,34 [#]	2 (1-3) [#]	136 (52- 157)	32,84±5,56
12 тиж.	3,71±1,25	3 (2-4)	4,67±1,34 [#]	2 (1-3) ^{#§}	136 (51- 158)	31,14±5,02 [#]
Р**	0,046	0,057	<0,001	<0,001	0,037	<0,001

*Дані представлені у вигляді Mean±SD або Median (Q1-Q3) при нормальному та відмінному від нормального розподілі, відповідно; **RMANOVA або критерій Фрідмена застосовувались при нормальному та відмінному від нормального розподілі, відповідно; [#] достовірна різниця у порівнянні з вихідними значеннями, $p < 0,05$; [§] достовірна різниця у порівнянні зі значеннями через 4 тижні, $p < 0,05$.

У таблиці 4.2. наведені дані по аналогічним показникам у Групі 2.2 між різними часовими інтервалами дослідження. Вираженість абдомінального болю, здуття, тип випорожнень за Бристольською шкалою, частота випорожнень, значення ІТФКЗ та ІВЧ вірогідно розрізнялися між часовими проміжками дослідження, $p < 0,05$. При апостеріорному аналізі в Групі 2.2 порівняно з вихідними значеннями вірогідно нижчими були вираженість абдомінального болю, здуття, значення типу випорожнень за Бристольською шкалою, ІТФКЗ та ІВЧ через 4, 8 і 12 тижнів, але денна частота випорожнень – через 8 і 12 тижнів, $p < 0,05$ у всіх порівняннях. Додатково значення типу випорожнень за Бристольською шкалою були вірогідно нижчими через 12 тижнів порівняно із

значеннями через 4 тижні, $p < 0,05$. Денна частота випорожнень та ІВЧ були вірогідно нижчими через 12 тижнів порівняно зі значеннями через 4 і 8 тижнів, $p < 0,05$ в обох порівняннях.

Таблиця 4.2.

Клінічні показники Групи 2.2 упродовж часових інтервалів дослідження.

Термін	ВАШ абдомінальний біль, бали*	ВАШ здуття, бали*	Бристольська шкала форми стулу, тип*	Добова частота стулу, к-ть/добу*	ІТФЗК, бали*	ІВЧ, бали*
Вихідні	4,74±1,48	4,51±1,68	5,58±0,94	3 (2-3)	156 (51-168)	36,11±7,02
4 тиж.	3,9±1,36 [#]	3,23±1,27 [#]	4,68±1,35 [#]	2 (2-3)	146 (50-157) [#]	32,77±6,96 [#]
8 тиж.	3,86±1,27 [#]	2,67±1,43 [#]	4,6±1,32 [#]	2 (1-3) [#]	137 (51-157) [#]	30,16±6,11 [#]
12 тиж.	3,84±1,45 [#]	2,51±1,45 [#]	4,14±1,22 ^{#§}	1 (1-2) ^{#§&}	137 (51-157) [#]	28,88±5,72 ^{#§&}
p**	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,05	<0,001

*Дані представлені у вигляді Mean±SD або Median (Q1-Q3) при нормальному та відмінному від нормального розподілі, відповідно; **RMANOVA або критерій Фрідмена застосовувались при нормальному та відмінному від нормального розподілі, відповідно; [#] достовірна різниця у порівнянні з вихідними значеннями, $p < 0,05$; [§] достовірна різниця у порівнянні зі значеннями через 4 тижні, $p < 0,05$; [&] достовірна різниця у порівнянні зі значеннями через 8 тижнів, $p < 0,05$.

Отже, комбіноване лікування із досліджуваним пробіотиком, що призначалось Групі 2.2, було ефективним у зменшенні всіх клінічних проявів СПК-Д через різні проміжки часу після початку лікування. Можна зробити попередній висновок, що обидві досліджувані схеми терапії по окремої мали ефект у лікуванні СПК-Д через різні інтервали після його початку (окрім здуття у Групі 2.1). Тому для визначення ймовірної відмінності у ефективності

досліджуваних схем лікування надалі було проведено порівняння показників між Групою 2.1 та Групою 2.2 (таблиця 4.3.).

Таблиця 4.3.

Порівняння клінічних показників Групи 2.1 та Групи 2.2 упродовж часових інтервалів дослідження

Показник	Група 2.1 (n=51)*	Група 2.2 (n=57)*	P**
Через 4 тижні			
ВАШ абдомінальний біль, бали	3,69±1,33	3,9±1,36	0,425
ВАШ здуття, бали	3,26±1,31	3,23±1,27	0,913
Бристольська шкала форми стулу, тип	4,69±1,3	4,68±1,35	0,992
Добова частота стулу, к-ть/добу	2,37±0,92	2,27±0,94	0,577
ІТФЗК, бали	137 (51-158)	146 (50-157)	0,978
ІВЧ, бали	33,1±6,52	32,77±6,96	0,811
Через 8 тижнів			
ВАШ абдомінальний біль, бали	3,84±1,41	3,86±1,27	0,952
ВАШ здуття, бали	3,22±1,33	2,67±1,43	0,042
Бристольська шкала форми стулу, тип	4,67±1,34	4,6±1,32	0,788
Добова частота стулу, к-ть/добу	2 (1-3)	2 (1-3)	0,528
ІТФЗК, бали	136 (52-157)	137 (51-157)	0,763
ІВЧ, бали	32,84±5,55	30,16±6,11	0,019
Через 12 тижнів			
ВАШ абдомінальний біль, бали	3,71±1,25	3,84±1,45	0,604
ВАШ здуття, бали	3,2±1,3	2,51±1,45	0,024
Бристольська шкала форми стулу, тип	4,67±1,34	4,14±1,22	0,035
Добова частота стулу, к-ть/добу	2 (1-3)	1 (1-2)	0,017
ІТФЗК, бали	136 (51-158)	137 (51-157)	0,77
ІВЧ, бали	31,14±5,02	28,88±5,72	0,032

* Дані представлені у вигляді Mean±SD або Median (Q1-Q3) при нормальному та відмінному від нормального розподілі, відповідно; ** непарний t-критерій Ст'юдента або критерій Вілкокосна застосовувались при нормальному та відмінному від нормального розподілі, відповідно.

Порівняння клінічних показників між групами показало, що в Групі 2.2, де призначалось комбіноване лікування, вираженість здуття і значення ІВЧ були нижчими через 8 і 12 тижнів дослідження (рис. 4.2 та 4.3), а значення типу випорожнень за Брістольською шкалою та денна частота випорожнень – через 12 тижнів порівняно з Групою 2.1, де призначалась лише монотерапія холестираміном, $p < 0,05$ у всіх порівняннях (рис. 4.4 та 4.5).

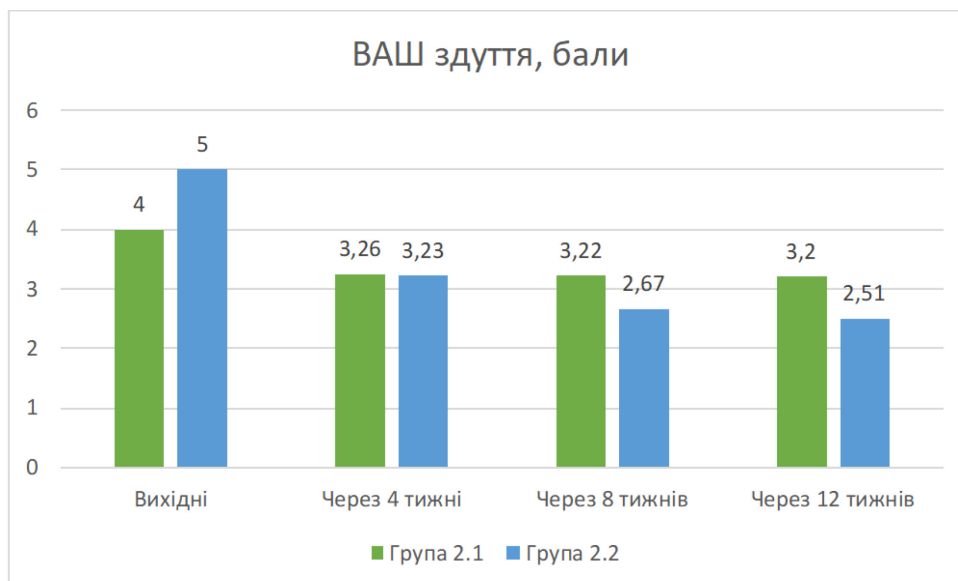


Рис. 4.2. Вираженість здуття згідно ВАШ у Групі 2.1 та Групі 2.2 упродовж часових інтервалів дослідження.

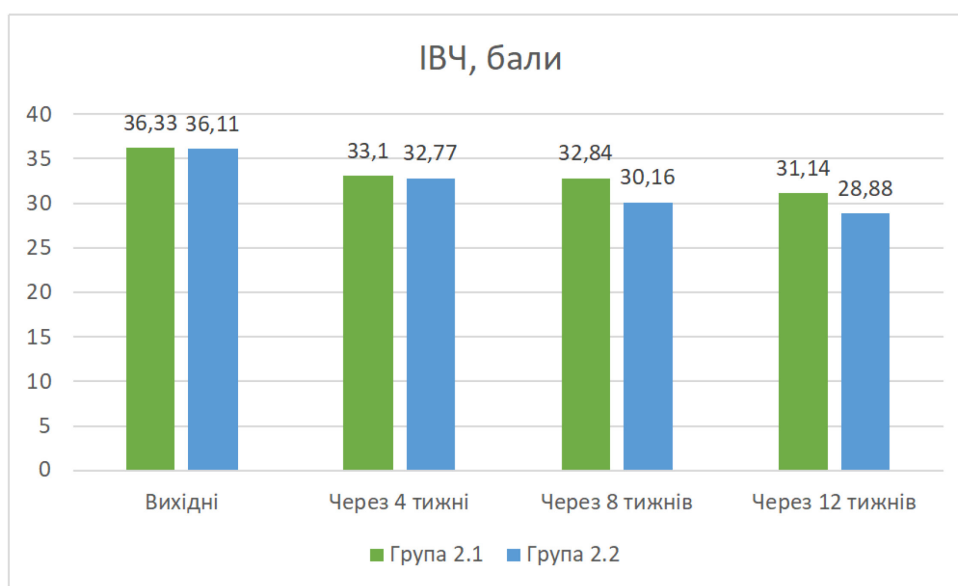


Рис. 4.3. Вісцеральна чутливість згідно ІВЧ у Групі 2.1 та Групі 2.2 упродовж часових інтервалів дослідження.

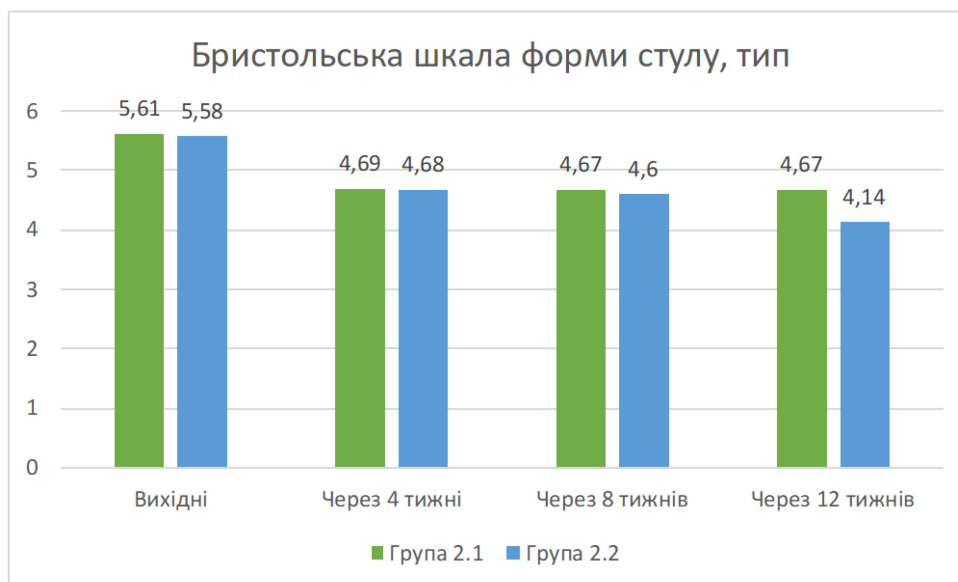


Рис. 4.4. Тип стулу згідно Бристольської шкали у Групі 2.1 та Групі 2.2 упродовж часових інтервалів дослідження.

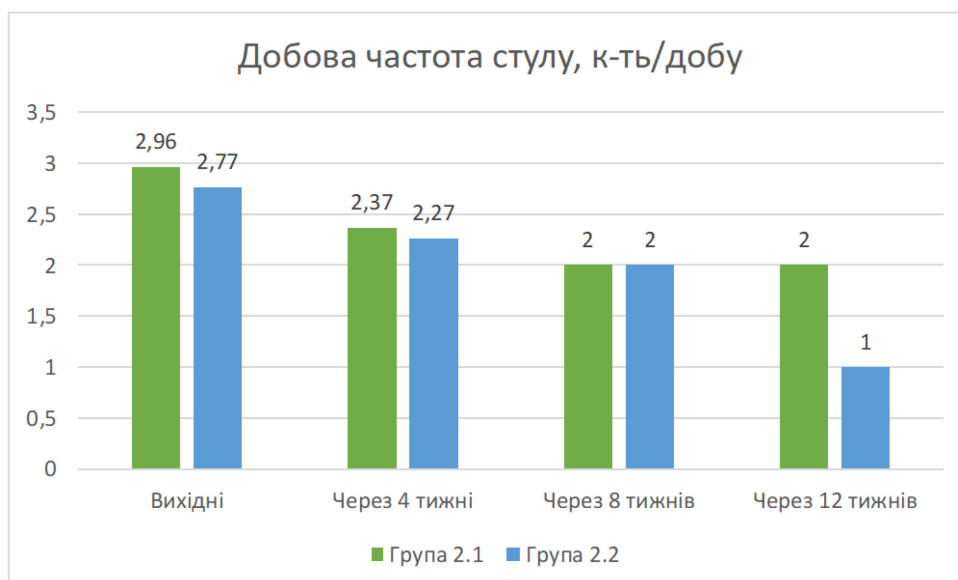


Рис. 4.5. Добова частота стулу у Групі 2.1 та Групі 2.2 упродовж часових інтервалів дослідження.

Однак, не було виявлено відмінностей між Групою 2.1 та Групою 2.2 впродовж 12 тижнів лікування у корекції абдомінального болю, а також значень тяжкості СПК-Д згідно ІТФЗК. Отже, додаткове до холестираміну застосування досліджуваного пробіотичного препарату було більше ефективним у зменшенні таких проявів СПК-Д, як здуття та вісцеральна чутливість згідно ІВЧ, починаючи з 8 тижня лікування, та діареї через 12 тижнів лікування при порівнянні з терапією лише холестираміном.

4.2. Досягнення первинних кінцевих точок ефективності лікування.

У таблиці 4.4 представлені дані по відсотковому зменшенню вираженості абдомінального болю, здуття, ІВЧ та ІТФЗК у пацієнтів з Групи 2.1 та Групи 2.2 через 12 тижнів дослідження порівняно з базовими показниками. Було виявлено, що зазначені показники зменшувались в обох групах дослідження, однак динаміка зменшення достовірно відрізнялась між групами тільки відносно здуття: в Групі 2.2, де призначалась комбінована терапія, воно зменшилось в середньому на 42,9 (20-71,4)% порівняно з 25 (-25-50)% у Групі 2.1, $p = 0,005$. Відносно інших показників достовірної різниці між групами знайдено не було.

Таблиця 4.4.

Відсоткове зменшення вираженості абдомінального болю, здуття за ВАШ, ІВЧ та ІТФЗК через 12 тижнів дослідження порівняно з базовими значеннями у Групі 2.1 а Групі 2.2.

Клінічний прояв	Група 2.1*	Група 2.2*	P**
Δ ВАШ абдомінальний біль, %	16,7 (-16,7-40)	20 (-16,7-40)	0,485
Δ ВАШ здуття, %	25 (-25-50)	42,9 (20-71,4)	0,005
Δ ІВЧ, %	16,7 (-4-30,6)	23,5 (5,4-31,4)	0,116
Δ ІТФЗК, %	5,6 (-5,6-19,2)	6 (-5,6-21,4)	0,493

* Дані представлені у вигляді Median (Q1-Q3); ** застосовувався критерій Вілкоксона.

Ще на етапі планування дисертаційної роботи були визначені кінцеві змінні ефективності лікування, які зазначені у Розділі 2. У таблиці 4.5 наведені дані по частоті досягнення даних кінцевих точок ефективності лікування у Групі 2.1 та Групі 2.2 через 12 тижнів терапії порівнюваними схемами. Було виявлено, що:

1) відносно зменшення здуття ($\geq 30\%$ за ВАШ) частота досягнення кінцевої точки у Групі 2.2 складала 71,9% у порівнянні з 47,1% у Групі 2.1, ВШ = 1,53 (95% ДІ; 1,1-2,13), $p=0,016$;

2) за шкалою СПК-АП частота досягнення клінічного ефекту в Групі 2.2 складала 82,5% порівняно з 62,7% у Групі 2.1, ВШ = 1,31 (95% ДІ; 1,03–1,68), $p = 0,038$.

Частота досягнення клінічного ефекту по іншим показникам (зменшення абдомінального болю, форм стулу за Брістольською шкалою, зменшення добової частоти стулу, ГШОП-СПК) достовірно не відрізнялась між Групою 2.1 та Групою 2.2.

Таблиця 4.5.

Частота досягнення кінцевих точок ефективності лікування у Групі 2.1 та Групі 2.2 через 12 тижнів дослідження.

Кінцева точка	Група 2.1, n (%)	Група 2.2, n (%)	ВШ (95% ДІ), p
≥30% зменшення абдомінального болю за ВАШ	15 (29,4%)	20 (35,1%)	$p=0,675$
≥30% зменшення здуття за ВАШ	24 (47,1%)	41 (71,9%)	1,53 (95% ДІ; 1,1-2,13), $p=0,016$
≥1 зменшення форми стулу за Брістольською шкалою	26 (51%)	39 (68,4)	$p=0,1$
Зменшення добової частоти стулу на ≥1/добу або її значення ≤2/добу	39 (76,5%)	50 (87,7%)	$p=0,203$
СПК-АП	32 (62,7%)	47 (82,5%)	1,31 (95% ДІ; 1,03-1,68), $p=0,038$
ГШОП-СПК	27 (52,9%)	36 (63,2%)	$p=0,381$

Отже, комбінована терапія із досліджуваним комплексним пробіотиком, що призначалась Групі 2.2, була більш ефективною в контексті досягнення

терапевтичних цілей, а саме зменшення здуття, а також адекватного покращення згідно шкали СПК-АП, при лікуванні СПК-Д у порівнянні з монотерапією холестираміном, що призначалась Групі 2.1.

4.3. Ефективність порівнюваних схем лікування у зменшенні проявів супутніх до СПК депресивного та тривожного розладів.

Окрім оцінки клінічних проявів СПК-Д, що описано вище, кожні 4 тижні лікування порівнюваними схемами проводилась оцінка вираженості супутніх до СПК тривожного та депресивного розладів на основі валідованих шкал та опитувальників. Вихідні (базові) значення даних шкал достовірно не відрізнялись між Групою 2.1 та Групою 2.2 (таб. 2.3). У таблиці 4.6. наведені дані по Групі 2.1 між різними часовими інтервалами дослідження.

Таблиця 4.6.

Значення шкал та опитувальників тривожного та депресивного розладів в Групі 2.1 упродовж часових інтервалів дослідження.

Термін	РНQ-9, бали*	ГШТД-Т, бали*	ГШТД-Д, бали*	Шкала Бека, бали*
Вихідні	5 (5-7)	6 (5-9)	4 (2-6)	15 (12-18)
4 тиж.	5 (4-7)	7 (5-9)	4 (3-6)	15 (12-18)
8 тиж.	6 (4-6)	6 (4-7) §	4 (3-6)	15 (12-18)
12 тиж.	5 (4-6) #§	5 (4-7) §	3 (2-4) §&	14 (11-16)
P**	0,003	0,004	0,005	0,23

*Дані представлені у вигляді Median (Q1-Q3) при відмінному від нормального розподілі; ** критерій Фрідмена застосовувались при відмінному від нормального розподілі; # достовірна різниця у порівнянні з вихідними значеннями, $p < 0,05$; § достовірна різниця у порівнянні зі значеннями через 4 тижні, $p < 0,05$; & достовірна різниця у порівнянні зі значеннями через 8 тижнів, $p < 0,05$.

Було виявлено, що значення шкал РНQ-9, ГШТД-Т та ГШТД-Д вірогідно розрізнялися між часовими проміжками дослідження, $p < 0,05$. При

апостеріорному аналізі в Групі 2.1 порівняно з вихідними рівнями вірогідно нижчими були значення тільки шкали PHQ-9 через 12 тижнів дослідження, $p < 0,05$. Додатково, значення шкали PHQ-9 були достовірно нижчими через 12 тижнів порівняно із значеннями через 4 тижні від початку дослідження; значення шкали ГШТД-Т – достовірно нижчими через 8 та 12 тижнів порівняно із значеннями через 4 тижні; значення шкали ГШТД-Д – достовірно нижчими через 12 тижнів порівняно із значеннями через 4 та 8 тижнів, $p < 0,05$ у всіх порівняннях. Значення шкали Бека достовірно не відрізнялись протягом часових інтервалів дослідження у Групі 2.1. Отже, монотерапія холестираміном мала ефект у зменшенні проявів супутніх до СПК тривожного та депресивного розладів (оцінених згідно шкал PHQ-9, ГШТД-Т та ГШТД-Д) через різні проміжки часу після початку лікування.

У таблиці 4.7. наведені дані по аналогічним показникам у Групі 2.2 між різними часовими інтервалами дослідження.

Таблиця 4.7.

Значення шкал та опитувальників тривожного та депресивного розладів в Групі 2.2 упродовж часових інтервалів дослідження.

Термін	PHQ-9, бали*	ГШТД-Т, бали*	ГШТД-Д, бали*	Шкала Бека, бали*
Вихідні	5,83±1,7	7 (5-9)	4 (3-6)	15,56±3,7
4 тиж.	5,46±1,5	7 (4-8)	4 (3-6)	15,67±4,1
8 тиж.	5,6±1,7	5 (4-6) ^{#§}	4 (3-6)	15,81±4
12 тиж.	4,93±1,7 [#]	5 (5-6) ^{#§}	3 (2-3) ^{#§&}	13,11±3,38 ^{#§&}
p**	0,007	<0,001	<0,001	<0,001

*Дані представлені у вигляді Mean±SD або Median (Q1-Q3) при нормальному та відмінному від нормального розподілі, відповідно; **RMANOVA або критерій Фрідмена застосовувались при нормальному та відмінному від нормального розподілі, відповідно; # достовірна різниця у порівнянні з вихідними значеннями, $p < 0,05$; § достовірна різниця у порівнянні зі

значеннями через 4 тижні, $p < 0,05$; & достовірна різниця у порівнянні зі значеннями через 8 тижнів, $p < 0,05$.

Було виявлено, що значення шкал PHQ-9, Бека, ГШТД-Т та ГШТД-Д вірогідно розрізнялися між часовими проміжками дослідження, $p < 0,05$. При апостеріорному аналізі в Групі 2.2 порівняно з вихідними рівнями вірогідно нижчими були значення всіх шкал через 12 тижнів дослідження, $p < 0,05$. Додатково, значення шкали Бека та ГШТД-Д були достовірно нижчими через 12 тижнів порівняно із значеннями через 4 та 8 тижнів від початку дослідження; значення шкали ГШТД-Т були достовірно нижчими через 12 тижнів порівняно із значеннями через 4 тижні, а також через 8 тижнів порівняно із вихідними та значеннями через 4 тижні, $p < 0,05$ у всіх порівняннях. Отже, комбінована терапія із досліджуваним пробіотиком, що призначалась Групі 2.2, була ефективною у зменшенні проявів супутніх до СПК тривожного та депресивного розладів (оцінених згідно шкал PHQ-9, Бека, ГШТД-Т та ГШТД-Д) через різні проміжки часу після початку лікування.

Можна зробити попередній висновок, що обидві досліджувані схеми терапії по окремої мали ефект у корекції тривожного та депресивного розладів, оцінених згідно різних шкал, у пацієнтів із СПК. Тому для визначення ймовірної відмінності у ефективності досліджуваних схем лікування надалі було проведено порівняння значень згаданих шкал між Групою 2.1 та Групою 2.2, що наведено у таблиці 4.8. Було показано, що в Групі 2.2 значення ГШТД-Д в середньому (їхні центральні тенденції) були достовірно нижчими через 12 тижнів дослідження порівняно з Групою 2.1, $p = 0,046$. Однак, не було виявлено відмінностей між Групою 2.1 та Групою 2.2 впродовж 12 тижнів лікування у значеннях шкал PHQ-9, Бека та ГШТД-Т. Отже, комбіноване лікування із пробіотиком, що призначалось Групі 2.2, було більш ефективним в корекції супутнього до СПК депресивного розладу, оціненого згідно ГШТД-Д, через 12 тижнів прийому препаратів порівняно з монотерапією холестираміном, що призначалась Групі 2.1.

Таблиця 4.8.

Порівняння значень шкал та опитувальників тривожного та депресивного розладів між Групою 2.1 та Групою 2.2 упродовж часових інтервалів дослідження

Шкала/опитувальник	Група 2.1 (n=51)*	Група 2.2 (n=57)*	P**
Через 4 тижні			
РНQ-9, бали	5,59±1,63	5,46±1,51	0,661
ГШТД-Т, бали	7 (5-9)	7 (4-8)	0,288
ГШТД-Д, бали	4 (3-6)	4 (3-6)	0,96
Шкала Бека, бали	15,39±4,11	15,67±4,11	0,727
Через 8 тижнів			
РНQ-9, бали	5,45±1,5	5,6±1,68	0,639
ГШТД-Т, бали	5,47±1,99	5,12±1,87	0,354
ГШТД-Д, бали	4,39±2,11	4,53±1,97	0,735
Шкала Бека, бали	15 (12-18)	15 (12-18)	0,349
Через 12 тижнів			
РНQ-9, бали	5 (4-6)	5 (4-6)	0,699
ГШТД-Т, бали	5,33±2,09	5,28±1,6	0,881
ГШТД-Д, бали	3 (2-4)	3 (2-3)	0,046
Шкала Бека, бали	14,27±3,41	13,11±3,38	0,076

* Дані представлені у вигляді Mean±SD або Median (Q1-Q3) при нормальному та відмінному від нормального розподілі, відповідно; ** непарний t-критерій Ст'юдента або критерій Вілкокосна застосовувались при нормальному та відмінному від нормального розподілі, відповідно.

В якості загального підсумку даного розділу роботи можна зазначити, що комплексний пробіотичний препарат на основі комбінації штамів *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* та *Saccharomyces boulardii* має відносно велику активність ГСЖК, яка в рази вище, ніж у дикого та генетично-модифікованого штамів *Lactobacillus plantarum*. Комбінація даного комплексного пробіотику з

холестираміном була більш ефективною в контексті зменшення вираженості здуття та вісцеральної чутливості (згідно ІВЧ), починаючи з 8 тижня лікування, а також діареї через 12 тижнів лікування при порівнянні з терапією лише холестираміном. До того ж, зазначене комбіноване лікування було більш ефективним в досягненні терапевтичних цілей – зменшення здуття та адекватного покращення згідно шкали СПК-АП – при порівнянні з монотерапією холестираміном. Додатково, комбінована терапія із досліджуваним пробіотиком була більш ефективною в корекції супутнього до СПК депресивного розладу (оціненого згідно ГШТД-Д), через 12 тижнів прийому препаратів порівняно з лікуванням лише холестираміном.

Основні результати з даного розділу дисертаційної роботи були висвітлені у відповідних опублікованих статтях [162].

РОЗДІЛ 5

ЕФЕКТИВНІСТЬ КОМПЛЕКСНОГО ПРОБІОТИЧНОГО ПРЕПАРАТУ У МОДИФІКАЦІЇ ПОКАЗНИКІВ ОБМІНУ ЖК ТА АКТИВНОСТІ ГСЖК У ПАЦІЄНТІВ ІЗ СПК

Як вже зазначалось в попередніх розділах дисертаційної роботи, одним з підходів до лікування СПК-Д та ймовірної МЖК є модифікація кишкового мікробіому за рахунок використання ГСЖК-синтезуючих штамів пробіотичних бактерій. Теоретично обґрунтована доцільність їх застосування полягає в здатності збільшувати гідроліз первинних ЖК, які в надмірній кількості присутні у кишках пацієнтів із СПК-Д, за рахунок ферменту ГСЖК. Це відповідно має проявлятися не тільки у клінічному ефекті та зменшенні симптомів (що було висвітлено у Розділі 4 даної роботи), а також у вигляді кількісних та якісних змін індикаторів метаболізму ЖК, що могло б дозволити більш точно зрозуміти можливі механізми ефективності такого терапевтичного підходу. Однак, на жаль, літературних даних відносно впливу пробіотичних бактерій на показники обміну ЖК у пацієнтів із СПК-Д та ймовірною МЖК вкрай мало, як зазначено у Розділі 1. Тому наступною ціллю другого етапу дисертаційного дослідження було оцінити та порівняти вплив комбінованого лікування, що включало комплексний пробіотичний препарат на основі ГСЖК-синтезуючих штамів бактерій та холестирамін, та монотерапії холестираміном на показники обміну ЖК, включаючи активність кишкової бактеріальної ГСЖК, у пацієнтів із СПК-Д.

Аналогічним чином як і в попередньому розділі роботи, де описана перша частина другого етапу дисертаційного дослідження, для досягнення вищезазначеної цілі даного розділу роботи учасників з Групи 2, яку складали пацієнти із СПК-Д, було розділено випадковим чином на дві підгрупи: Група 2.1 (n=51), пацієнти якої отримували монотерапію холестираміном, та Група 2.2 (n=57), учасники якої отримували комбіноване лікування з холестираміну та

комплексного пробіотичного препарату на основі штамів *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*), *Saccharomyces boulardii*. Їхні вихідні (базові) показники, що представлені в таблиці 2.3., були статистично однорідними (достовірно не відрізнялись) за демографічними та всіма клінічними показниками. Вихідні значення індикаторів обміну ЖК, включаючи активність кишкової бактеріальної ГСЖК, також достовірно не відрізнялись між Групою 2.1 та Групою 2.2 (таблиця 5.1).

Таблиця 5.1.

Вихідні значення сЖК, фЖК та ВА ГСЖК учасників Групи 2.1 та Групи 2.2.

Показник	Група 2.1 (n=51)*	Група 2.2 (n=57)*	P**
Загальні сЖК, нмоль/л	1,99±0,94	1,86±1,08	0,498
Первинні сЖК, нмоль/л	0,89 (0,71-1,56)	0,88 (0,61-1,4)	0,496
Первинні сЖК, %	55,6±10,9	58,5±13,3	0,214
Вторинні сЖК, нмоль/л	0,73 (0,51-1,24)	0,66 (0,42-0,96)	0,132
Вторинні сЖК, %	44,4±10,9	41,5±13,3	0,214
Загальні фЖК, нмоль/г	5,78 (5,41-6,24)	5,49 (5,1-6,52)	0,406
Первинні фЖК, нмоль/г	1,27 (1,1-1,45)	1,28 (1,1-1,58)	0,569
Первинні фЖК, %	22,3±4,8	23,1±4,2	0,392
Вторинні фЖК, нмоль/г	4,56±0,71	4,48±0,91	0,639
Вторинні фЖК, %	77,7±4,8	77±4,2	0,392
ВА ГСЖК, Од/мл	0,098 (0,05-0,13)	0,098 (0,048-0,13)	0,691

* Дані представлені у вигляді Mean±SD або Median (Q1-Q3) при нормальному та відмінному від нормального розподілі, відповідно; ** непарний t-критерій Ст'юдента або критерій Вілкокосна застосовувались при нормальному та відмінному від нормального розподілі, відповідно.

Отже, Група 2.1 та Група 2.2 були однорідними за всіма параметрами, включаючи показники обміну ЖК, тому були порівнюваними для оцінки ймовірної різниці у впливі використовуваних схем терапії на індикатори метаболізму ЖК по завершенню дослідження.

5.1. Модифікація показників обміну ЖК через 12 тижнів лікування досліджуваними схемами терапії.

Через 12 тижнів від початку дослідження, по завершенню прийому порівнюваних схем лікування, у всіх учасників з Групи 2.1 та Групи 2.2 проводився забір зразків крові та калу для лабораторного визначення сЖК, фЖК та відносної активності кишкової бактеріальної ГСЖК. У таблиці 5.2. наведені результати визначення зазначених показників та їх порівняння з вихідними (до початку лікування) значеннями в Групі 2.1.

Таблиця 5.2.

Значення сЖК, фЖК та ВА ГСЖК учасників Групи 2.1 до (вихідні) та через 12 тижнів лікування.

Показник	Вихідні*	12 тижнів*	P**
Загальні сЖК, нмоль/л	1,99±0,94	0,95±0,32	<0,05
Первинні сЖК, нмоль/л	0,89 (0,71-1,56)	0,61 (0,34-0,71)	<0,05
Первинні сЖК, %	53,85 (46,18-61,11)	60,36 (44,99-71,93)	0,29
Вторинні сЖК, нмоль/л	0,73 (0,51-1,24)	0,34 (0,2-0,52)	<0,05
Вторинні сЖК, %	46,15 (38,89-53,82)	39,64 (28,07-55,01)	0,29
Загальні фЖК, нмоль/г	5,78 (5,41-6,24)	13,28 (1114,82)	<0,05
Первинні фЖК, нмоль/г	1,27 (1,1-1,45)	1,02 (0,8-1,42)	<0,05
Первинні фЖК, %	22,1 (18-26)	7,68 (5,83-10,95)	<0,05
Вторинні фЖК, нмоль/г	4,56±0,71	12±2,17	<0,05
Вторинні фЖК, %	77,9 (74-82)	92,32 (89,05-94,17)	<0,05
ВА ГСЖК, Од/мл	0,098 (0,05-0,13)	0,1 (0,05-0,13)	0,708

* Дані представлені у вигляді Mean±SD або Median (Q1-Q3) при нормальному та відмінному від нормального розподілі, відповідно; ** парний t-

критерій Ст'юдента або тест зіставлених пар Вілкоксона застосовувались при нормальному та відмінному від нормального розподілі, відповідно.

Було виявлено, що рівні загальних сЖК, абсолютні рівні первинних та вторинних сЖК, абсолютні та відносні рівні первинних фЖК були достовірно нижчими, а рівні загальних фЖК, абсолютні та відносні рівні вторинних фЖК – вищими через 12 тижнів лікування порівняно з вихідними значеннями у Групі 2.1, $p < 0,05$ у всіх порівняннях. Відносні значення первинних та вторинних сЖК, а також активність кишкової бактеріальної ГСЖК достовірно не змінились через 12 тижнів дослідження. Отже, монотерапія холестираміном, що призначалась Групі 2.1, була ефективною в модифікації зазначених вище індикаторів метаболізму ЖК.

У таблиці 5.3. наведені результати визначення показників обміну ЖК та їх порівняння з вихідними (до початку лікування) значеннями в Групі 2.2.

Таблиця 5.3.

**Значення сЖК, фЖК та ВА ГСЖК учасників Групи 2.2 до (вихідні)
та через 12 тижнів лікування.**

Показник	Вихідні*	12 тижнів*	P**
Загальні сЖК, нмоль/л	1,86±1,08	0,76±0,26	<0,05
Первинні сЖК, нмоль/л	0,88 (0,61-1,4)	0,38 (0,27-0,54)	<0,05
Первинні сЖК, %	56,98 (48,7-70,22)	53,65 (40,55-66,61)	<0,05
Вторинні сЖК, нмоль/л	0,66 (0,42-0,96)	0,35 (0,24-0,42)	<0,05
Вторинні сЖК, %	43,02 (29,78-51,3)	46,35 (33,39-59,45)	<0,05
Загальні фЖК, нмоль/г	5,49 (5,1-6,52)	14,7 (12-19)	<0,05
Первинні фЖК, нмоль/г	1,28 (1,1-1,58)	0,73 (0,51-1,07)	<0,05
Первинні фЖК, %	22,8 (19,9-26)	5 (3,6-7,2)	<0,05
Вторинні фЖК, нмоль/г	4,31 (3,91-5)	14,3 (11,3-17,8)	<0,05
Вторинні фЖК, %	77,2 (74-80,1)	95 (92,8-96,4)	<0,05
ВА ГСЖК, Од/мл	0,098 (0,048-0,13)	0,18 (0,13-0,22)	<0,05

* Дані представлені у вигляді Mean±SD або Median (Q1-Q3) при нормальному та відмінному від нормального розподілі, відповідно; ** парний t-

критерій Ст'юдента або тест зіставлених пар Вілкоксона застосовувались при нормальному та відмінному від нормального розподілі, відповідно.

Було виявлено, що рівні загальних сЖК, абсолютні та відносні рівні первинних та абсолютні значення вторинних сЖК, абсолютні та відносні рівні первинних фЖК були достовірно нижчими, а відносні значення вторинних сЖК, рівні загальних фЖК, абсолютні та відносні рівні вторинних фЖК, активність кишкової бактеріальної ГСЖК – вищими через 12 тижнів лікування порівняно з вихідними значеннями у Групі 2.2, $p < 0,05$ у всіх порівняннях. Отже, комбіноване лікування із досліджуваним пробіотиком, що призначалось Групі 2.2, було ефективним в модифікації всіх оцінюваних в дослідженні параметрів метаболізму ЖК.

Попередньо підсумовуючи описані вище результати, можна зазначити, що обидві схеми терапії, які призначались дослідним Групі 2.1 та Групі 2.2, модифікували обмін ЖК через 12 тижнів лікування у пацієнтів з СПК-Д з певними відмінностями. Тому надалі для оцінки можливої різниці у ефекті досліджуваних схем лікування на модифікацію параметрів обміну ЖК проводилось порівняння показників між Групою 2.1 та Групою 2.2 (таблиця 5.4.).

Було виявлено, що всі індикатори обміну ЖК, окрім абсолютних рівнів вторинних сЖК, достовірно відрізнялись між Групою 2.1 та Групою 2.2 через 12 тижнів прийому медикаментів, $p < 0,05$ у всіх порівняннях (рис. 5.1, 5.2, 5.3, 5.4). Отже, додаткове до холестираміну застосування комплексного пробіотичного препарату, що призначалось Групі 2.2, було більш ефективним в модифікації кількісного складу та відносного розподілу сЖК та фЖК, а також підвищенні активності кишкової бактеріальної ГСЖК (рис. 5.5), у порівнянні з лише терапією холестираміном. Ймовірно, такі зміни показників обміну ЖК можуть пояснювати механізм дії та відповідно клінічну ефективність використання саме ГСЖК-синтезуючих пробіотичних бактерій, але це потребує додаткового підтвердження.

Таблиця 5.4.

Значення сЖК, фЖК та ВА ГСЖК учасників Групи 2.1 та Групи 2.2 через 12 тижнів дослідження.

Показник	Група 2.1 (n=51)*	Група 2.2 (n=57)*	P**
Загальні сЖК, нмоль/л	0,95±0,32	0,76±0,26	0,001
Первинні сЖК, нмоль/л	0,57±0,25	0,41±0,2	<0,001
Первинні сЖК, %	60,4 (45-72)	53,6 (40,5-66,6)	0,045
Вторинні сЖК, нмоль/л	0,34 (0,2-0,52)	0,35 (0,24-0,42)	0,603
Вторинні сЖК, %	39,6 (28,1-55)	46,4 (33,4-59,5)	0,045
Загальні фЖК, нмоль/г	13,3 (11,2-14,82)	14,7 (12-19)	0,005
Первинні фЖК, нмоль/г	1,02 (0,8-1,42)	0,73 (0,51-1,07)	<0,001
Первинні фЖК, %	7,7 (5,8-10,9)	5 (3,6-7,2)	<0,001
Вторинні фЖК, нмоль/г	12,4 (10,3-13,8)	14,3 (11,3-17,8)	0,001
Вторинні фЖК, %	92,3 (89,1-94,2)	95 (92,8-96,4)	<0,001
ВА ГСЖК, Од/мл	0,1 (0,05-0,13)	0,18 (0,13-0,22)	<0,001

* Дані представлені у вигляді Mean±SD або Median (Q1-Q3) при нормальному та відмінному від нормального розподілі, відповідно; ** непарний t-критерій Ст'юдента або критерій Вілкокосна застосовувались при нормальному та відмінному від нормального розподілі, відповідно.

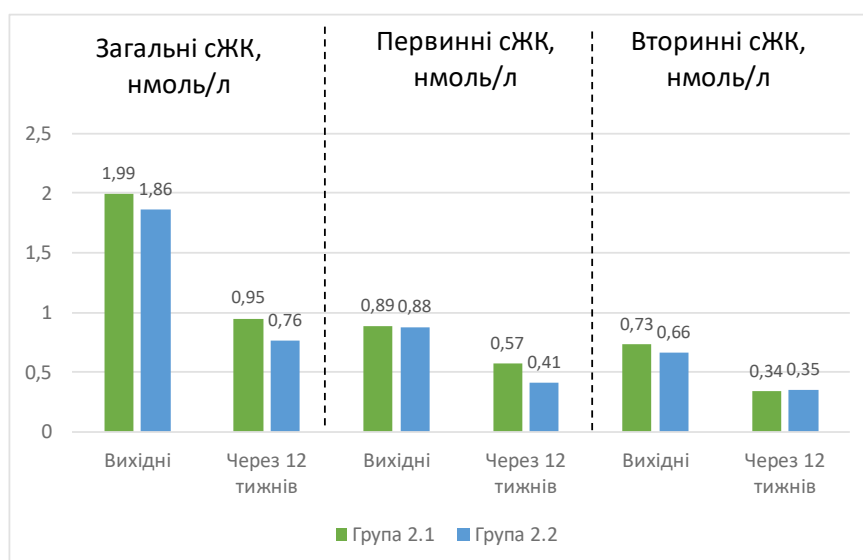


Рис. 5.1. Абсолютні рівні загальних, первинних та вторинних сЖК у Групі 2.1 та Групі 2.2 впродовж часових інтервалів дослідження.

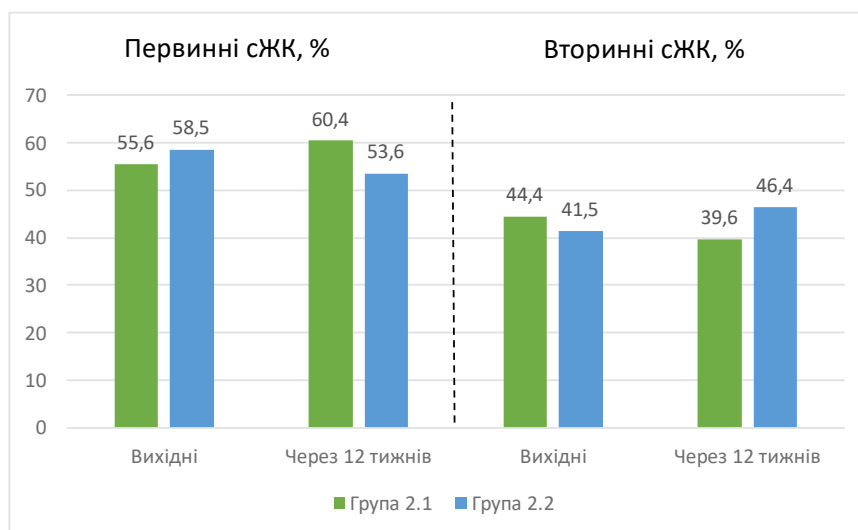


Рис. 5.2. Відносні (у %) рівні первинних та вторинних сЖК у Групі 2.1 та Групі 2.2 впродовж часових інтервалів дослідження.

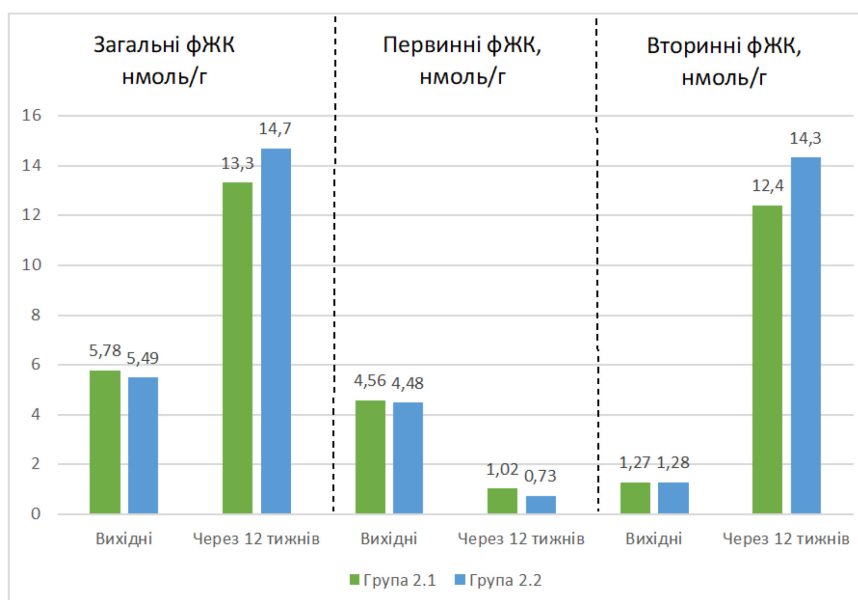


Рис. 5.3. Абсолютні рівні загальних, первинних та вторинних фЖК у Групі 2.1 та Групі 2.2 впродовж часових інтервалів дослідження.

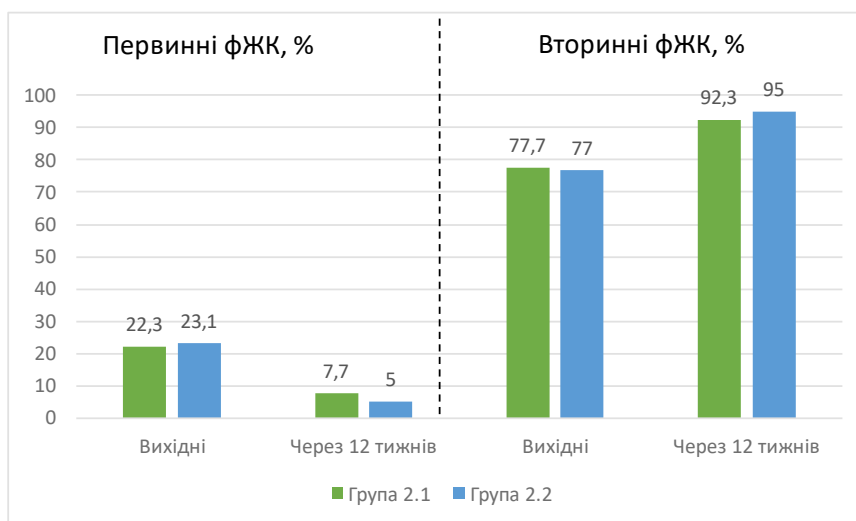


Рис. 5.4. Відносні (у %) рівні первинних та вторинних фЖК у Групі 2.1 та Групі 2.2 впродовж часових інтервалів дослідження.

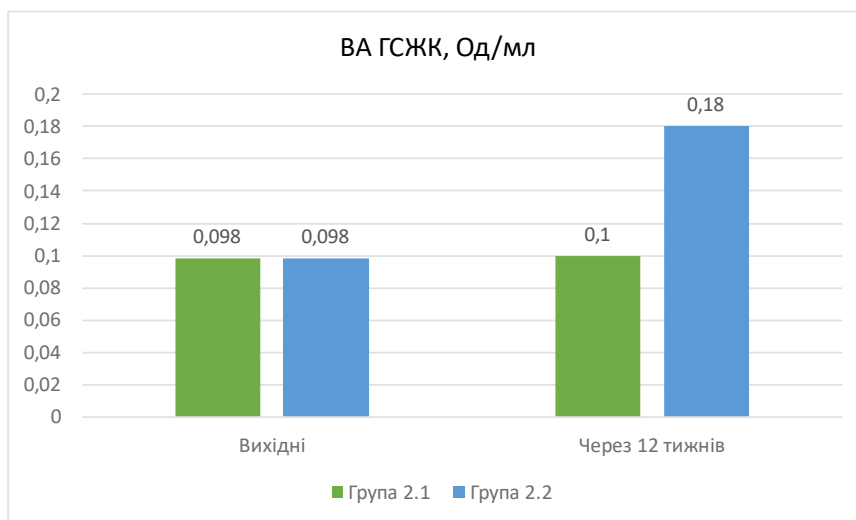


Рис. 5.5. Значення ВА ГСЖК у Групі 2.1 та Групі 2.2 впродовж часових інтервалів дослідження.

Окрім порівняння значень активності кишкової бактеріальної ГСЖК між Групою 2.1 та Групою 2.2 через 12 тижнів лікування, також додатково було проведено множинні порівняння із контрольної групою, що представлено у таблиці 5.5.

Таблиця 5.5.

Значення ВА ГСЖК учасників контрольної, Групи 2.1 та Групи 2.2 до (вихідні) та через 12 тижнів лікування.

ВА ГСЖК, Од/мл	Контрольна група (n=28)*	Група 2.1 (n=51)*	Група 2.2 (n=57) *	P**
Вихідні	0,2 (0,14-0,32)	0,1 (0,05-0,13)	0,1 (0,05-0,13)	<0,001
12 тижнів	0,2 (0,14-0,32)	0,1 (0,05-0,13)	0,18 (0,13-0,22)	<0,001

* Дані представлені у вигляді Median (Q1-Q3) при нормальному та відмінному від нормального розподілі, відповідно; ** використовувався тест Крускала-Уолліса та критерій Данна для апостеріорного аналізу.

Вихідні (до початку лікування) значення ВА ГСЖК достовірно відрізнялись між контрольною, Групою 2.1 та Групою 2.2, $p < 0,001$ (рис. 5.6). При наступному попарному порівнянні (апостеріорний аналіз) було виявлено, що активність ГСЖК у учасників контрольної групи була достовірно вищою у порівняння з Групою 2.1 ($p < 0,01$) та Групою 2.2 ($p < 0,01$). В той же час ВА ГСЖК статистично не відрізнялась між Групою 2.1 та Групою 2.2, що було описано ще раніше у Розділі 3.

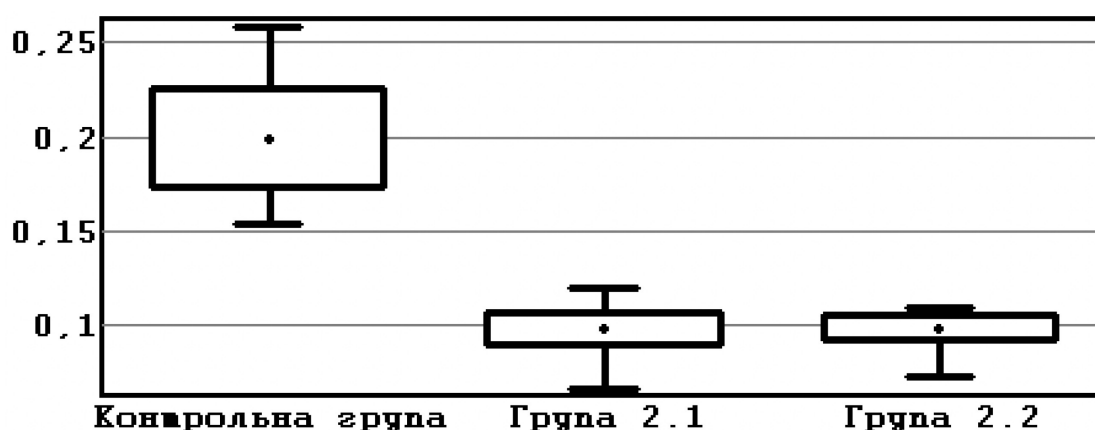


Рис. 5.6. Вихідні рівні (середні значення із стандартними відхиленнями та довірчими інтервалами) ВА ГСЖК контрольної, Групи 2.1 та Групи 2.2.

Через 12 тижнів дослідження було виявлено, що значення ВА ГСЖК також достовірно відрізнялись між контрольною, Групою 2.1 та Групою 2.2, $p < 0,001$

(рис. 5.7). Проте при наступному попарному порівнянні (апостеріорний аналіз) було виявлено, що активність ГСЖК у учасників контрольної групи була достовірно вищою у порівнянні тільки з Групою 2.1, учасникам якої призначалась монотерапія холестираміном, $p < 0,01$. В цей же час не було виявлено достовірних відмінностей у значеннях ВА ГСЖК між контрольною та Групою 2.2, де призначалась комбінована терапія із досліджуваним пробіотиком. Тоді як ВА ГСЖК у пацієнтів з Групи 2.2 вже була достовірно вищою у порівнянні з Групою 2.1, $p < 0,01$.

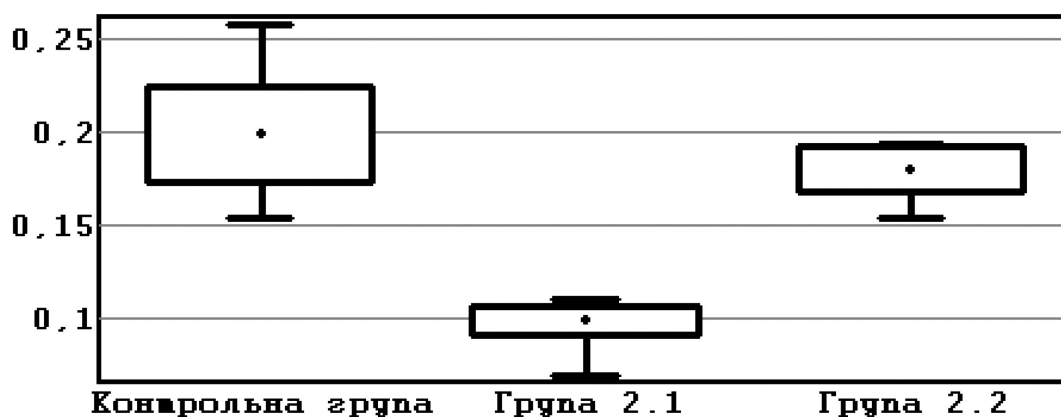


Рис. 5.7. Рівні (середні значення із стандартними відхиленнями та довірчими інтервалами) ВА ГСЖК контрольної, Групи 2.1 та Групи 2.2 через 12 тижнів дослідження.

Отже, комбіноване лікування із холестираміном та комплексним пробіотичним препаратом, що призначалось учасникам з Групи 2.2, призводило до достовірного збільшення активності кишкової бактеріальної ГСЖК порівняно з вихідними значеннями, а також порівняно з Групою 2.1, де призначався лише холестирамін. До того ж, 12-тижневе призначення комбінованого лікування Групі 2.2 збільшувало активність ГСЖК до рівнів, які достовірно не відрізнялись від таких у контрольної групи, яку складали практично здорові добровольці. Тоді як 12-тижневий прийом лише холестираміну в Групі 2.1 не змінював достовірно активність ГСЖК порівняно зі значеннями до лікування, яка залишалась зниженою у порівнянні з контрольною групою.

5.2. Аналіз взаємозв'язку ризику недосягнення кінцевих цілей лікування та ВА ГСЖК на 12 тижні дослідження.

Для оцінки можливого зв'язку між описаними в Розділі 4 клінічними ефектами порівнюваних схем терапії та ВА кишкової бактеріальної ГСЖК, визначеної через 12 тижнів лікування (описано вище в даному розділі роботи), застосовувався статистичний метод побудови моделей логістичної регресії. У таблиці 5.6 представлені показники однофакторної моделі логістичної регресії зв'язку ризику недосягнення кінцевої мети лікування відносно зменшення форми стулу за Брістольською шкалою (≥ 1) та ВА ГСЖК на 12 тижні дослідження.

Таблиця 5.6.

Показники однофакторної моделі логістичної регресії зв'язку ризику недосягнення кінцевої мети лікування відносно зменшення форми стулу за Брістольською шкалою (≥ 1) та ВА ГСЖК.

Фактор	Коефіцієнт моделі, $b \pm m^*$	Рівень значимості, p	ВШ (95% ВІ)
ВА ГСЖК	$-8,8 \pm 3$	0,003	$1,44 \cdot 10^{-4}$ ($3,9 \cdot 10^{-7} - 0,05$)

* b – коефіцієнт, m – стандартна похибка.

Було виявлено, що зі збільшенням ВА ГСЖК ризик недосягнення цілі лікування відносно зменшення форми стулу за Брістольською шкалою знижується, ВШ = $1,44 \cdot 10^{-4}$ (95% ВІ; $3,9 \cdot 10^{-7} - 0,05$). Крива операційних характеристик даної моделі наведена у Рис. 5.8., площа під якою AUC=0,65 (95% ВІ; 0,54-0,75), що вказує на задовільну якість побудованої моделі. Отже, збільшення активності кишкової бактеріальної ГСЖК було асоційовано з вищими шансами досягнути цілі лікування відносно зміни форми стулу в бік більш оформленого згідно Брістольської шкали.

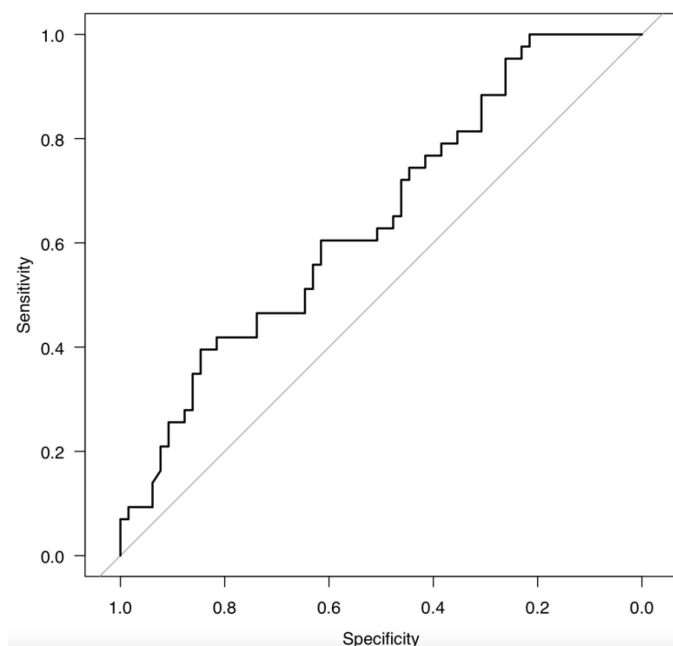


Рис. 5.8. ROC-крива однофакторної моделі логістичної регресії зв'язку ризику недосягнення цілі лікування відносно зменшення форми стулу за Брістольською шкалою та ВА ГСЖК.

У таблиці 5.7 представлені показники однофакторної моделі логістичної регресії зв'язку ризику недосягнення кінцевої мети лікування відносно зменшення здуття ($\geq 30\%$ за ВАШ) та ВА ГСЖК на 12 тижні дослідження.

Таблиця 5.7.

Показники однофакторної моделі логістичної регресії зв'язку ризику недосягнення кінцевої мети лікування відносно зменшення здуття ($\geq 30\%$ за ВАШ) та ВА ГСЖК.

Фактор	Коефіцієнт моделі, $b \pm m^*$	Рівень значимості, p	ВІ (95% ВІ)
ВА ГСЖК	$-6 \pm 2,8$	0,029	0,0024 ($1,1 \cdot 10^{-5} - 0,54$)

* b – коефіцієнт, m – стандартна похибка.

Було виявлено, що зі збільшенням ВА ГСЖК ризик недосягнення цілі лікування відносно зменшення здуття ($\geq 30\%$ за ВАШ) знижується, ВІ = 0,0024 (95% ВІ; $1,1 \cdot 10^{-5} - 0,54$). Крива операційних характеристик даної моделі наведена у Рис. 5.9., площа під якою $AUC=0,62$ (95% ВІ; 0,52-0,73), що вказує на задовільну якість побудованої моделі. Отже, збільшення активності кишкової

бактеріальної ГСЖК було асоційовано з вищими шансами досягнути цілі лікування відносно зменшення здуття на $\geq 30\%$ за ВАШ.

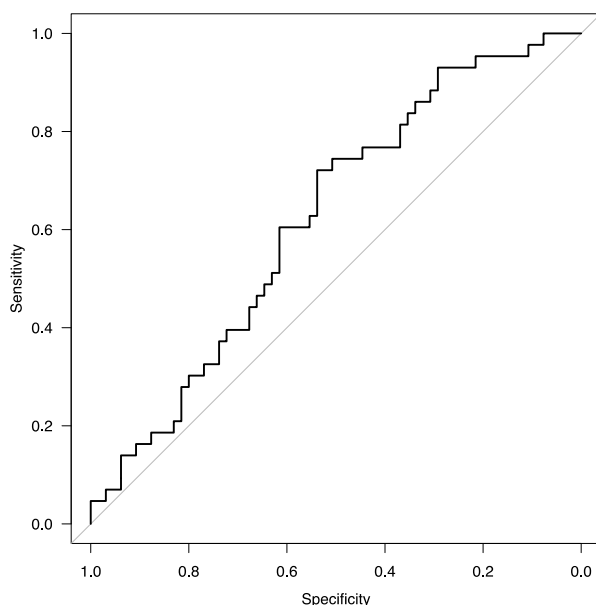


Рис. 5.9. ROC-крива однофакторної моделі логістичної регресії зв'язку ризику недосягнення цілі лікування відносно зменшення здуття та ВА ГСЖК.

Статистично достовірного зв'язку між ВА ГСЖК та ризиком недосягнення інших кінцевих цілей лікування виявлено не було. Також не було виявлено взаємозв'язку між значеннями інших індикаторів метаболізму ЖК на 12 тижні прийому препаратів та ризиком недосягнення всіх кінцевих цілей лікування.

В якості загального підсумку даного розділу дисертаційної роботи можна зазначити, що обидві порівнювані схеми лікування, які призначались Групі 2.1 та Групі 2.2, по окремоті мали ефект в модифікації ряду параметрів метаболізму ЖК через 12 тижнів прийому медикаментів порівняно з вихідними значеннями. ВА ГСЖК достовірно підвищилась тільки в Групі 2.2 порівняно з вихідними рівнями. Комбіноване лікування, яке призначалось Групі 2.2, було достовірно більш ефективним в модифікації всіх показників обміну ЖК (крім абсолютних рівнів вторинних сЖК), а також підвищенні активності кишкової бактеріальної ГСЖК, у порівнянні з монотерапією холестираміном, яка призначалась Групі 2.1. Побудовані моделі логістичної регресії виявили, що зі збільшенням ВА ГСЖК у кишках пацієнтів ризику недосягнення цілі лікування відносно зменшення форми стулу за Брістольською шкалою та зменшення здуття знижуються.

Основні результати з даного розділу дисертаційної роботи були висвітлені у відповідних опублікованих статтях [163].

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ РОБОТИ

Останні десятиліття в розвитку гастроентерології характеризуються зміною уявлень про ФЗШКТ та їх роль в глобальній захворюваності та навантаженні на медичну систему. І якщо ще 20 років тому тільки декілька відсотків лікарів вважали ФЗШКТ серйозною проблемою, а деякі навіть заперечували їх існування та «реальність» [164, 165], то на сьогоднішній день дана група захворювань займає одне з головних місць в щоденній роботі лікаря первинної ланки: 4 з 10 пацієнтів гастроентеролога мають ФЗШКТ [1-3]. Серед них важливе місце займають саме захворювання кишки, включаючи СПК, який, за даними досліджень, в середньому вражає кожну десятку людину в світі [166]. На жаль, точної статистики відносно частоти СПК серед української популяції немає. Проте напад рф на Україну та відповідно зростання розповсюдженості тривожно-депресивних розладів у українців, ймовірно, виступають одними з чинників можливого зростання частоти ФЗШКТ та СПК зокрема у наших громадян.

Не дивлячись на «функціональність» та відсутність зв'язку з ризиком розвитку «органічних» уражень, вплив СПК на окремого пацієнта, його родину, суспільство та медичну систему є доволі суттєвим, створюючи рушій для подальших досліджень у цій галузі [166]. Тягар СПК для окремого пацієнта веде до зниженої якості життя [167], особливо при підтипі з діареєю, зниженої працездатності та збільшених витрат через непрацездатність [166]. Чверть пацієнтів із СПК навіть готова пожертвувати 25% очікуваної тривалості життя, що залишилася, щоб позбутися симптомів [166, 168]. Більш того, СПК несе значний економічний тягар для медичної системи, пов'язаний з діагностикою та лікуванням, досягаючи в деяких країнах 3-4 мільярдів євро на рік [166]. Світові дослідження показують тренди до збільшення захворюваності на СПК, що актуалізує необхідність подальших досліджень механізмів даного захворювання та шляхів оптимізації медичної допомоги таким пацієнтам [166].

На сьогодні вже не викликає сумнівів той факт, що СПК, як і інші ФЗШКТ, не є буквально «функціональним» захворюванням, а спричинений розладом взаємодії «кишка – головний мозок» [8, 9], де різні чинники, включаючи морфологічні, біохімічні та психосоціальні, можуть відігравати певну роль. Відповідно, і ведення таких пацієнтів має бути комплексним та багатовекторним. Одним з таких чинників та векторів є ЖК, мальабсорбція яких наявна практично у половини пацієнтів із СПК-Д [16-20]. Тим не менше, проблема МЖК у пацієнтів із СПК-Д залишається недооціненою, недодіагностованою та відповідно недовирішеною, в тому числі через брак обізнаності серед лікарів, а також часто через відсутність діагностичних та терапевтичних можливостей [31, 32]. В Україні на сьогоднішній день є можливість визначення тільки рівня фекальних ЖК в якості діагностики МЖК, тоді як інші більш чутливі та специфічні методи (SeHCAT, рівні сироваткових С4 тощо) є, на жаль, недоступними. Єдиною групою препаратів, що рекомендована клінічними настановами по лікуванню МЖК, є секвестранти ЖК [32-34], серед яких в Україні наявний лише один представник – холестирамін. Проте і його застосування в нашій країні для лікування МЖК є «off-label» через відсутність прямих показань в інструкції до препарату на додачу до ряду суттєвих недоліків, які обмежують його практичне застосування у пацієнтів із СПК-Д та ймовірною МЖК [35, 36]. Тому дослідження нових підходів до корекції МЖК у таких пацієнтів залишається актуальним. Перспективним є вплив на кишковий мікробіом, який має важливе значення в метаболізмі ЖК та можливих його порушеннях, як при СПК-Д [22, 39, 40, 157].

В нашій дисертаційній роботі було прийнято рішення обрати об'єктом дослідження активність кишкової бактеріальної ГСЖК – ключового ферменту у каскаді декон'югації первинних ЖК у вторинні [28, 80, 81]. Даний фермент синтезується представниками різних типів кишкових бактерій, як описано у першому розділі даної роботи. Теоретично, недостатність ГСЖК в кишках пацієнтів може призводити до зменшеного розщеплення первинних ЖК і як наслідок їх надмірної кількості, що є одним з діагностичних критеріїв МЖК та

ДЖК [25,26]. В ряді робіт було показано, що у пацієнтів із СПК-Д та МЖК наявне зменшення кількості генів ГСЖК кишкового мікробіому [30, 93]. Проте в нашому дослідженні, згідно поставлених задач, визначалась не кількість генів, а ферментативна активність ГСЖК у кишках пацієнтів, що має більше значення, оскільки кількість генів не тотожна безпосередній активності ферменту. В результатів проведення першого етапу дослідження (за дизайном «випадок-контроль») нами було виявлено, що активність ГСЖК у кишках пацієнтів з діарейним підтипом СПК була достовірно нижчою порівняно з практично здоровими добровольцями, а також порівняно з пацієнтами із закрепним підтипом СПК. При цьому активність даного ферменту не відрізнялась між двома останніми. Серед міжнародної медичної літератури нами було знайдено лише 2 дослідження, де безпосередньо визначалась активність ГСЖК. В обох автори, аналогічно з нашою роботою, виявили зниження активності кишкової бактеріальної ГСЖК у пацієнтів із СПК-Д [27, 30]. Проте в цей же час в одній з робіт [27] було показано зниження активності даного ферменту також у кишках пацієнтів із СПК-З, на відміну від отриманих нами результатів. Можливо, це пов'язано з недостатньою вибіркою пацієнтів або відмінністю у лабораторних методах визначення активності ГСЖК. На жаль, більше схожих досліджень серед літератури знайдено не було.

Під час проведення першого етапу дослідження, окрім визначення активності кишкової бактеріальної ГСЖК, у пацієнтів із СПК також оцінювались рівні сироваткових та фекальних ЖК. Нами було виявлено, що учасники із СПК-Д мали достовірно вищі абсолютні рівні первинних сЖК та нижчі відносні (у %) рівні вторинних сЖК порівняно зі здоровими учасниками та пацієнтами із СПК-З. Але в той же час достовірних відмінностей в абсолютних рівнях загальних сЖК між групами знайдено не було. Ці результати нашого дослідження є співставними з результатами попередніх досліджень, у яких автори також не виявили різниці в рівнях загальних сЖК між контрольною групою, пацієнтами із СПК-Д та СПК-З [27], а також виявили підвищення рівня первинних сЖК у пацієнтів із СПК-Д [27, 30] та зниження відносних (у %) значень вторинних сЖК

порівняно зі здоровими добровольцями [27]. Проте в цей же час в одному дослідженні [27] не було виявлено відмінностей у рівнях первинних сЖК між пацієнтами із СПК-Д та СПК-З (що відрізняється від результатів нашого дослідження), але також не було виявлено відмінностей в рівнях вторинних сЖК між пацієнтами із СПК-З та контрольною групою, як і в нашому дослідженні. На жаль, існуючі літературні дані щодо особливостей сироваткових показників обміну ЖК у пацієнтів із СПК є обмеженими, і більшість закордонних авторів використовували інші сироваткові маркери зміненого метаболізму ЖК у пацієнтів із СПК, такі як сироватковий FGF19 і С4 [24, 169], які, на жаль, є недоступними в Україні. Що стосується рівнів фекальних ЖК, ми виявили підвищення загальних фЖК у пацієнтів із СПК-Д порівняно зі здоровими добровольцями та пацієнтами із СПК-З. У ряді попередніх досліджень авторами не було виявлено відмінностей між контрольною групою та пацієнтами із різними підтипами СПК у рівнях загальних фЖК [27, 22, 146], тоді як в інших їх рівень у пацієнтів із СПК-Д був підвищений порівняно зі здоровими особами [23, 30, 143, 169] та пацієнтами із СПК-З [23, 24], як і в нашому дослідженні. У нашому дослідженні ми не виявили різниці в екскреції загальних фЖК між контрольною групою та учасниками із СПК-З, що узгоджується з дослідженнями інших авторів [24, 27]. Але в одному дослідженні було виявлено, що орієнтовно 15% пацієнтів із СПК-З мали зниження загальних фЖК [29]. Що стосується розподілу первинних та вторинних фЖК, наше дослідження виявило збільшення абсолютних та відносних (у %) рівнів первинних фЖК та зниження відносних рівнів вторинних фЖК у пацієнтів із СПК-Д порівняно з контрольною групою та пацієнтами із СПК-З. Ці дані співставні з більшістю попередніх досліджень, у яких також було виявлено збільшення первинних фЖК та зниження вторинних фЖК у пацієнтів із СПК-Д порівняно зі здоровими людьми [22, 23, 27, 30, 143, 146], а також порівняно з пацієнтами із СПК-З [27]. Також ми не виявили відмінностей у розподілі фЖК між здоровими добровольцями та пацієнтами із СПК-З, як в одному попередньому дослідженні [27], але в той же час в інших дослідженнях автори виявляли зменшення фекальної екскреції первинної ХДХК

[23] і збільшення вторинної ЛЖК в учасників із СПК-3 порівняно зі здоровими особами [23, 144]. Одним з можливих пояснень отриманих в нашому дослідженні профілів сЖК та фЖК у пацієнтів із СПК-Д є зменшення активності кишкової бактеріальної ГСЖК, яка приймає участь у гідролізі первинних ЖК у вторинні. І це частково підтверджується результатами проведеного нами кореляційного аналізу, який показав, що чим вище активність ГСЖК, тим вищі відносні рівні вторинних сЖК та фЖК і, навпаки, нижчі абсолютні та відносні рівні первинних сЖК, фЖК та загальних фЖК. Проте, на жаль, у двох згаданих вище дослідженнях інших авторів, де оцінювалась ферментативна активність ГСЖК [27, 30], такий аналіз не проводився. Інших схожих даних серед літературу нами також знайдено не було.

Для пошуку можливого зв'язку між параметрами метаболізму ЖК та клінічними характеристиками СПК, ми провели кореляційний аналіз. Було виявлено зв'язок між зміненими індикаторами обміну ЖК і клінічними параметрами учасників дослідження: вираженістю абдомінального болю, здуттям живота, формою і частотою стулу, а також ІТФЗК і вісцеральною чутливістю. Нами було показано, що чим вищі рівні первинних сЖК, загальних та первинних фЖК і нижчі відносні рівні вторинних сЖК та фЖК, тим сильніший абдомінальний біль, здуття живота, тяжкість захворювання згідно ІТФЗК, більш м'який і частий стул. У попередніх дослідженнях також були виявлені подібні кореляції [22, 27, 30, 143]. Крім того, було виявлено, що активність кишкової бактеріальної ГСЖК негативно корелює з усіма клінічними параметрами, що означає, що її нижчі рівні асоціюються з більш тяжкою клінічною картиною СПК. На жаль, у літературних даних ми не знайшли відомостей про такий зв'язок. Отже, необхідні подальші дослідження, щоб підтвердити та розширити наші дані. Цікавим є те, що ми виявили зв'язок між вісцеральною чутливістю, оціненою згідно ІВЧ, і параметрами метаболізму ЖК. Деякі попередні дослідження також показали, що ЖК можуть підвищувати вісцеральну чутливість [115], але інші не виявили такого зв'язку [143].

Додатково, на основі отриманих під час першого етапу роботи даних, нами була проведена оцінка зв'язку між ризиком СПК-Д та параметрами метаболізму ЖК за допомогою побудови моделей логістичної регресії. Побудовані однофакторні моделі показали, що збільшення по окреmostі активності ГСЖК та абсолютних і відносних рівнів вторинних сЖК були асоційовані з нижчим ризиком СПК-Д. Відсоткові рівні первинних та вторинних фЖК не показали достовірного зв'язку, а збільшення по окреmostі рівнів всіх інших індикаторів метаболізму ЖК було асоційовано з підвищеним ризиком СПК-Д. Побудована надалі 4-факторна модель (включає ВА ГСЖК, рівні загальних сЖК та фЖК, відсоткові рівні первинних сЖК) показала, що зі збільшенням активності кишкової бактеріальної ГСЖК ризик СПК-Д знижується, тоді як зі збільшенням рівнів загальних сЖК, фЖК та відносних рівнів первинних сЖК – підвищується, при стандартизації за іншими факторами. На жаль, серед медичної літератури аналогічних даних знайдено не було. Відповідно, винайдені нами вищезазначені результати потребують підтвердження в наступних дослідженнях.

Отже, аналіз отриманих в ході 1-го етапу дисертаційного дослідження результатів показав, що нами були розширені та уточнені дані відносно особливостей метаболізму ЖК у пацієнтів із СПК, включаючи активність ферменту ГСЖК у кишках пацієнтів, показників сироваткових та фекальних ЖК, їх взаємозв'язок з клінічними симптомами, тяжкістю захворювання та вісцеральною чутливістю; вперше було виявлено зв'язок між активністю кишкової бактеріальної ГСЖК та рівнями сЖК та фЖК у пацієнтів із СПК; вперше було виявлено, що зниження активності бактеріальної ГСЖК в кишках пацієнтів асоційоване з більш тяжчим перебігом СПК-Д та більш вираженими симптомами; вперше було виявлено наявність зв'язку між ризиком СПК-Д, активністю кишкової бактеріальної ГСЖК та рівнями сироваткових та фекальних ЖК.

Існуючий зв'язок між активністю кишкової бактеріальної ГСЖК, порушеним обміном ЖК (з відповідними девіаціями сЖК та фЖК) та СПК-Д може бути теоретичним обґрунтуванням доцільності дослідження нових

терапевтичних підходів в контексті модифікації активності ГСЖК. Збільшення останньої в кишках пацієнтів теоретично може призводити до зменшення кількості первинних фЖК та збільшення їх вторинних форм, що в свою чергу зменшуватиме клінічні прояви СПК-Д [39-41]. Саме ця гіпотеза і лягла в основу проведення другого етапу дисертаційної роботи. В якості методу підвищення активності бактеріальної ГСЖК в кишках пацієнтів було вирішено обрати пробіотичні бактерії. Як вже зазначалось у Розділі 1, ГСЖК синтезується багатьма представниками кишкового мікробіому. Основними її продуцентами є представники типів *Bacteroidetes* і *Firmicutes*, включно зі штамми з родів *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus* [81], а також *Saccharomyces* [86]. Тому перед початком другого етапу дослідження нами було прийняте рішення обрати пробіотичний препарат, що містив би різні штами ГСЖК-синтезуючих бактерій. Для перевірки потенційної ефективності препарату визначалась його активність ГСЖК. Нами було виявлено, що відносна активність ГСЖК використаного в роботі препарату (що містив *L.rhamnosus*, *L.plantarum*, *S.thermophilus*, *L.acidophilus*, *B.bifidum*, *B.longum*, *B.infantis*, *S.boulardii*) в середньому була практично у 70 разів вищою порівняно з генетично-модифікованим (без генів ГСЖК) штамом *Lactobacillus plantarum* і у 2 рази вищою порівняно з капсулами з диким типом *Lactobacillus plantarum* WT. Такі результати вказують на те, що комбінації пробіотичних бактерій мають вищу сукупну ферментативну активність і потенційно можуть мати кращий терапевтичний ефект, але це потребує додаткового підтвердження в інших дослідженнях.

Другий етап роботи був виконаний за дизайном рандомізованого відкритого паралельного дослідження. Пацієнти із СПК-Д були випадковим чином розділені на 2 групи порівняння: перша отримувала лише холестирамін, а друга – його комбінацію з вищезазначеним комплексним пробіотиком. Беззаперечно, що для більшої «чистоти» дослідження, для уникнення впливу додаткових чинників на результати, можна було б порівнювати лікування плацебо з лише пробіотичним препаратом. Проте з етичних міркувань було

вирішено в якості базисного препарату використати холестирамін – єдиний наявний в Україні секвестрант ЖК, який рекомендований клінічними настановами в якості лікування МЖК/ДЖК, в тому числі при СПК-Д [32-34, 39, 137]. 12-тижневе призначення порівнюваних схем терапії показало, що обидві схеми мали ефект у зменшенні клінічних проявів СПК упродовж різних етапів лікування, включно зі зменшенням абдомінального болю, денної частоти випорожнень, зміною типу випорожнень за Брістольською шкалою в бік більш оформлених, індексу тяжкості та індексу вісцеральної чутливості. Проте вираженість здуття достовірно не зменшилась у пацієнтів, які отримували тільки холестирамін, що, ймовірно, пов'язано з тим, що даний препарат часто викликає таку побічну дію [32]. Тоді як у пацієнтів, яким разом з холестираміном призначались капсули з пробіотичними бактеріями, здуття зменшилось уже через 4 тижні, і такий ефект спостерігався і після 12 тижнів. Порівняння обох груп виявило, що комбіноване лікування з пробіотиком було вірогідно більше ефективним у зменшенні здуття через 8 і 12 тижнів, а також поліпшенні форми випорожнень за Брістольською шкалою і зменшенні денної частоти випорожнень через 12 тижнів лікування. Такі результати нашого дослідження співставні з даними одного попереднього дослідження [158], яке показало клінічну ефективність комбінації з 8 пробіотичних бактерій при лікуванні СПК і зв'язок її з гідролізом ЖК. Проте варто зазначити, що нами не було знайдено аналогічних досліджень, у яких би порівнювались монотерапія секвестрантами ЖК і комбінована терапія — поєднання їх з пробіотичними препаратами. Загалом, досліджень щодо застосування пробіотиків при СПК багато [42, 43, 170], однак досліджень у контексті їх впливу на модуляцію обміну ЖК у край мало [40]. Окрім впливу на клінічні показники, комбіноване лікування було більш ефективним у зменшенні вісцеральної чутливості: ІВЧ був вірогідно нижчим через 8 і 12 тижнів порівняно з групою, де приймали тільки холестирамін. Попередні експериментальні дослідження на тваринних моделях також вказували на здатність пробіотичних бактерій зменшувати вісцеральну чутливість [171, 172]. Однак, клінічних досліджень в контексті впливу

пробіотиків на вісцеральну чутливість знайдено не було. Що стосується досягнення клінічного ефекту в нашому дослідженні, то комбінована терапія із досліджуваним комплексним пробіотиком була більш ефективною в контексті досягнення терапевтичних цілей по зменшенню здуття ($\geq 30\%$ за ВАШ), а також адекватного покращення згідно шкали СПК-АП у порівнянні з монотерапією холестираміном.

Протягом другого етапу роботи, зважаючи на роль тривожно-депресивних розладів у розвитку СПК та МЖК/ДЖК [173-175], нами було вирішено додатково оцінити їх вираженість на основі валідованих опитувальників (PHQ-9, ГШТД-Т, ГШТД-Д та шкала Бека), які пацієнти із СПК-Д заповнювали кожні 4 тижні лікування досліджуваними схемами. Ми виявили, що 12-тижневе лікування як холестираміном, так і його комбінацією з комплексним пробіотиком мали ефект по окремості в зменшенні вираженості тривожного та депресивного розладів згідно вищезазначених шкал через різні проміжки часу, окрім шкали Бека в групі пацієнтів на монотерапії холестираміном. Нами не було знайдено аналогічних даних серед літератури, тим не менше, в одному дослідженні авторами було показано, що лікування секвестрантами ЖК призводило до достовірного зменшення тривоги та депресії згідно опитувальника якості життя EQ-5D-3L у пацієнтів з ДЖК [176]. Що стосується впливу пробіотиків на тривогу та депресію у пацієнтів із СПК, то даний напрямок активно досліджується у світі, і нами було знайдено багато робіт з різними результатами [177-180]. І якщо окремі дослідження показують, що різні штами бактерій можуть покращувати симптоми супутніх до СПК депресії та тривоги [177-179], то нещодавній мета-аналіз досліджень [180] не виявив достовірної переваги різних пробіотиків над плацебо у зменшенні проявів тривожно-депресивних розладів у пацієнтів із СПК. На жаль, даних відносно впливу пробіотичних бактерій на такі розлади в контексті МЖК/ДЖК знайдено не було. Отже, подальші дослідження даного напрямку є важливими та не втрачають актуальності. Наше дослідження також виявило, що комбіноване лікування із досліджуваним комплексним пробіотиком було більш ефективним

в корекції депресивного розладу згідно ГШТД-Д через 12 тижнів лікування порівняно з монотерапією холестираміном. Тобто додавання пробіотичного препарату до холестираміну може більш ефективно зменшити вираженість депресивного розладу у пацієнтів із СПК-Д та МЖК. Однак схожих робіт нами не було знайдено, тому такі результати мають бути розширені та уточнені в майбутніх дослідженнях.

Підсумовуючи аналіз результатів першої частини другого етапу дисертаційної роботи, можна зазначити, що нами були доповнені дані відносно активності ГСЖК пробіотичних бактерій; уточнені та розширені дані стосовно клінічної ефективності холестираміну та пробіотиків у пацієнтів із СПК-Д, а також їх впливу на супутні до СПК тривожно-депресивні розлади; вперше було виявлено, що додавання комплексного пробіотику до холестираміну мало більший ефект в зменшенні здуття, діареї та вісцеральної чутливості, в досягненні кінцевих цілей лікування, а також в зменшенні вираженості депресивного розладу у пацієнтів із СПК-Д.

Іншим аспектом другого етапу дисертаційного дослідження було оцінити показники обміну ЖК, включаючи активність кишкової бактеріальної ГСЖК, в динаміці лікування досліджуваних груп. Це, на нашу думку, дозволило б більш точно зрозуміти механізми можливої клінічної ефективності порівнюваних схем терапії і відповідно додатково обґрунтувати доцільність практичного використання підходів, що вивчались в нашій роботі. Отже, всім пацієнтам базово (до початку лікування, що описано вище) та по завершенню 12-тижневого курсу лікування визначались рівні сЖК, фЖК та ВА кишкової бактеріальної ГСЖК. Ми виявили, що обидві схеми лікування (монотерапія холестираміном і комбінація холестираміну з пробіотиком) достовірно змінили більшість параметрів метаболізму ЖК після 12 тижнів прийому препаратів. Відносно сЖК було виявлено зниження абсолютних рівнів загальних сЖК, первинних та вторинних сЖК в обох групах. У той час як відносні рівні (у %) первинних сЖК були знижені, а вторинних сЖК – підвищені лише в групі пацієнтів, які отримували комбіноване лікування з досліджуваними пробіотиком. Що

стосується фЖК, було виявлено підвищення абсолютних рівнів загальних та вторинних фЖК, а також відносних рівнів вторинних фЖК в обох групах. Тоді як абсолютні й відносні рівні первинних фЖК були знижені в обох групах. Ці результати нашої роботи є співставними з даними літератури. Попередні дослідження також показали, що холестирамін може змінювати склад ЖК. У пацієнтів із первинним біліарним холангітом [181] холестирамін призводив до зниження загальних сЖК без відмінностей у розподілі первинних та вторинних сЖК, підвищення загальних та вторинних фЖК. Але в той же час не було відмінностей у рівні первинних фЖК на відміну від нашого дослідження. У дослідженні із застосуванням іншого секвестранта ЖК – колесевеламу – у пацієнтів із ДЖК [182] було виявлено підвищення рівня загальних фЖК та відносного рівня вторинної фЖК (ДХК) через 4 тижні лікування, але відмінностей у значеннях первинних фЖК не було. Інше подібне дослідження [183] із застосуванням колесевеламу у пацієнтів із СПК-Д також виявило підвищення рівнів загальних фЖК та вторинної фЖК (ДХК), а також зниження первинної фЖК (ХК) після 10 днів лікування. Таким чином, результати нашого дослідження щодо впливу холестираміну на параметри метаболізму ЖК подібні до даних попередніх досліджень, але за деякими винятками, які слід уточнити в майбутніх дослідженнях. Щодо ролі пробіотиків у модифікації індикаторів метаболізму ЖК, було знайдено обмежені та компрометуючі дані. В одній роботі [184] авторами було виявлено, що споживання *L. reuteri* призводило до підвищення абсолютних рівнів сироваткових некон'югованих ЖК (складаються переважно з вторинних ЖК) у здорових учасників. Наше дослідження, навпаки, показало зниження абсолютних значень вторинних сЖК у відповідь на лікування комплексним пробіотиком, але відносні рівні цих ЖК були підвищені. В іншому дослідженні [185] 4-тижневе призначення *L. plantarum* було пов'язане зі зниженням рівня загальних фЖК. Але в більш ранньому дослідженні за участі здорових учасників [186] *Lactobacilli* призводили до підвищення загальних фЖК. Крім того, дослідження на тваринах виявили збільшення загальних фЖК після споживання *L. fermentum* [187] і *L. gasseri* [188], зниження кон'югованих фЖК

(що складаються здебільшого з первинних фЖК) та збільшення вторинних фЖК у відповідь на лікування *L. gasseri* [188]. Однак нещодавнє дослідження на людях [158] із застосуванням багатоштамового пробіотика VSL#3 пацієнтам із СПК не виявило жодних змін у фекальному профілі ЖК, і автори пов'язали такі результати з недостатньою потужністю дослідження. Отже, різні пробіотичні бактерії можуть змінювати метаболізм ЖК та відповідні його сироваткові та фекальні індикатори, але точний ефект залишається до кінця не з'ясованим. Слід зазначити, що ми, на жаль, не знайшли серед літератури досліджень по впливу комбінації пробіотиків з холестираміном на показники метаболізму ЖК. Наше дослідження також виявило різницю в значеннях більшості параметрів метаболізму ЖК між групами дослідження. Тобто додаткове призначення до холестираміну комплексного пробіотику було більш ефективним в контексті модифікації кількісного складу та відносного розподілу сЖК та фЖК, ймовірно через наявність в пробіотичних бактеріях ГСЖК. Тому нами ще була оцінена активність ГСЖК у кишках пацієнтів із СПК-Д до та через 12 тижнів лікування. Ми виявили, що активність кишкової бактеріальної ГСЖК достовірно не змінилась через 12 тижнів монотерапії холестираміну. Тоді як комбіноване лікування із холестираміном та комплексним пробіотичним препаратом призводило до достовірного збільшення активності кишкової бактеріальної ГСЖК порівняно з вихідними значеннями, а також порівняно з монотерапією холестираміном. Більш того, 12-тижневе призначення комбінованого лікування із пробіотиком збільшувало активність ГСЖК до рівнів, які достовірно не відрізнялись від таких у практично здорових добровольців. На жаль, серед літератури даних відносно оцінки активності ГСЖК після застосування пробіотичних препаратів практично немає. В одному з досліджень наших колег [189] було виявлено, що використання *L. plantarum* може підвищувати активність ГСЖК у кишках пацієнтів з дисліпідемією. На жаль, інших робіт, включаючи за участі пацієнтів із СПК, МЖК/ДЖК знайдено не було. Отже, подальші дослідження є необхідними для уточнення отриманих нами даних.

Надалі нами був оцінений зв'язок між активністю ГСЖК та ризиком не досягнути кінцевих цілей лікування, визначених ще на початку дослідження. Ми показали, що зі збільшенням активності кишкової бактеріальної ГСЖК ризик недосягнення цілі лікування відносно зменшення форми стулу за Брістольською шкалою (≥ 1) та зменшення здуття ($\geq 30\%$ за ВАШ) знижується. Це означає, що чим вища активність ферменту в кишках пацієнтів, тим більше шансів на успішне лікування та досягнення зазначених вище цілей лікування. Тому додаткове призначення пробіотичних препаратів, які мають достатню активність ГСЖК і підвищують її у кишках пацієнтів, з високою ймовірністю підвищує шанси пацієнтів на досягнення клінічного ефекту та мети лікування. На жаль, аналогічних даних серед літератури нами знайдено не було, що актуалізує важливість продовження досліджень в даній тематиці.

Підсумовуючи аналіз результатів другої частини другого етапу дисертаційної роботи, можна зазначити, що нами були розширені дані відносно впливу холестираміну та пробіотичних бактерій на сироваткові та фекальні показники обміну ЖК; вперше було оцінено вплив комбінації пробіотиків з холестираміном на показники метаболізму ЖК; вперше було оцінено активність кишкової бактеріальної ГСЖК у пацієнтів із СПК-Д після прийому холестираміну та його комбінації із комплексним пробіотичним препаратом; вперше було оцінено зв'язок між активністю кишкової бактеріальної ГСЖК та ризиком недосягнення кінцевих цілей лікування СПК-Д.

Варто зазначити, що впродовж дослідження не було зареєстровано явних побічних ефектів досліджуваних препаратів, включаючи алергічні реакції, які б вимагали припинення прийому препаратів та виключення пацієнтів із дослідження. Найчастішою побічною реакцією, яка спостерігалась у деяких пацієнтів на фоні прийому холестираміну, було посилення здуття, яке не вимагало припинення прийому медикаменту або зупинки дослідження для пацієнта.

Отже, капсули на основі живих ліофілізованих бактерій у кількості $1,94 \times 10^9$ КУО, що включають штами *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus*

plantarum, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*), а також *Saccharomyces boulardii*, є безпечним пробіотичним препаратом, який в комбінації з холестираміном дозволяє покращити ефективність лікування СПК-Д, а також досягнути терапевтичних цілей за рахунок збільшення активності ферменту ГСЖК у кишках пацієнтів та відповідної корекції обміну ЖК, мальабсорбція яких грає одну з ролей у розвитку СПК-Д. Тому цю комбінацію пробіотичних бактерій можна рекомендувати як додаткове лікування СПК-Д, в тому числі пацієнтам з ймовірною або доведеною МЖК.

ВИСНОВКИ

У дисертаційному дослідженні була теоретично й експериментально обґрунтована та запропонована нова опція для вирішення актуальної проблеми гастроентерології – підвищення ефективності лікування пацієнтів із СПК-Д на основі модифікації активності кишкової бактеріальної ГСЖК та відповідної корекції обміну ЖК шляхом застосування комплексного пробіотичного препарату, що містить ГСЖК-експресуючі штами *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*) та *Saccharomyces boulardii*.

1. ВА кишкової бактеріальної ГСЖК, відносні рівні вторинних сЖК та фЖК були достовірно нижчими, а абсолютні та відносні рівні первинних сЖК та фЖК, рівні загальних фЖК – вищими у пацієнтів із СПК-Д порівняно з практично здоровими учасниками та пацієнтами із СПК-З. Абсолютні рівні вторинних фЖК були достовірно нижчими у СПК-Д пацієнтів порівняно з СПК-З пацієнтами. Виявлені відхилення індикаторів обміну ЖК мали зв'язок з активністю ГСЖК, клінічними симптомами та характеристиками учасників дослідження, а також ризиком СПК-Д.
2. ВА ГСЖК досліджуваних капсул із пробіотичними бактеріями *L.rhamnosus*, *L.plantarum*, *S.thermophilus*, *L.acidophilus*, *B.bifidum*, *B.longum*, *B.infantis* та *S.boulardii* в середньому була практично у 70 разів вищою порівняно з генетично-модифікованим штамом *Lactobacillus plantarum* і у 2 рази вищою порівняно з капсулами з диким типом *Lactobacillus plantarum* WT.
3. Додаткове до холестираміну застосування пробіотичного препарату на основі *L.rhamnosus*, *L.plantarum*, *S.thermophilus*, *L.acidophilus*, *B.bifidum*, *B.longum*, *B.infantis* та *S.boulardii* було більше ефективним у зменшенні здуття та вісцеральної чутливості, починаючи з 8 тижня, та форми й частоти випорожнень через 12 тижнів лікування, в

досягненні терапевтичних цілей по зменшенню здуття ($\geq 30\%$ за ВАШ) та адекватного покращення згідно шкали СПК-АП, а також в корекції супутнього до СПК депресивного розладу (оціненого згідно ГШТД-Д) при порівнянні з монотерапією холестираміном.

4. Комбінація холестираміну та пробіотичного препарату на основі *L.rhamnosus*, *L.plantarum*, *S.thermophilus*, *L.acidophilus*, *B.bifidum*, *B.longum*, *B.infantis* та *S.boulardii* була більш ефективною в модифікації абсолютних та відносних значень сЖК та фЖК (окрім абсолютних рівнів вторинних сЖК) через 12 тижнів прийому медикаментів порівняно з монотерапією холестираміном.
5. Додаткове до холестираміну застосування пробіотичного препарату на основі *L.rhamnosus*, *L.plantarum*, *S.thermophilus*, *L.acidophilus*, *B.bifidum*, *B.longum*, *B.infantis* та *S.boulardii* впродовж 12 тижнів призводило до достовірного збільшення ВА кишкової бактеріальної ГСЖК порівняно з вихідними значеннями та монотерапією холестираміном. Збільшення ВА ГСЖК у кишках пацієнтів було асоційоване зі зниженням ризику недосягнення цілі лікування відносно зменшення здуття та форми стулу за Брістольською шкалою.
6. У пацієнтів із СПК-Д рекомендовано призначати комбінацію холестираміну у дозі 4 г 2 рази на добу та капсул із живими ліофілізованими бактеріями у кількості $1,94 \times 10^9$ КУО (*L.rhamnosus*, *L.plantarum*, *S.thermophilus*, *L.acidophilus*, *B.bifidum*, *B.longum*, *B.infantis*), *Saccharomyces boulardii* (65 мг), сухим екстрактом квіток ромашки аптечної (50 мг) та інуліном (200 мг) – 1 капсула 2 рази на добу впродовж не менше 12 тижнів, що призводить до кращих результатів лікування за рахунок зменшення здуття, вісцеральної чутливості, проявів діареї, супутнього депресивного розладу, а також досягнення кінцевих цілей лікування.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Пацієнтів із СПК-Д слід перевіряти на порушення обміну ЖК за умов наявності та доступності діагностичних тестів, а в разі неможливості останнього – розглядати пробне лікування секвестрантами ЖК та пробіотичними препаратами на основі ГСЖК-експресуючих штамів мікроорганізмів.
2. Доцільно призначати пробіотичні препарати на основі ГСЖК-експресуючих штамів *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*) та *Saccharomyces boulardii* в якості додаткової терапії СПК-Д, в тому числі пацієнтам з ймовірною або доведеною МЖК, для симптоматичного лікування здуття та діареї.
3. Рекомендовано комбінувати капсули із живими ліофілізованими бактеріями у кількості $1,94 \times 10^9$ КУО (*L.rhamnosus*, *L.plantarum*, *S.thermophilus*, *L.acidophilus*, *B.bifidum*, *B.longum*, *B.infantis*), *Saccharomyces boulardii* (65 мг), сухим екстрактом квіток ромашки аптечної (50 мг) та інуліном (200 мг) – 1 капсула 2 рази на добу та холестирамін у дозі 4 г 2 рази на добу протягом не менше 12 тижнів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Fikree A, Byrne P. Management of functional gastrointestinal disorders. *Clin Med (Lond)*. 2021;21(1):44-52. doi:10.7861/clinmed.2020-0980
2. Shivaji UN, Ford AC. Prevalence of functional gastrointestinal disorders among consecutive new patient referrals to a gastroenterology clinic. *Frontline Gastroenterol*. 2014;5(4):266-271. doi:10.1136/flgastro-2013-100426
3. Lacy BE, Patel NK. Rome Criteria and a Diagnostic Approach to Irritable Bowel Syndrome. *J Clin Med*. 2017 Oct 26;6(11):99. doi: 10.3390/jcm6110099.
4. Sperber AD, Bangdiwala SI, Drossman DA, et al. Worldwide Prevalence and Burden of Functional Gastrointestinal Disorders, Results of Rome Foundation Global Study. *Gastroenterology*. 2021;160(1):99-114.e3. doi:10.1053/j.gastro.2020.04.014
5. Palsson OS, Whitehead W, Törnblom H, Sperber AD, Simren M. Prevalence of Rome IV Functional Bowel Disorders Among Adults in the United States, Canada, and the United Kingdom. *Gastroenterology*. 2020;158(5):1262-1273.e3. doi:10.1053/j.gastro.2019.12.021
6. Oka P, Parr H, Barberio B, Black CJ, Savarino EV, Ford AC. Global prevalence of irritable bowel syndrome according to Rome III or IV criteria: a systematic review and meta-analysis [published correction appears in *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2020 Dec;5(12):e8]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2020;5(10):908-917. doi:10.1016/S2468-1253(20)30217-X
7. Scallan E, Majowicz SE, Hall G, et al. Prevalence of diarrhoea in the community in Australia, Canada, Ireland, and the United States. *Int J Epidemiol*. 2005;34(2):454-460. doi:10.1093/ije/dyh413
8. Drossman DA. Functional Gastrointestinal Disorders: History, Pathophysiology, Clinical Features and Rome IV [published online ahead of print, 2016 Feb 19]. *Gastroenterology*. 2016;S0016-5085(16)00223-7. doi:10.1053/j.gastro.2016.02.032

9. Vanuytsel T, Bercik P, Boeckxstaens G. Understanding neuroimmune interactions in disorders of gut-brain interaction: from functional to immune-mediated disorders. *Gut*. 2023;72(4):787-798. doi:10.1136/gutjnl-2020-320633
10. Black CJ, Drossman DA, Talley NJ, Ruddy J, Ford AC. Functional gastrointestinal disorders: advances in understanding and management. *Lancet*. 2020;396(10263):1664-1674. doi:10.1016/S0140-6736(20)32115-2
11. Tang HY, Jiang AJ, Wang XY, et al. Uncovering the pathophysiology of irritable bowel syndrome by exploring the gut-brain axis: a narrative review. *Ann Transl Med*. 2021;9(14):1187. doi:10.21037/atm-21-2779
12. Holtmann GJ, Ford AC, Talley NJ. Pathophysiology of irritable bowel syndrome. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2016 Oct;1(2):133- 146. doi: 10.1016/S2468-1253(16)30023-1.
13. Camilleri M, Sellin JH, Barrett KE. Pathophysiology, Evaluation, and Management of Chronic Watery Diarrhea. *Gastroenterology*. 2017 Feb;152(3):515-532.e2. doi: 10.1053/j.gastro.2016.10.014.
14. Chong PP, Chin VK, Looi CY, Wong WF, Madhavan P, Yong VC. The Microbiome and Irritable Bowel Syndrome - A Review on the Pathophysiology, Current Research and Future Therapy. *Front Microbiol*. 2019 Jun 10;10:1136. doi: 10.3389/fmicb.2019.01136.
15. Reed D. Microbial Signaling in Pathophysiology of Disorders of Gut-Brain Interaction. *Gastroenterology*. 2022;163(4):1116-1117. doi:10.1053/j.gastro.2022.07.010
16. Min, Y. W., Rezaie, A., & Pimentel, M. (2022). Bile Acid and Gut Microbiota in Irritable Bowel Syndrome. *Journal of neurogastroenterology and motility*, 28(4), 549–561. <https://doi.org/10.5056/jnm22129>.
17. Camilleri M. (2015). Bile Acid diarrhea: prevalence, pathogenesis, and therapy. *Gut and liver*, 9(3), 332–339. <https://doi.org/10.5009/gnl14397>.
18. Farrugia A, Arasaradnam R. Bile acid diarrhoea: pathophysiology, diagnosis and management. *Frontline Gastroenterol*. 2020;12(6):500-507. Published 2020 Sep 22. doi:10.1136/flgastro-2020-101436

19. Flores V, Martínez-Lozano H, Bighelli F, et al. Prevalence of biliary acid malabsorption in patients with chronic diarrhoea of functional characteristics: a prospective study. *BMC Gastroenterol*. 2021;21(1):56. Published 2021 Feb 9. doi:10.1186/s12876-021-01637-4
20. Shiha MG, Ashgar Z, Fraser EM, Kurien M, Aziz I. High prevalence of primary bile acid diarrhoea in patients with functional diarrhoea and irritable bowel syndrome-diarrhoea, based on Rome III and Rome IV criteria. *EClinicalMedicine*. 2020;25:100465. Published 2020 Jul 15. doi:10.1016/j.eclinm.2020.100465
21. Walters JR, Patti SS. Managing bile acid diarrhoea. *Therap Adv Gastroenterol* 2010;3:349-357.
22. Duboc H, Rainteau D, Rajca S, et al. Increase in fecal primary bile acids and dysbiosis in patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol Motil*. 2012;24(6):513-e247. doi:10.1111/j.1365-2982.2012.01893.x
23. Shin A, Camilleri M, Vijayvargiya P, et al. Bowel functions, fecal unconjugated primary and secondary bile acids, and colonic transit in patients with irritable bowel syndrome. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2013;11(10):1270-1275.e1. doi:10.1016/j.cgh.2013.04.020
24. Wong BS, Camilleri M, Carlson P, et al. Increased bile acid biosynthesis is associated with irritable bowel syndrome with diarrhea. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2012;10(9):1009-15.e3. doi:10.1016/j.cgh.2012.05.006
25. Vijayvargiya P, Camilleri M. Current Practice in the Diagnosis of Bile Acid Diarrhea. *Gastroenterology*. 2019;156(5):1233-1238. doi:10.1053/j.gastro.2018.11.069
26. Vijayvargiya P, Camilleri M, Chedid V, et al. Analysis of Fecal Primary Bile Acids Detects Increased Stool Weight and Colonic Transit in Patients With Chronic Functional Diarrhea. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2019;17(5):922-929.e2. doi:10.1016/j.cgh.2018.05.050

27. Dior M, Delagrèverie H, Duboc H, et al. Interplay between bile acid metabolism and microbiota in irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol Motil.* 2016;28(9):1330-1340. doi:10.1111/nmo.12829
28. Bourgin M, Kriaa A, Mkaouar H, et al. Bile Salt Hydrolases: At the Crossroads of Microbiota and Human Health. *Microorganisms.* 2021;9(6):1122. Published 2021 May 22. doi:10.3390/microorganisms9061122
29. Yang Y, Wu C. Targeting gut microbial bile salt hydrolase (BSH) by diet supplements: new insights into dietary modulation of human health. *Food Funct.* 2022;13(14):7409-7422. Published 2022 Jul 18. doi:10.1039/d2fo01252a
30. Zhao L, Yang W, Chen Y, et al. A Clostridia-rich microbiota enhances bile acid excretion in diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *J Clin Invest.* 2020;130(1):438-450. doi:10.1172/JCI130976
31. DiBaise JK. Does Your Patient Have Bile Acid Malabsorption? *Practical Gastroenterology.* 2020; XLIV (Issue 5):12-26.
32. Sadowski DC, Camilleri M, Chey WD, et al. Canadian Association of Gastroenterology Clinical Practice Guideline on the Management of Bile Acid Diarrhea. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2020;18(1):24-41.e1. doi:10.1016/j.cgh.2019.08.062
33. Fukudo S, Okumura T, Inamori M, et al. Evidence-based clinical practice guidelines for irritable bowel syndrome 2020 [published correction appears in *J Gastroenterol.* 2023 Nov;58(11):1165]. *J Gastroenterol.* 2021;56(3):193-217. doi:10.1007/s00535-020-01746-z
34. Savarino E, Zingone F, Barberio B, et al. Functional bowel disorders with diarrhoea: Clinical guidelines of the United European Gastroenterology and European Society for Neurogastroenterology and Motility. *United European Gastroenterol J.* 2022;10(6):556-584. doi:10.1002/ueg2.12259
35. Wilcox C, Turner J, Green J. Systematic review: the management of chronic diarrhoea due to bile acid malabsorption. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014;39(9):923-939. doi:10.1111/apt.12684

36. Lent-Schochet D, Jialal I. Antilipemic Agent Bile Acid Sequestrants. [Updated 2023 Jan 23]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK549906/>
37. Degirolamo C, Rainaldi S, Bovenga F, Murzilli S, Moschetta A. Microbiota modification with probiotics induces hepatic bile acid synthesis via downregulation of the Fxr-Fgf15 axis in mice. *Cell Rep.* 2014;7(1):12-18. doi:10.1016/j.celrep.2014.02.032
38. Hegyi P, Mal  th J, Walters JR, Hofmann AF, Keely SJ. Guts and Gall: Bile Acids in Regulation of Intestinal Epithelial Function in Health and Disease. *Physiol Rev.* 2018;98(4):1983-2023. doi:10.1152/physrev.00054.2017
39. Zhao L, Fang XD, Jia W, Bian ZX. Managing Chronic Diarrhea From a Gut Microbiota-Bile Acid Perspective. *Clin Transl Gastroenterol.* 2020;11(8):e00208. doi:10.14309/ctg.0000000000000208
40. Marasco G, Cremon C, Barbaro MR, et al. Pathophysiology and Clinical Management of Bile Acid Diarrhea. *J Clin Med.* 2022;11(11):3102. Published 2022 May 30. doi:10.3390/jcm11113102
41. Zhan K, Zheng H, Li J, et al. Gut Microbiota-Bile Acid Crosstalk in Diarrhea-Irritable Bowel Syndrome. *Biomed Res Int.* 2020;2020:3828249. Published 2020 Nov 12. doi:10.1155/2020/3828249
42. Vasant DH, Paine PA, Black CJ, et al. British Society of Gastroenterology guidelines on the management of irritable bowel syndrome. *Gut.* 2021 Jul;70(7):1214-1240. doi: 10.1136/gutjnl-2021-324598.
43. Lacy BE, Pimentel M, Brenner DM, et al. ACG Clinical Guideline: Management of Irritable Bowel Syndrome. *Am J Gastroenterol.* 2021 Jan 1;116(1):17-44. doi: 10.14309/ajg.0000000000001036.
44. Mearin F, Lacy BE, Chang L, et al. Bowel Disorders [published online ahead of print, 2016 Feb 18]. *Gastroenterology.* 2016;S0016-5085(16)00222-5. doi:10.1053/j.gastro.2016.02.031

45. Palsson OS, Whitehead WE, van Tilburg MA, et al. Rome IV Diagnostic Questionnaires and Tables for Investigators and Clinicians [published online ahead of print, 2016 Feb 13]. *Gastroenterology*. 2016;S0016-5085(16)00180-3. doi:10.1053/j.gastro.2016.02.014
46. Miller LE. Study design considerations for irritable bowel syndrome clinical trials. *Ann Gastroenterol*. 2014;27(4):338-345.
47. Lewis SJ, Heaton KW. Stool form scale as a useful guide to intestinal transit time. *Scand J Gastroenterol*. 1997;32(9):920-924. doi:10.3109/00365529709011203
48. Neverovskyi A, Shypulin V, Mikhnova N. Translation and validation of the Ukrainian version of the visceral sensitivity index for patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology Review/Przegląd Gastroenterologiczny*. 2023;18(3):313-319. doi:10.5114/pg.2023.131391.
49. Labus JS, Bolus R, Chang L, et al. The Visceral Sensitivity Index: development and validation of a gastrointestinal symptom-specific anxiety scale. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20: 89-97.
50. Drossman DA, Li Z, Toner BB, et al. Functional bowel disorders. A multicenter comparison of health status and development of illness severity index. *Dig Dis Sci*. 1995;40(5):986-995. doi:10.1007/BF02064187
51. Passos MC, Lembo AJ, Conboy LA, et al. Adequate relief in a treatment trial with IBS patients: a prospective assessment. *Am J Gastroenterol*. 2009;104(4):912-919. doi:10.1038/ajg.2009.13
52. Gordon S, Ameen V, Bagby B, Shahan B, Jhingran P, Carter E. Validation of irritable bowel syndrome Global Improvement Scale: an integrated symptom end point for assessing treatment efficacy. *Dig Dis Sci*. 2003;48(7):1317-1323. doi:10.1023/a:1024159226274
53. Kroenke K, Spitzer RL, Williams JB. The PHQ-9: validity of a brief depression severity measure. *J Gen Intern Med* 2001;16: 606-13.
54. https://www.dec.gov.ua/wp-content/uploads/2019/11/2014_1003_ykpmd_depresiya.pdf.

55. Beck AT, Ward CH, Mendelson M, Mock J, Erbaugh J. An inventory for measuring depression. *Arch Gen Psychiatry* 1961; 4:561-71.
56. Никітчук У. Психометричні властивості української версії опитувальника депресії А. Бека (BDI-I) на студентській вибірці. *Psychol J* 2020; 6: 56-68.
57. Zigmond AS, Snaith RP. The hospital anxiety and depression scale. *Acta Psychiatr Scand* 1983; 67: 361-70.
58. Di Ciaula A, Garruti G, Lunardi Baccetto R, et al. Bile Acid Physiology. *Ann Hepatol.* 2017;16(Suppl. 1: s3-105.):s4-s14. doi:10.5604/01.3001.0010.5493
59. Luo J, Yang H, Song B. Mechanisms and regulation of cholesterol homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2020; 21: 225–245. doi:10.1038/s41580-019-0190-7.
60. Biagioli M, Carino A. Signaling from Intestine to the Host: How Bile Acids Regulate Intestinal and Liver Immunity. *Handb Exp Pharmacol.* 2019;256:95-108. doi:10.1007/164_2019_225
61. Fiorucci S, Biagioli M, Zampella A, Distrutti E. Bile Acids Activated Receptors Regulate Innate Immunity. *Front Immunol.* 2018;9:1853. Published 2018 Aug 13. doi:10.3389/fimmu.2018.01853
62. Chiang JYL, Ferrell JM. Bile Acids as Metabolic Regulators and Nutrient Sensors. *Annu Rev Nutr.* 2019;39:175-200. doi:10.1146/annurev-nutr-082018-124344
63. Stellaard F, Lütjohann D. Dynamics of the enterohepatic circulation of bile acids in healthy humans. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2021;321(1):G55-G66. doi:10.1152/ajpgi.00476.2020
64. van de Peppel IP, Verkade HJ, Jonker JW. Metabolic consequences of ileal interruption of the enterohepatic circulation of bile acids. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2020;319(5):G619-G625. doi:10.1152/ajpgi.00308.2020
65. Quinn RA, Melnik AV, Vrbanc A, Fu T, Patras KA, Christy MP, et al. Global chemical effects of the microbiome include new bile-acid conjugations. *Nature.* 2020;579:123–9. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2047-9>.

66. Guzior DV, Quinn RA. Review: microbial transformations of human bile acids. *Microbiome*. 2021;9(1):140. Published 2021 Jun 14. doi:10.1186/s40168-021-01101-1
67. Poland JC, Flynn CR. Bile Acids, Their Receptors, and the Gut Microbiota. *Physiology (Bethesda)*. 2021;36(4):235-245. doi:10.1152/physiol.00028.2020
68. Ridlon JM, Harris SC, Bhowmik S, Kang DJ, Hylemon PB. Consequences of bile salt biotransformations by intestinal bacteria. *Gut Microbes*. 2016:22–39 Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/19490976.2015.1127483>.
69. Larabi AB, Masson HLP, Bäumlér AJ. Bile acids as modulators of gut microbiota composition and function. *Gut Microbes*. 2023;15(1):2172671. doi:10.1080/19490976.2023.2172671
70. Vitek L, Haluzík M. The role of bile acids in metabolic regulation. *J Endocrinol*. 2016;228(3):R85-R96. doi:10.1530/JOE-15-0469
71. Joyce SA, Gahan CG. Bile Acid Modifications at the Microbe-Host Interface: Potential for Nutraceutical and Pharmaceutical Interventions in Host Health. *Annu Rev Food Sci Technol*. 2016;7:313-333. doi:10.1146/annurev-food-041715-033159
72. Fogelson KA, Dorrestein PC, Zarrinpar A, Knight R. The Gut Microbial Bile Acid Modulation and Its Relevance to Digestive Health and Diseases [published correction appears in *Gastroenterology*. 2023 Nov 3;:]. *Gastroenterology*. 2023;164(7):1069-1085. doi:10.1053/j.gastro.2023.02.022
73. An C, Chon H, Ku W, et al. Bile Acids: Major Regulator of the Gut Microbiome. *Microorganisms*. 2022;10(9):1792. Published 2022 Sep 6. doi:10.3390/microorganisms10091792
74. Buffie CG, Bucci V, Stein RR, et al. Precision microbiome reconstitution restores bile acid mediated resistance to *Clostridium difficile*. *Nature*. 2015;517(7533):205-208. doi:10.1038/nature13828

75. Inagaki T, Moschetta A, Lee YK, et al. Regulation of antibacterial defense in the small intestine by the nuclear bile acid receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(10):3920-3925. doi:10.1073/pnas.0509592103
76. Murakami Y, Tanabe S, Suzuki T. High-fat Diet-induced Intestinal Hyperpermeability is Associated with Increased Bile Acids in the Large Intestine of Mice. *J Food Sci*. 2016;81(1):H216-H222. doi:10.1111/1750-3841.13166
77. Collins SL, Stine JG, Bisanz JE, Okafor CD, Patterson AD. Bile acids and the gut microbiota: metabolic interactions and impacts on disease. *Nat Rev Microbiol*. 2023;21(4):236-247. doi:10.1038/s41579-022-00805-x
78. Li T, Chiang JYL. Bile Acid Metabolism in Health and Disease. In *The Liver* (eds I.M. Arias, H.J. Alter, J.L. Boyer, D.E. Cohen, D.A. Shafritz, S.S. Thorgeirsson and A.W. Wolkoff). 2020; 269-285. <https://doi.org/10.1002/9781119436812.ch23>
79. Di Ciaula A, Bonfrate L, Khalil M, Portincasa P. The interaction of bile acids and gut inflammation influences the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Intern Emerg Med*. 2023;18(8):2181-2197. doi:10.1007/s11739-023-03343-3
80. Karlov DS, Long SL, Zeng X, et al. Characterization of the mechanism of bile salt hydrolase substrate specificity by experimental and computational analyses. *Structure*. 2023;31(5):629-638.e5. doi:10.1016/j.str.2023.02.014
81. Song Z, Cai Y, Lao X, et al. Taxonomic profiling and populational patterns of bacterial bile salt hydrolase (BSH) genes based on worldwide human gut microbiome. *Microbiome*. 2019;7(1):9. Published 2019 Jan 23. doi:10.1186/s40168-019-0628-3
82. Jones B, Begley M, Hill C, Gahan CGM, Marchesi JR. Functional and comparative metagenomic analysis of bile salt hydrolase activity in the human gut microbiome. *Proceedings of the National Academy of Sciences [Internet]* 2008; 105:13580–13585.

83. Tian Y, Gui W, Koo I, et al. The microbiome modulating activity of bile acids. *Gut Microbes*. 2020;11(4):979-996. doi:10.1080/19490976.2020.1732268
84. Song Z, Feng S, Zhou X, Song Z, Li J, Li P. Taxonomic Identification of Bile Salt Hydrolase-Encoding Lactobacilli: Modulation of the Enterohepatic Bile Acid Profile. *iMeta*. 2023;2:e128. <https://doi.org/10.1002/imt2.128>.
85. Foley MH, O'Flaherty S, Barrangou R, Theriot CM. Bile salt hydrolases: Gatekeepers of bile acid metabolism and host-microbiome crosstalk in the gastrointestinal tract. *PLoS Pathog*. 2019;15(3):e1007581. Published 2019 Mar 7. doi:10.1371/journal.ppat.1007581
86. Hernández-Gómez JG, López-Bonilla A, Trejo-Tapia G, Ávila-Reyes SV, Jiménez-Aparicio AR, Hernández-Sánchez H. In Vitro Bile Salt Hydrolase (BSH) Activity Screening of Different Probiotic Microorganisms. *Foods*. 2021;10(3):674. Published 2021 Mar 22. doi:10.3390/foods10030674
87. Rosas-Plaza S, Hernández-Terán A, Navarro-Díaz M, Escalante AE, Morales-Espinosa R, Cerritos R. Human Gut Microbiome Across Different Lifestyles: From Hunter-Gatherers to Urban Populations. *Front Microbiol*. 2022;13:843170. Published 2022 Apr 26. doi:10.3389/fmicb.2022.843170
88. Gupta VK, Paul S, Dutta C. Geography, Ethnicity or Subsistence-Specific Variations in Human Microbiome Composition and Diversity. *Front Microbiol*. 2017;8:1162. Published 2017 Jun 23. doi:10.3389/fmicb.2017.01162
89. Shoemaker WR, Chen D, Garud NR. Comparative Population Genetics in the Human Gut Microbiome. *Genome Biol Evol*. 2022;14(1):evab116. doi:10.1093/gbe/evab116
90. Jia B, Park D, Hahn Y, Jeon CO. Metagenomic analysis of the human microbiome reveals the association between the abundance of gut bile salt hydrolases and host health. *Gut Microbes*. 2020 Sep 2;11(5):1300-1313. doi: 10.1080/19490976.2020.1748261.
91. Yao L, Seaton SC, Ndousse-Fetter S, et al. A selective gut bacterial bile salt hydrolase alters host metabolism. *Elife*. 2018;7:e37182. Published 2018 Jul 17. doi:10.7554/eLife.37182

- 92.Labbé A, Ganopolsky JG, Martoni CJ, Prakash S, Jones ML. Bacterial bile metabolising gene abundance in Crohn's, ulcerative colitis and type 2 diabetes metagenomes. *PLoS One*. 2014 Dec 17;9(12):e115175. doi: 10.1371/journal.pone.0115175.
- 93.Du L, Zhang Z, Zhai L, et al. Altered gut microbiota-host bile acid metabolism in IBS-D patients with liver depression and spleen deficiency pattern. *Chin Med*. 2023;18(1):87. Published 2023 Jul 19. doi:10.1186/s13020-023-00795-9
- 94.Lee SM, Kim N, Yoon H, et al. Compositional and Functional Changes in the Gut Microbiota in Irritable Bowel Syndrome Patients. *Gut Liver*. 2021;15(2):253-261. doi:10.5009/gnl19379
- 95.Joyce SA, MacSharry J, Casey PG, et al. Regulation of host weight gain and lipid metabolism by bacterial bile acid modification in the gut. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111(20):7421-7426. doi:10.1073/pnas.1323599111
- 96.Khodakivskyi PV, Lauber CL, Yevtodiyenko A, et al. Noninvasive imaging and quantification of bile salt hydrolase activity: From bacteria to humans. *Sci Adv*. 2021;7(6):eaaz9857. Published 2021 Feb 3. doi:10.1126/sciadv.aaz9857
- 97.Duboc H, Rajca S, Rainteau D, et al. Connecting dysbiosis, bile-acid dysmetabolism and gut inflammation in inflammatory bowel diseases. *Gut*. 2013;62(4):531-539. doi:10.1136/gutjnl-2012-302578
- 98.Kim NH, Park JH, Park JS, Joung YH. The Effect of Deoxycholic Acid on Secretion and Motility in the Rat and Guinea Pig Large Intestine. *J Neurogastroenterol Motil*. 2017;23(4):606-615. doi:10.5056/jnm16201
- 99.Ticho AL, Malhotra P, Dudeja PK, Gill RK, Alrefai WA. Bile Acid Receptors and Gastrointestinal Functions. *Liver Res*. 2019;3(1):31-39. doi:10.1016/j.livres.2019.01.001
100. Mekjian HS, Phillips SF, Hofmann AF. Colonic secretion of water and electrolytes induced by bile acids: perfusion studies in man. *J Clin Invest*. 1971;50(8):1569-1577. doi:10.1172/JCI106644
101. Keely SJ, Scharl MM, Bertelsen LS, Hagey LR, Barrett KE, Hofmann AF. Bile acid-induced secretion in polarized monolayers of T84 colonic epithelial

- cells: structure-activity relationships. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007;292:G290-G297.
102. Keating N, Mroz MS, Scharl MM, et al. Physiological concentrations of bile acids down-regulate agonist induced secretion in colonic epithelial cells. *J Cell Mol Med* 2009;13(8B):2293-2303.
 103. Kelly OB, Mroz MS, Ward JB, et al. Ursodeoxycholic acid attenuates colonic epithelial secretory function. *J Physiol.* 2013;591(9):2307-2318. doi:10.1113/jphysiol.2013.252544.
 104. Ao M, Domingue JC, Khan N, et al. Lithocholic acid attenuates cAMP-dependent Cl⁻ secretion in human colonic epithelial T84 cells. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2016;310(11):C1010-C1023. doi:10.1152/ajpcell.00350.2015
 105. Calzadilla N, Comiskey SM, Dudeja PK, Saksena S, Gill RK, Alrefai WA. Bile acids as inflammatory mediators and modulators of intestinal permeability. *Front Immunol.* 2022;13:1021924. Published 2022 Dec 7. doi:10.3389/fimmu.2022.1021924
 106. Duboc H, Tolstanova G, Yuan PQ, et al. Reduction of epithelial secretion in male rat distal colonic mucosa by bile acid receptor TGR5 agonist, INT-777: role of submucosal neurons. *Neurogastroenterol Motil.* 2016;28(11):1663-1676. doi:10.1111/nmo.12866
 107. Chiang JYL, Ferrell JM. Bile acid receptors FXR and TGR5 signaling in fatty liver diseases and therapy. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2020;318(3):G554-G573. doi:10.1152/ajpgi.00223.2019
 108. Poole DP, Godfrey C, Cattaruzza F, et al. Expression and function of the bile acid receptor GpBAR1 (TGR5) in the murine enteric nervous system. *Neurogastroenterol Motil.* 2010;22(7):814-e228. doi:10.1111/j.1365-2982.2010.01487.x
 109. Sorrentino G, Perino A, Yildiz E, et al. Bile Acids Signal via TGR5 to Activate Intestinal Stem Cells and Epithelial Regeneration. *Gastroenterology.* 2020;159(3):956-968.e8. doi:10.1053/j.gastro.2020.05.067

110. Alemi F, Poole DP, Chiu J, et al. The receptor TGR5 mediates the prokinetic actions of intestinal bile acids and is required for normal defecation in mice. *Gastroenterology*. 2013;144(1):145-154. doi:10.1053/j.gastro.2012.09.055
111. Lund ML, Egerod KL, Engelstoft MS, et al. Enterochromaffin 5-HT cells - A major target for GLP-1 and gut microbial metabolites. *Mol Metab*. 2018;11:70-83. doi:10.1016/j.molmet.2018.03.004
112. Bampton PA, Dinning PG, Kennedy ML, Lubowski DZ, Cook IJ. The proximal colonic motor response to rectal mechanical and chemical stimulation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2002;282(3):G443-G449. doi:10.1152/ajpgi.00194.2001
113. Kirwan WO, Smith AN, Mitchell WD, Falconer JD, Eastwood MA. Bile acids and colonic motility in the rabbit and the human. *Gut*. 1975;16(11):894-902. doi:10.1136/gut.16.11.894
114. Rao AS, Wong BS, Camilleri M, et al. Chenodeoxycholate in females with irritable bowel syndrome-constipation: a pharmacodynamic and pharmacogenetic analysis. *Gastroenterology*. 2010;139(5):1549-1558.e1. doi:10.1053/j.gastro.2010.07.052
115. Li WT, Luo QQ, Wang B, et al. Bile acids induce visceral hypersensitivity via mucosal mast cell-to-nociceptor signaling that involves the farnesoid X receptor/nerve growth factor/transient receptor potential vanilloid 1 axis. *FASEB J*. 2019;33(2):2435-2450. doi:10.1096/fj.201800935RR
116. Castro J, Harrington AM, Lieu T, et al. Activation of pruritogenic TGR5, MrgprA3, and MrgprC11 on colon-innervating afferents induces visceral hypersensitivity. *JCI Insight*. 2019;4(20):e131712. Published 2019 Oct 17. doi:10.1172/jci.insight.131712
117. Camilleri M, Vijayvargiya P. The Role of Bile Acids in Chronic Diarrhea. *Am J Gastroenterol*. 2020;115(10):1596-1603. doi:10.14309/ajg.0000000000000696

118. Camilleri M, BouSaba J. New Developments in Bile Acid Diarrhea. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*. 2023;19(9):520-537.
119. Qie D, Zhang Y, Gong X, et al. SLC10A2 deficiency-induced congenital chronic bile acid diarrhea and stunting. *Mol Genet Genomic Med*. 2021;9(8):e1740. doi:10.1002/mgg3.1740
120. Camilleri M, Carlson P, BouSaba J, et al. Comparison of biochemical, microbial and mucosal mRNA expression in bile acid diarrhoea and irritable bowel syndrome with diarrhoea. *Gut*. 2023;72(1):54-65. doi:10.1136/gutjnl-2022-327471
121. Ticho AL, Malhotra P, Dudeja PK, Gill RK, Alrefai WA. Intestinal Absorption of Bile Acids in Health and Disease. *Compr Physiol*. 2019;10(1):21-56. Published 2019 Dec 18. doi:10.1002/cphy.c190007
122. Yang D, Lyu C, He K, Pang K, Guo Z, Wu D. Bile Acid Diarrhea: From Molecular Mechanisms to Clinical Diagnosis and Treatment in the Era of Precision Medicine. *Int J Mol Sci*. 2024;25(3):1544. Published 2024 Jan 26. doi:10.3390/ijms25031544
123. Chang C, Jiang J, Sun R, Wang S, Chen H. Downregulation of Serum and Distal Ileum Fibroblast Growth Factor19 in Bile Acid Diarrhoea Patients. *Dig Dis Sci*. 2022;67(3):872-879. doi:10.1007/s10620-021-07042-x
124. Yde J, Borg J, Fenton RA, Moeller HB. Altered expression of aquaporin water channels in a rat model of chronic diarrhea due to bile acid malabsorption. *The FASEB Journal*. 2017. 31 S1703.14 703.14
125. Camilleri M. Bile acid detergency: permeability, inflammation, and effects of sulfation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2022;322(5):G480-G488. doi:10.1152/ajpgi.00011.2022
126. Magnus Y, BouSaba J, Sannaa W, McKinzie S, Busciglio I, Camilleri M. Bile Acid Diarrhea Is Associated With Increased Intestinal Permeability Compared With Irritable Bowel Syndrome-Diarrhea. *Gastroenterology*. 2022;162(4):1343-1345.e1. doi:10.1053/j.gastro.2021.12.243

127. Sagar NM, Duboc H, Kay GL, et al. The pathophysiology of bile acid diarrhoea: differences in the colonic microbiome, metabolome and bile acids. *Sci Rep.* 2020;10(1):20436. Published 2020 Nov 24. doi:10.1038/s41598-020-77374-7
128. Kårhus ML, Sonne DP, Thomasen M, Ellegaard A-M, Holst JJ, Rehfeld JF et al. Enterohepatic, gluco-metabolic, and gut microbial characterization of individuals with bile acid malabsorption. *Gastro Hep Advances.* 2022;1(3):299-312. <https://doi.org/10.1016/j.gastha.2021.12.007>
129. Xu Y, Jing H, Wang J, et al. Disordered Gut Microbiota Correlates With Altered Fecal Bile Acid Metabolism and Post-cholecystectomy Diarrhea. *Front Microbiol.* 2022;13:800604. Published 2022 Feb 18. doi:10.3389/fmicb.2022.800604
130. Kumar A, Quraishi MN, Al-Hassi HO, et al. The analysis of gut microbiota in patients with bile acid diarrhoea treated with colesevelam. *Front Microbiol.* 2023;14:1134105. Published 2023 Mar 17. doi:10.3389/fmicb.2023.1134105
131. Camilleri M. BAD on the Runs: Improved Diagnosis of Idiopathic Bile Acid Diarrhea. *Dig Dis Sci.* 2022;67(3):745-747. doi:10.1007/s10620-021-07044-9
132. Vijayvargiya P, Gonzalez Izundegui D, Calderon G, Tawfic S, Batbold S, Camilleri M. Fecal Bile Acid Testing in Assessing Patients With Chronic Unexplained Diarrhea: Implications for Healthcare Utilization. *Am J Gastroenterol.* 2020;115(7):1094-1102. doi:10.14309/ajg.0000000000000637
133. Weaver MJ, McHenry SA, Sayuk GS, Gyawali CP, Davidson NO. Bile Acid Diarrhea and NAFLD: Shared Pathways for Distinct Phenotypes. *Hepatol Commun.* 2020;4(4):493-503. Published 2020 Feb 9. doi:10.1002/hep4.1485
134. Lyutakov I, Ursini F, Penchev P, et al. Methods for diagnosing bile acid malabsorption: a systematic review. *BMC Gastroenterol.* 2019;19(1):185. Published 2019 Nov 14. doi:10.1186/s12876-019-1102-1

135. Hughes LE, Ford C, Brookes MJ, Gama R. Bile acid diarrhoea: Current and potential methods of diagnosis. *Ann Clin Biochem.* 2021;58(1):22-28. doi:10.1177/0004563220966139
136. National Institute for Health and Care Excellence. SeHCAT (tauroselcholic [75 selenium] acid) for diagnosing bile acid diarrhoea [Internet]. [London]: NICE; 2021 [cited 2023 Dec 12]. (Diagnostics guidance [DG44]). Available from: <https://www.nice.org.uk/guidance/dg44>.
137. Arasaradnam RP, Brown S, Forbes A, et al. Guidelines for the investigation of chronic diarrhoea in adults: British Society of Gastroenterology, 3rd edition. *Gut.* 2018;67(8):1380-1399. doi:10.1136/gutjnl-2017-315909
138. Smalley W, Falck-Ytter C, Carrasco-Labra A, Wani S, Lytvyn L, Falck-Ytter Y. AGA Clinical Practice Guidelines on the Laboratory Evaluation of Functional Diarrhea and Diarrhea-Predominant Irritable Bowel Syndrome in Adults (IBS-D). *Gastroenterology.* 2019;157(3):851-854. doi:10.1053/j.gastro.2019.07.004
139. Ní Dhonnabháin R, Xiao Q, O'Malley D. Aberrant Gut-To-Brain Signaling in Irritable Bowel Syndrome - The Role of Bile Acids. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021;12:745190. Published 2021 Nov 30. doi:10.3389/fendo.2021.745190
140. Han L, Zhao L, Zhou Y, et al. Altered metabolome and microbiome features provide clues in understanding irritable bowel syndrome and depression comorbidity. *ISME J.* 2022;16(4):983-996. doi:10.1038/s41396-021-01123-5
141. Vijayvargiya P, Camilleri M, Burton D, Busciglio I, Lueke A, Donato LJ. Bile and fat excretion are biomarkers of clinically significant diarrhoea and constipation in irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther.* 2019;49(6):744-758. doi:10.1111/apt.15106
142. Jacobs JP, Lagishetty V, Hauer MC, et al. Multi-omics profiles of the intestinal microbiome in irritable bowel syndrome and its bowel habit subtypes. *Microbiome.* 2023;11(1):5. Published 2023 Jan 10. doi:10.1186/s40168-022-01450-5

143. Wei W, Wang HF, Zhang Y, Zhang YL, Niu BY, Yao SK. Altered metabolism of bile acids correlates with clinical parameters and the gut microbiota in patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol*. 2020;26(45):7153-7172. doi:10.3748/wjg.v26.i45.7153
144. Vijayvargiya P, Busciglio I, Burton D, Donato L, Lueke A, Camilleri M. Bile Acid Deficiency in a Subgroup of Patients With Irritable Bowel Syndrome With Constipation Based on Biomarkers in Serum and Fecal Samples. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2018;16(4):522-527. doi:10.1016/j.cgh.2017.06.039
145. Kamp KJ, Cain KC, Utleg A, et al. Bile Acids and Microbiome Among Individuals With Irritable Bowel Syndrome and Healthy Volunteers. *Biol Res Nurs*. 2021;23(1):65-74. doi:10.1177/1099800420941255
146. Peleman C, Camilleri M, Busciglio I, Burton D, Donato L, Zinsmeister AR. Colonic Transit and Bile Acid Synthesis or Excretion in Patients With Irritable Bowel Syndrome-Diarrhea Without Bile Acid Malabsorption. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2017;15(5):720-727.e1. doi:10.1016/j.cgh.2016.11.012
147. Jeffery IB, Das A, O'Herlihy E, et al. Differences in Fecal Microbiomes and Metabolomes of People With vs Without Irritable Bowel Syndrome and Bile Acid Malabsorption. *Gastroenterology*. 2020;158(4):1016-1028.e8. doi:10.1053/j.gastro.2019.11.301
148. Camilleri M, Busciglio I, Acosta A, et al. Effect of increased bile acid synthesis or fecal excretion in irritable bowel syndrome-diarrhea. *Am J Gastroenterol*. 2014;109(10):1621-1630. doi:10.1038/ajg.2014.215
149. Wei W, Wang H, Zhang Y, et al. Faecal bile acids and colonic bile acid membrane receptor correlate with symptom severity of diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome: A pilot study. *Dig Liver Dis*. 2021;53(9):1120-1127. doi:10.1016/j.dld.2021.04.022
150. James SC, Fraser K, Young W, et al. Concentrations of Fecal Bile Acids in Participants with Functional Gut Disorders and Healthy Controls. *Metabolites*. 2021;11(9):612. Published 2021 Sep 9. doi:10.3390/metabo11090612.

151. Jackson A, Lalji A, Kabir M, et al. The efficacy of a low-fat diet to manage the symptoms of bile acid malabsorption - outcomes in patients previously treated for cancer. *Clin Med (Lond)*. 2017;17(5):412-418. doi:10.7861/clinmedicine.17-5-412
152. <http://www.drlz.com.ua/ibp/ddsite.nsf/all/shlz1?opendocument&style=B0BEFD182C009917C2258704003A1179>
153. Camilleri M, Nord SL, Burton D, et al. Randomised clinical trial: significant biochemical and colonic transit effects of the farnesoid X receptor agonist tropifexor in patients with primary bile acid diarrhoea. *Aliment Pharmacol Ther*. 2020;52(5):808-820. doi:10.1111/apt.15967
154. BouSaba J, Torres M, Dilmaghani S, Harmsen WS, Ling L, Camilleri M. Effects of FGF19 Analogue Aldafermin in Patients With Bile Acid Diarrhea: A Randomized, Placebo-Control Trial. *Gastroenterology*. 2023;165(2):499-501.e4. doi:10.1053/j.gastro.2023.04.007
155. Vijayvargiya P, Breen-Lyles M, Nord SL, et al. Safety and Efficacy of Eluxadoline in Patients with Irritable Bowel Syndrome-Diarrhea With or Without Bile Acid Diarrhea: Open-Label Study. *Dig Dis Sci*. 2022;67(8):3911-3921. doi:10.1007/s10620-022-07379-x
156. Kårhus ML, Brønden A, Forman JL, et al. Safety and efficacy of liraglutide versus colesevelam for the treatment of bile acid diarrhoea: a randomised, double-blind, active-comparator, non-inferiority clinical trial. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2022;7(10):922-931. doi:10.1016/S2468-1253(22)00198-4
157. Hillman EBM, Rijpkema S, Carson D, Arasaradnam RP, Wellington EMH, Amos GCA. Manipulating the Microbiome: An Alternative Treatment for Bile Acid Diarrhoea. *Microbiology Research*. 2021; 12(2):335-353. <https://doi.org/10.3390/microbiolres12020023>
158. Boonma P, Shapiro JM, Hollister EB, et al. Probiotic VSL#3 Treatment Reduces Colonic Permeability and Abdominal Pain Symptoms in Patients With

- Irritable Bowel Syndrome. *Front Pain Res (Lausanne)*. 2021;2:691689. Published 2021 Sep 22. doi:10.3389/fpain.2021.691689
159. Acosta A, Camilleri M, Shin A, et al. Effects of Rifaximin on Transit, Permeability, Fecal Microbiome, and Organic Acid Excretion in Irritable Bowel Syndrome. *Clin Transl Gastroenterol*. 2016;7(5):e173. Published 2016 May 26. doi:10.1038/ctg.2016.32
 160. Engsbro AL, Begtrup LM, Hastrup P, et al. A positive diagnostic strategy is safe and saves endoscopies in patients with irritable bowel syndrome: A five-year follow-up of a randomized controlled trial. *Neurogastroenterol Motil*. 2021;33(3):e14004. doi:10.1111/nmo.14004
 161. Polishchuk S, Neverovskyi A, Shypulin V. Alterations of bile acid metabolism in patients with functional bowel disorders: a case-control study. *Gastroenterology Review/Przegląd Gastroenterologiczny*. 2023;18(4):442-448. doi:10.5114/pg.2023.133062.
 162. Поліщук С, Неверовський А. Ефективність пробіотичних бактерій, які синтезують гідролазу солей жовчних кислот, у лікуванні синдрому подразненої кишки з діареєю. *GASTRO [інтернет]*. 22, Червень 2023 [цит. за 17, Червень 2024];57(2):108-14. доступний у: <https://gastro.zaslavsky.com.ua/index.php/journal/article/view/540>.
 163. Neverovskyi A, Polishchuk S. Modification of bile acids metabolism with multi-strain probiotic in patients with diarrhea predominant irritable bowel syndrome: a randomized study. *USMYJ [Internet]*. 2023Oct.27 [cited 2024Jun.25];142(4):55-1. Available from: <https://mmj.nmuofficial.com/index.php/journal/article/view/115>.
 164. Lembo A, Ameen VZ, Drossman DA. Irritable bowel syndrome: toward an understanding of severity. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2005;3(8):717-725. doi:10.1016/s1542-3565(05)00157-6
 165. Drossman DA. The functional gastrointestinal disorders and the Rome III process. *Gastroenterology*. 2006;130(5):1377-1390. doi:10.1053/j.gastro.2006.03.008

166. Black CJ, Ford AC. Global burden of irritable bowel syndrome: trends, predictions and risk factors. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2020;17(8):473-486. doi:10.1038/s41575-020-0286-8
167. Trindade IA, Melchior C, Törnblom H, Simrén M. Quality of life in irritable bowel syndrome: Exploring mediating factors through structural equation modelling. *J Psychosom Res*. 2022;159:110809. doi:10.1016/j.jpsychores.2022.110809
168. Drossman DA, Morris CB, Schneck S, et al. International survey of patients with IBS: symptom features and their severity, health status, treatments, and risk taking to achieve clinical benefit. *J Clin Gastroenterol*. 2009;43(6):541-550. doi:10.1097/MCG.0b013e318189a7f9
169. Camilleri M, Carlson P, Acosta A, Busciglio I. Colonic mucosal gene expression and genotype in irritable bowel syndrome patients with normal or elevated fecal bile acid excretion. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2015;309(1):G10-G20. doi:10.1152/ajpgi.00080.2015
170. Zhang T, Zhang C, Zhang J, Sun F, Duan L. Efficacy of Probiotics for Irritable Bowel Syndrome: A Systematic Review and Network Meta-Analysis. *Front Cell Infect Microbiol*. 2022;12:859967. Published 2022 Apr 1. doi:10.3389/fcimb.2022.859967
171. Tian S, Zhang H, Chen S, Wu P, Chen M. Global research progress of visceral hypersensitivity and irritable bowel syndrome: bibliometrics and visualized analysis. *Front Pharmacol*. 2023;14:1175057. Published 2023 May 2. doi:10.3389/fphar.2023.1175057
172. Li YJ, Dai C, Jiang M. Mechanisms of Probiotic VSL#3 in a Rat Model of Visceral Hypersensitivity Involves the Mast Cell-PAR2-TRPV1 Pathway. *Dig Dis Sci*. 2019;64(5):1182-1192. doi:10.1007/s10620-018-5416-6
173. Hu Z, Li M, Yao L, et al. The level and prevalence of depression and anxiety among patients with different subtypes of irritable bowel syndrome: a network meta-analysis. *BMC Gastroenterol*. 2021;21(1):23. Published 2021 Jan 7. doi:10.1186/s12876-020-01593-5

174. Bannaga A, Kelman L, O'Connor M, Pitchford C, Walters JR, Arasaradnam RP. How bad is bile acid diarrhoea: an online survey of patient-reported symptoms and outcomes. *BMJ Open Gastroenterol.* 2017;4(1):e000116. Published 2017 Jan 19. doi:10.1136/bmjgast-2016-000116
175. BouSaba J, Sannaa W, McKinzie S, et al. Impact of Bile Acid Diarrhea in Patients With Diarrhea-Predominant Irritable Bowel Syndrome on Symptoms and Quality of Life. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2022;20(9):2083-2090.e1. doi:10.1016/j.cgh.2021.11.035
176. Kumar A, Galbraith N, Al-Hassi HO, et al. The impact of treatment with bile acid sequestrants on quality of life in patients with bile acid diarrhoea. *BMC Gastroenterol.* 2022;22(1):325. Published 2022 Jul 2. doi:10.1186/s12876-022-02404-9
177. Dao VH, Hoang LB, Trinh TO, Tran TTT, Dao VL. Psychobiotics for Patients with Chronic Gastrointestinal Disorders Having Anxiety or Depression Symptoms. *J Multidiscip Healthc.* 2021;14:1395-1402. Published 2021 Jun 10. doi:10.2147/JMDH.S312316
178. Pinto-Sanchez MI, Hall GB, Ghajar K, et al. Probiotic *Bifidobacterium longum* NCC3001 Reduces Depression Scores and Alters Brain Activity: A Pilot Study in Patients With Irritable Bowel Syndrome. *Gastroenterology.* 2017;153(2):448-459.e8. doi:10.1053/j.gastro.2017.05.003
179. Sarkawi M, Raja Ali RA, Abdul Wahab N, Abdul Rathi ND, Mokhtar NM. A randomized, double-blinded, placebo-controlled clinical trial on *Lactobacillus*-containing cultured milk drink as adjuvant therapy for depression in irritable bowel syndrome. *Sci Rep.* 2024;14(1):9478. Published 2024 Apr 25. doi:10.1038/s41598-024-60029-2
180. Le Morvan de Sequeira C, Kaeber M, Cekin SE, Enck P, Mack I. The Effect of Probiotics on Quality of Life, Depression and Anxiety in Patients with Irritable Bowel Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Clin Med.* 2021;10(16):3497. Published 2021 Aug 8. doi:10.3390/jcm10163497

181. Li B, Zhang J, Chen Y, et al. Alterations in microbiota and their metabolites are associated with beneficial effects of bile acid sequestrant on icteric primary biliary Cholangitis. *Gut Microbes*. 2021;13(1):1946366. doi:10.1080/19490976.2021.1946366
182. Vijayvargiya P, Camilleri M, Carlson P, et al. Effects of Colesevelam on Bowel Symptoms, Biomarkers, and Colonic Mucosal Gene Expression in Patients With Bile Acid Diarrhea in a Randomized Trial. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2020;18(13):2962-2970.e6. doi:10.1016/j.cgh.2020.02.027
183. Camilleri M, Acosta A, Busciglio I, et al. Effect of colesvelam on faecal bile acids and bowel functions in diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther*. 2015;41(5):438-448. doi:10.1111/apt.13065
184. Jones ML, Martoni CJ, Prakash S. Cholesterol lowering and inhibition of sterol absorption by *Lactobacillus reuteri* NCIMB 30242: a randomized controlled trial. *Eur J Clin Nutr*. 2012;66(11):1234-1241. doi:10.1038/ejcn.2012.126
185. Wang L, Zhang J, Guo Z, et al. Effect of oral consumption of probiotic *Lactobacillus planatarum* P-8 on fecal microbiota, SIgA, SCFAs, and TBAs of adults of different ages. *Nutrition*. 2014;30(7-8):776-83.e1. doi:10.1016/j.nut.2013.11.018
186. Zampa A, Silvi S, Fabiani R, Morozzi G, Orpianesi C, Cresci A. Effects of different digestible carbohydrates on bile acid metabolism and SCFA production by human gut micro-flora grown in an in vitro semi-continuous culture. *Anaerobe*. 2004;10(1):19-26. doi:10.1016/j.anaerobe.2003.12.002
187. Lye HS, Kato T, Low WY, et al. *Lactobacillus fermentum* FTDC 8312 combats hypercholesterolemia via alteration of gut microbiota. *J Biotechnol*. 2017;262:75-83. doi:10.1016/j.jbiotec.2017.09.007
188. Li X, Xiao Y, Huang Y, Song L, Li M, Ren Z. *Lactobacillus gasseri* RW2014 Ameliorates Hyperlipidemia by Modulating Bile Acid Metabolism and

Gut Microbiota Composition in Rats. *Nutrients*. 2022;14(23):4945. Published 2022 Nov 22. doi:10.3390/nu14234945

189. Neverovskyi A, Chernyavskyi V, Shypulin V, et al. Modification of gut bacterial bile salt hydrolase activity and cardiovascular risk: a randomized study. *Ukrainian Scientific Medical Youth Journal*. 2020;3(117):36-45. doi: 10.32345/USMYJ.3(117).2020.36-45.

ДОДАТКИ

Додаток А

Список публікацій здобувача

1. Polishchuk S, Neverovskyi A, Shypulin V. Alterations of bile acid metabolism in patients with functional bowel disorders: a case-control study. Gastroenterology Review/Przegląd Gastroenterologiczny. 2023;18(4):442-448. doi:10.5114/pg.2023.133062. *(Автором сформовані ідея та дизайн дослідження, проводились обстеження учасників дослідження, збір, аналіз, узагальнення та статистична обробка отриманих результатів, написання манускрипту).*
2. Поліщук С, Неверовський А. Ефективність пробіотичних бактерій, які синтезують гідролазу солей жовчних кислот, у лікуванні синдрому подразненої кишки з діареєю. GASTRO [інтернет]. 22, Червень 2023 [цит. за 17, Червень 2024];57(2):108-14. доступний у: <https://gastro.zaslavsky.com.ua/index.php/journal/article/view/540>. *(Автором сформовані концепція та дизайн дослідження, проводились огляди пацієнтів, збір, обробка та аналіз результатів, написання тексту статті та його фінальне затвердження).*
3. Neverovskyi A, Polishchuk S. Modification of bile acids metabolism with multi-strain probiotic in patients with diarrhea predominant irritable bowel syndrome: a randomized study. USMYJ [Internet]. 2023Oct.27 [cited 2024Jun.25];142(4):55-1. Available from: <https://mmj.nmuofficial.com/index.php/journal/article/view/115>. *(Автором сформовані концепція та дизайн дослідження, проводились обстеження пацієнтів, збір та обробка результатів, їх аналіз та інтерпретація, написання манускрипту статті, його критична оцінка та фінальне затвердження).*

Продовження додатка А

Апробація результатів дисертації

Результати дисертаційного дослідження були представлені на наступних наукових заходах вітчизняного та міжнародного рівня: «ХІ наукова сесія Інституту гастроентерології НАМН України. Новітні технології в теоретичній та клінічній гастроентерології» (14–15 червня 2023 р., м. Дніпро, Україна) – публікація тез; «United European Gastroenterology Week 2023» (15-17 жовтня 2023 р., м. Копенгаген, Королівство Данія) – публікація тез та усна доповідь; «United European Gastroenterology Week 2024» (12-15 жовтня 2024 р., м. Відень, Австрія) – публікація тез та постерна доповідь.

Додаток Б



MEMORANDUM OF UNDERSTANDING



BETWEEN THE

Laboratory of Bioorganic Chemistry and Molecular Imaging (LCBIM)

Institute of Chemical Sciences and Engineering (ISIC)

École polytechnique fédérale de Lausanne (EPFL), Lausanne, Switzerland

AND THE

Department of Internal Medicine #1

Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

In line with the development of friendly international cooperation in accordance with our mutual interests in developing programs of academic and scholarly exchanges and for the purpose of establishing a long-term mutually beneficial association, **LCBIM** and **Department of Internal Medicine #1** join in the following MOU. Both parties agree to exercise their best efforts to develop the following forms of cooperation:

1. Establish ties of friendship and cooperation.
2. Promote mutual understanding, academic collaboration, cultural and personnel exchanges.
3. Work toward more formal, complex, and binding agreements.

Both **LCBIM** and **Department of Internal Medicine #1** are committed to working together to develop specific agreements on the points above. These agreements will provide logistical and management details appropriate to the successful operation of the program. These agreements will fulfill the spirit and purpose of this general MOU.

Professor **Goun E.**, head of the
**Laboratory of Bioorganic Chemistry
and Molecular Imaging,**
Institute of Chemical Sciences and
Engineering (ISIC), EPFL,
Lausanne, Switzerland

Professor **Shypulin V.P.**, head of the
Department of Internal Medicine #1,
Bogomolets National Medical
University, Kyiv, Ukraine

Lausanne, 14.05.2018
(PLACE) (DATE)

(SIGNATURE)

Kyiv, 8 MAY 2018
(PLACE) (DATE)

(SIGNATURE)

Додаток В



Товариство з обмеженою відповідальністю

«ГАСТРОЦЕНТР»

ЄДРПОУ 41181858

03143, м. Київ, вул. Метрологічна, буд. № 17/1

Телефон / факс +38(044) 503-50-03, +38(044) 391-25-05

www.olymed.ua, e-mail: office@olymed.ua



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар

ТОВ «ГАСТРОЦЕНТР»

Марина ЛІСОВЕЦЬ

«14» червня 2024 р.

Акт впровадження

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

1. **Пропозиції для впровадження:** підвищення ефективності лікування пацієнтів із синдромом подразненої кишки з діареєю на основі модифікації активності кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот (ГСЖК) та відповідної корекції обміну жовчних кислот шляхом застосування комплексного пробіотичного препарату, що містить ГСЖК-експресуючі штами *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*) та *Saccharomyces boulardii*.
2. **Ким запропоновано, адреса виконавця:** Поліщук С.П., аспірант кафедри внутрішньої медицини №1 НМУ імені О. О. Богомольця (бульв. Тараса Шевченка, 17).
3. **Джерело інформації:**
 - 1) Polishchuk S, Neverovskiy A, Shypulin V. Alterations of bile acid metabolism in patients with functional bowel disorders: a case-control study. *Gastroenterology Review/Przegląd Gastroenterologiczny*. 2023;18(4):442-448. doi:10.5114/pg.2023.133062.
 - 2) Поліщук С, Неверовський А. Ефективність пробіотичних бактерій, які синтезують гідролазу солей жовчних кислот, у лікуванні синдрому подразненої кишки з діареєю. *GASTRO* [інтернет]. 22, Червень 2023 [цит. за 17, Червень 2024];57(2):108-14. доступний у: <https://gastro.zaslavsky.com.ua/index.php/journal/article/view/540>.
 - 3) Neverovskiy A, Polishchuk S. Modification of bile acids metabolism with multi-strain probiotic in patients with diarrhea predominant irritable bowel syndrome: a randomized study. *USMYJ* [Internet]. 2023Oct.27 [cited 2024Jun.25];142(4):55-1. Available from: <https://mmj.nmuofficial.com/index.php/journal/article/view/115>.
4. **Де і коли впроваджено:** ТОВ «ГАСТРОЦЕНТР».
5. **Термін впровадження:** грудень 2023 – травень 2024.
6. **Форма впровадження:** використання матеріалів у науково-дослідній роботі, впровадження у лікувальну роботу медичного центру.

7. **Зауваження та пропозиції:** зауважень немає. Матеріали дисертаційної роботи рекомендовані для використання в клінічній практиці.

Відповідальний за впровадження
Головний лікар
ТОВ «ГАСТРОЦЕНТР»



Марина ЛІСОВЕЦЬ

Додаток Г



Акт впровадження

1. Пропозиції для впровадження.

- 1) Доцільно визначати сироваткові та фекальні рівні жовчних кислот (ЖК), а також ферментативну активність кишкової бактеріальної гідролази солей ЖК (ГСЖК) у пацієнтів із синдром подразненої кишки (СПК) з метою оцінки ймовірної мальабсорбції ЖК/діареї ЖК, ризику СПК з діареєю (СПК-Д), а також ризику недосягнення кінцевих цілей лікування СПК-Д.
- 2) Для відбору вірогідно більш ефективних пробіотичних бактерій в контексті модифікації обміну ЖК при лікуванні СПК-Д слід попередньо оцінювати активність ГСЖК відповідних пробіотичних препаратів.
- 3) Рекомендації розглядати призначення пробіотичного препарату на основі ГСЖК-експресуючих штамів *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*) та *Saccharomyces boulardii* в якості додаткової терапії СПК-Д, в тому числі пацієнтам з ймовірною або доведеною мальабсорбцією ЖК, для симптоматичного лікування здуття та діареї. Доцільно комбінувати зазначений пробіотичний препарат та холестирамін впродовж не менше 12 тижнів для досягнення кращих результатів лікування СПК-Д.

2. Ким запропоновано, адреса виконавця: Поліщук С.П., аспірант кафедри внутрішньої медицини №1 НМУ імені О. О. Богомольця (бульв. Тараса Шевченка, 17).

3. Джерело інформації:

- 1) Polishchuk S, Neverovskiy A, Shypulin V. Alterations of bile acid metabolism in patients with functional bowel disorders: a case-control study. *Gastroenterology Review/Przegląd Gastroenterologiczny*. 2023;18(4):442-448. doi:10.5114/pg.2023.133062.
- 2) Поліщук С, Неверовський А. Ефективність пробіотичних бактерій, які синтезують гідролазу солей жовчних кислот, у лікуванні синдрому подразненої кишки з діареєю. *GASTRO* [інтернет]. 22, Червень 2023 [цит. за 17, Червень 2024];57(2):108-14. доступний у: <https://gastro.zaslavsky.com.ua/index.php/journal/article/view/540>.
- 3) Neverovskiy A, Polishchuk S. Modification of bile acids metabolism with multi-strain probiotic in patients with diarrhea predominant irritable bowel syndrome: a randomized study. *USMYJ* [Internet]. 2023Oct.27 [cited 2024Jun.25];142(4):55-1. Available from: <https://mmj.nmuofficial.com/index.php/journal/article/view/115>.
4. Де і коли впроваджено: кафедра внутрішньої медицини №1 НМУ імені О. О. Богомольця
5. Термін впровадження: листопад 2023 – червень 2024.
6. Форма впровадження: використання матеріалів у науково-дослідній роботі, впровадження у лікувальну роботу та навчальний процес кафедри внутрішньої медицини №1, в тому числі в навчальні плани лікарів-інтернів.
7. Зауваження та пропозиції: зауважень немає. Матеріали дисертаційної роботи рекомендовані для використання в клінічній практиці та навчальному процесі на кафедрі внутрішньої медицини №1.

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

В. П. Шипулін