

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

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

КУЗЬМІНЕЦЬ АНДРІЙ АНАТОЛІЙОВИЧ

УДК 616.72-018.3-007.24-008-085.065:616.34-07

ДИСЕРТАЦІЯ

**ДІАГНОСТИЧНІ МОЖЛИВОСТІ НЕІНВАЗИВНИХ БІОМАРКЕРІВ ПРИ
МЕДИКАМЕНТОЗНИХ УРАЖЕННЯХ КИШКОВИКА У ХВОРИХ НА
ОСТЕОАРТРИТ**

Галузь знань 22 Охорона здоров'я
Спеціальність 222 Медицина

Подається на здобуття наукового ступеня доктор філософії

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

_____ А.А. Кузьмінець

Науковий керівник (консультант) Губська Олена Юріївна, доктор медичних
наук, професор

Київ – 2021

АНОТАЦІЯ

Кузьмінець А.А. Діагностичні можливості неінвазивних біомаркерів при медикаментозних ураженнях кишковика у хворих на остеоартрит.

– Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 22 «Охорона здоров'я», за спеціальністю 222 – «Медицина».

– Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, 2021.

Зміст анотації

Дана дисертаційна робота присвячена вивченню діагностичних можливостей неінвазивних біомаркерів при медикаментозних ураженнях кишковика у хворих на остеоартрит. Остеоартрит (ОА) – найрозповсюдженіше захворювання опорно-рухового апарату. Він є потенційно інвалідизуючим захворюванням та асоціюється з вищою частотою смертності ніж у аналогічній популяції без симптоматики ОА [1]. Також, він асоційований з вищою частотою захворювань шлунково-кишкового тракту (ШКТ), що, переважно, пов'язане з частим застосуванням цими пацієнтами нестероїдних протизапальних препаратів (НПЗП) [2]. НПЗП-індуковані ураження нижніх відділів ШКТ, за даними літератури, є не менш розповсюдженими, ніж ураження верхніх відділів, найчастіше, безсимптомними [3], і можуть призводити до мальабсорбції та нутрієнтної недостатності, хронічної втрати білку та крововтрати, а також, у тяжких випадках, до різних видів кишкової непрохідності [3]. На теперішній час не існує загальноприйнятих неінвазивних маркерів НПЗП-індукованих уражень кишковика, а «золотим стандартом» діагностики НПЗП-ентеро- та колопатій є інвазивні дослідження – відеокапсульна ендоскопія та колоноскопія відповідно. При цьому, НПЗП-індуковані ураження нижніх відділів ШКТ, на відміну від верхніх, є набагато менш вивченими, і не мають загальноприйнятих рекомендацій щодо їх лікування та профілактики [4].

У даній дисертаційній роботі вивчено можливість використання неінвазивних показників – фекальних біомаркерів кальпротектину, секреторного імуноглобуліну А та комплексу «гемоглобін/гаптоглобін» у діагностиці НПЗП-індукованих уражень кишковика, а також вивчено зміни кишкового мікробіому, асоційовані з такими ушкодженнями.

Мета дослідження. Удосконалення діагностики медикаментозних уражень кишковика у хворих на остеоартрит шляхом вивчення діагностичних можливостей неінвазивних фекальних біомаркерів таких уражень.

Завдання дослідження:

1. Вивчити розповсюдженість та структуру змін фекальних біомаркерів запалення (фекальних – кальпротектину, секреторного імуноглобуліну А, комплексу «гемоглобін/гаптоглобін») у пацієнтів, які хворіють на остеоартрит.

2. Вивчити особливості змін показників складу фекального мікробіому (ФМ) як неінвазивного маркера уражень кишковика у хворих на остеоартрит, а також встановити наявність зв'язку між складом ФМ та лабораторними показниками запалення кишкової стінки.

3. Дослідити зв'язок між прийомом НПЗП різного ступеня селективності та біохімічними показниками ураження кишковика.

4. Дослідити зв'язок між прийомом НПЗП різного ступеня селективності та складом ФМ.

5. Розробити статистичну модель для прогнозування наявності НПЗП-індукованих уражень за показниками його неінвазивних біомаркерів.

Методи дослідження:

- клінічні:
 - загальноклінічне опитування (скарги, анамнез);
 - фізикальне обстеження (включаючи вимірювання антропометричних параметрів та визначення індексу маси тіла (ІМТ));
- лабораторні:

- імуноферментний аналіз ультрафільтратів калу (визначення фекального кальпротектину (ФКП), секреторного імуноглобуліну А (sIgA) та комплексу «гемоглобін/гаптоглобін» (Hb/Hp-комплекс));
- полімеразна ланцюгова реакція ультрафільтратів калу (визначення основних типів кишкової мікрофлори, класу *Gamma-proteobacteria* та виду *Akkermansia muciniphila*);
- статистичні методи обробки результатів:
 - EZR v. 1.38 (Медичний центр Saitama, Медичний університет Jichi, Японія), який є графічним інтерфейсом для R commander (The R Foundation for Statistical Computing, Австрія);
 - Office Excel 2016 (Microsoft Corporation, США).

Групи дослідження:

- Досліджувана група (1) – пацієнти, що хворіють на остеоартрит (91 особа);
 - a. Підгрупа тих, хто не приймав НПЗП (32 особи);
 - b. Підгрупа тих, хто приймав неселективні НПЗП (31 особа);
 - c. Підгрупа тих, хто приймав селективні НПЗП (28 осіб);
- Пацієнти без ознак ОА (група контролю) (30 осіб).

Основний зміст та результати:

Ми спостерігали 91 хворого на ОА різних локалізацій та ступенів, які склали дослідну групу, віком $59,61 \pm 1,56$ років. Серед пацієнтів переважали жінки (53:38). У процесі роботи, вони були поділені на 3 підгрупи за прийомом НПЗП: 1-а – ті, хто не приймали НПЗП (32 пацієнта), 2-а – ті, хто приймав неселективні НПЗП, до яких ми віднесли і «напівселективні» – оксиками та німесулід (31 пацієнт), та 3-я – ті, хто приймав селективні НПЗП – коксиби – (28%). До контрольної групи увійшли 30 осіб (17 жінок та 13 чоловіків), середній вік склав $56,10 \pm 1,94$ років (група співставна за віком і статтю з дослідною групою).

Дизайн даного дослідження був схвалений комісією з питань біоетичної експертизи та етики наукових досліджень при Національному медичному університеті імені О.О. Богомольця.

Рентгенографія уражених суглобів, а також гастроскопія та колоноскопія у пацієнтів на момент запрошення до участі у дослідженні були вже виконані, ендоскопія не показала органічної патології. Середній час від проведення нижньої ендоскопії до участі у дослідженні склав $4,3 \pm 2,1$ роки. Діагностика ОА ґрунтувалася на діагностичних критеріях American College of Rheumatology [5–7] з урахуванням подальшої модифікації [8]. Всім пацієнтам виконувалося визначення фекального вмісту кальпротектину, секреторного імуноглобуліну А, комплексу «гемоглобін/гаптоглобін», а також основних типів кишкового мікробіому, класу *Gamma-proteobacteria* та бактерії виду *Akkermansia muciniphila* у калі.

Серед локалізацій ураження суглобів переважали ураження колінних (95%), кульшових (49%) та мілких суглобів кистей (46%). За тривалістю захворювання переважали пацієнти, яким діагноз було встановлено за рік до участі у дослідженні чи менше (40%). За тривалістю прийому НПЗП обстежені розподілилися наступним чином: менш ніж 1 тиждень їх приймали 20,88% пацієнтів, 1-2 тижні – 24,18%, до 1 місяця – 4,40%, 1-2 місяці – 8,79%, 2-3 місяці – 5,49%, і понад 3 місяці – 36,26% пацієнтів; медіана тривалості прийому склала 27,5 (IQR 7-400) днів. Серед супутньої патології домінували ожиріння та артеріальна гіпертензія (35%), диспепсія (26%), патологія підшлункової залози без порушення її функції (17%) та патології щитоподібної залози та жовчного міхура (по 13%). За масою тіла, найчастіше зустрічалися особи з надлишковою масою (39,6%), дещо рідше – з нормальною масою (18,7%) та ожирінням I ступеня (17,6%). За ФНС, більшість пацієнтів мали 2 ступінь (57,1%), трохи менше – 1-й (30,8%); рентгенологічно – 57% мали 2 стадію, 27% – третю. Щодо симптомів з боку суглобового апарату – 100% хворих турбував біль, 85,7% – крепітація чи хрускіт при рухах, 78% – скутість, 70,3% – дефігурація чи деформація, суглобовий випіт – 29,67%, заклинювання при рухах – 25,28%.

Підгрупи пацієнтів статистично не відрізнялися за статевою приналежністю, віком, факторами ризику розвитку ОА, фенотипами ОА, вираженістю болю за числовою ранговою шкалою, альгофункціональним індексом Лекена чи виразністю болю в ранковий час ($p>0,05$). За частотою розвитку симптоматики з боку ШКТ, лише група неселективних НПЗП відрізнялася майже вдвічі вищою частотою болю чи дискомфорту у епігастрії (були присутні у 55% хворих цієї групи), майже у 7 разів вищою частотою печії (у 61%), майже вдвічі вищою частотою здуття (48%), в 4 рази вищою частотою діареї (45%), але нижчою – закрепи (19%). Інгібітори протонної помпи достовірно частіше вживали представники підгрупи неселективних НПЗП (46,88%), ніж ті, хто не приймали НПЗП (25,8%), $p=0,026$; між представниками підгрупи тих, хто приймав селективні НПЗП (32,14%) та двома іншими підгрупами достовірної різниці у частоті прийому ППІ не виявлено ($p>0,05$). Майже завжди препаратом цієї групи виявлявся омепразол з медіаною дози 0,04 г/добу (медіана, діапазон доз 0,02-0,04 г/добу).

В роботі було виявлено, що рівень ФКП у хворих на ОА достовірно перевищує такий у осіб контрольної групи (147,19 (IQR 132,76-161,8) мг/кг проти 20,91 (IQR 19,5-32,53) мг/кг ($p<0,001$)), по групах він розподілювався наступним чином: 68,78 (IQR 61,48-90,295) мг/кг у тих, хто не приймав НПЗП, 259,65 (IQR 234,669-294,989) мг/кг у тих, хто приймав неселективні та 111,93 (IQR 105,31-149,63) мг/кг у тих, хто приймав селективні НПЗП; виявлено статистично значущу відмінність як усіх 3-х підгруп від групи контролю, так і підгруп прийому НПЗП від підгрупи без НПЗП ($p<0,01$). У хворих на ОА достовірно більш часто відмічалися помірно підвищені рівні ФКП, у порівнянні з особами групи контролю (OR=9,692; 95% ДІ 2,363-29,560; $p<0,001$); серед пацієнтів, які не приймали НПЗП, достовірно частіше зустрічався проміжний рівень ФКП (OR=4,92; 95%ДІ 1,273-23,965; $p=0,0012$, ніж серед групи контролю; в той же час, у пацієнтів, які приймали неселективні НПЗП, у порівнянні з тими, хто не приймав НПЗП, спостерігалася достовірно вища частота виявлення підвищеного рівня ФКП (OR=9,3; 95%ДІ 2,427-45,569;

$p=0,0019$). Для перевірки НПЗП-індукованого ураження слизової оболонки як причини підвищення ФКП, після узгодження з лікуючими лікарями, ми запропонували пацієнтам, у яких ФКП був підвищеним, припинити прийом НПЗП на 2 тижні, а у разі виникнення такої потреби приймати парацетамол у дозі 0,5-1 г 1-3 рази на добу, який, як відомо, не викликає ураження кишковика. По закінченні двотижневого терміну ми знов виміряли рівень ФКП цим пацієнтам. Виявилося що у 91-го пацієнта (83,49%) рівень ФКП нормалізувався, а у 18-ти (16,51%) – залишився підвищеним. Останніх ми направили на ФКС для виключення органічної патології кишковика, відмінної від НПЗП-індукованого ураження, та виключили з дослідження. До числа хворих, описаних у даному дослідженні, вони не увійшли. Рівень фекального Нв/Нр комплексу у осіб контрольної групи склав 0,73 (IQR 0,65-0,79) мг/кг проти 4,77 (IQR 3,41-6,81) мг/кг у групи ОА. У тих, хто не приймав НПЗП, його рівень складав 1,88 (IQR 1,23-2,6) мг/кг, у тих, хто приймав неселективні НПЗП – 9,38 (IQR 7,47-13,29) мг/кг та у тих, хто приймав селективні НПЗП – 2,98 (1,34-4,62) мг/кг. Підгрупа неселективних НПЗП достовірно відрізнялася від контрольної групи та підгрупи без НПЗП, а підгрупа селективних НПЗП – від підгрупи неселективних НПЗП та контрольної групи ($p<0,05$). У хворих на ОА відмічалось підвищення рівня фекального Нв/Нр комплексу, у той час як у групі контролю його значення не перевищили поріг у 100% учасників. У тих, хто приймає неселективні НПЗП, частота виявлення підвищеного рівня фекального комплексу Нв/Нр достовірно вища, ніж у групі контролю ($p<0,001$) та ніж у групі тих, хто не приймає НПЗП (OR=4,229; 95% CI 1,288-15,289; $p=0,0097$). Рівні sIgA відрізнялися у хворих на ОА від осіб контрольної групи (1088,83 (IQR 986,0-1,291,25) мг/кг проти 593,57 (IQR 549,0-761,91) мг/кг, $p<0,01$), проте підгрупи не відрізнялися від контрольної групи та між собою ($p>0,05$).

Щодо мікробіому, вміст *Firmicutes* склав у осіб контрольної групи 66,66% (IQR 58,57-73,66), у тих, хто не приймав НПЗП – 51,47% (IQR 48,11-56,21), хто приймав неселективні – 57,21% (IQR 49,98-69,05), і тих, хто приймав

селективні НПЗП – 47,83% (IQR 32,24-52,92); відмінність підгруп від контрольної групи достовірна ($p < 0,05$), а підгрупа селективних відрізнялася й від неселективних ($p < 0,01$). Вміст *Bacteroidetes* склав, відповідно, 6,06% (IQR 3,23-8,57), 15,08% (8,03-29,21), 18,04% (IQR 9,36-17,75) та 13,50% (IQR 9,24-17,75); відмінність підгруп від контролю достовірна ($p < 0,0001$). Вміст *Actinobacteria* складав, відповідно, 12,16% (IQR 8,09-16,54), 8,41% (IQR 5,59-10,02), 7,75% (IQR 5,51-10,56) та 13,66% (IQR 13,26-14,56); достовірною була відмінність підгруп без НПЗП та неселективних НПЗП від контролю ($p < 0,01$), а підгрупи селективних НПЗП – від інших підгруп ($p < 0,0001$). Вміст «інших» представників мікрофлори склав, відповідно, 15,12% (IQR 12,10-19,57), 25,04% (IQR 19,51-34,48), 17,00% (IQR 12,54-25,69) та 25,02% (IQR 12,85-36,16) (підгрупи без НПЗП та селективних НПЗП відрізнялися від контролю ($p < 0,001$), а неселективних – від підгрупи без НПЗП ($p < 0,05$)). Співвідношення *F/B* склало, відповідно, 11,60 (IQR 6,56-20,76), 3,33 (IQR 1,79-6,74), 3,27 (IQR 2,65-5,25) та 3,65 (IQR 1,63-4,84); відмінність підгруп від групи контролю достовірна ($p < 0,0001$). Вміст класу *Gamma-proteobacteria* у тих, хто не приймав НПЗП, склав 1,44% (IQR 0,81-2,03), у тих, хто приймав неселективні – 1,96% (IQR 1,52-2,57), а тих, хто приймав селективні НПЗП – 2,19% (IQR 1,08-2,51), відмінність підгрупи неселективних від без НПЗП достовірна – $p < 0,01$; вміст бактерії виду *Akkermansia muciniphila* дорівнював, відповідно, 2,55% (IQR 1,63-4,30), 1,35% (IQR 1,20-1,64), 1,22% (IQR 0,99-1,50), достовірна відмінність підгруп, які приймали НПЗП, від підгрупи без НПЗП ($p < 0,001$). Знайдено, що хворі, які мали рівень ФКП > 50 мг/кг, мали значно нижчий вміст *Akkermansia muciniphila* ніж ті, у котрих він був нормальним (0,0021% (IQR 0-0,5407) проти 3,4127% (IQR 0,0337-4,3502), $p = 0,031$); у хворих з підвищеним (> 2 мг/кг) рівнем комплексу Нв/Нр спостерігався нижчий вміст *Bacteroidetes* (8,03 (IQR 7,36-12,86) проти 18,95 (IQR 11,63-25,27), $p = 0,007$) та вище співвідношення *F/B* (7,69 (IQR 5,47-9,33) проти 3,13 (IQR 1,79-5,16), $p = 0,009$), ніж у хворих з нормальним його рівнем.

Виявлено негативний достовірний ($p < 0,05$) зв'язок між фекальним вмістом *Firmicutes* та рентгенологічною стадією ОА ($\rho = -0,521$) та позитивний – з вмістом фекального комплексу Нб/Нр ($\rho = 0,371$), негативний зв'язок між вмістом *Bacteroidetes* та комплексу Нб/Нр ($\rho = -0,462$), позитивний кореляційний зв'язок між співвідношенням *F/B* і рівнем фекального комплексу Нб/Нр ($\rho = 0,463$) та ІМТ ($\rho = 0,455$) і з віком ($\rho = 0,562$). Знайдено достовірні ($p < 0,05$) негативний кореляційний зв'язок між вмістом *Actinobacteria* та віком хворих ($\rho = -0,300$), позитивний – між вмістом «інших» типів та рентгенологічною стадією ОА ($\rho = 0,562$) та з ІМТ ($\rho = 0,316$). Виявлено достовірні ($p < 0,05$) позитивний кореляційний зв'язок між фекальним вмістом *Gamma-proteobacteria* та рентгенологічною стадією ОА ($\rho = 0,526$) і з ІМТ ($\rho = 0,356$), а також негативний кореляційний зв'язок між вмістом *Akkermansia muciniphila* і рівнем ФКП ($\rho = -0,426$) та позитивний зв'язок між рівнем цієї бактерії і віком досліджених осіб ($\rho = 0,402$).

Розроблена нами логістична модель має вигляд $\ln(P/(1-P)) = -2,168 + 0,2986 * (\text{Нб/Нр}) + 0,0083 * \text{ФКП}$ та дозволяє прогнозувати ризик наявності НПЗП-індукованого ураження кишковика, $\text{AUC} = 0,872$ (95% ДІ 0,773-0,97), статистично значуще відрізняється від 0,5 ($p < 0,05$). Оптимальна границя прийняття рішення $P_{\text{гр}} = 0,987$. При обраному порозі прийняття рішення чутливість моделі складає 65% (95% ДІ 40,8-84,6), специфічність 90% (95% ДІ 73,5-97,9), прогностичність позитивного результату – 81,2% (95% ДІ 54,4-96), прогностичність негативного результату – 79,4% (95% ДІ 62,1-91,3).

Таким чином, нами вивчено діагностичні можливості неінвазивних фекальних біомаркерів у хворих на ОА залежно від прийому ними НПЗП та селективності цих препаратів та встановлено можливість вірогідного прогнозування наявності НПЗП-індукованих уражень кишковика за показниками його неінвазивних біомаркерів.

Наукова новизна одержаних результатів

Вперше вивчено рівні і частоту підвищення фекальних кальпротектину, секреторного імуноглобуліну А, комплексу «гемоглобін/гаптоглобін» у хворих

на ОА залежно від прийому чи не прийому ними НПЗП та селективності НПЗП. Доповнено дані щодо вмісту основних типів кишкового мікробіому (*Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, «інших» типів, співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes* (F/B)) та окремих його представників – класу *Gamma-proteobacteria* та виду *Akkermansia muciniphila* – у хворих на ОА залежно від прийому чи не прийому ними НПЗП та селективності НПЗП. Доповнено дані щодо кишкового мікробіому пацієнтів з ОА української популяції. Вперше досліджено зв'язок підвищення фекальних маркерів запалення кишковика зі складом кишкового мікробіому, а, також, їхню діагностичну цінність щодо НПЗП-індукованих уражень кишковика в неінвазивному аналізі стану кишковика у хворих на остеоартрит.

Практичне значення одержаних результатів

Доповнено дані щодо діагностичної значущості біомаркерів запалення кишковика та кишкової мікрофлори стосовно можливості неінвазивного відбору пацієнтів з необхідністю подальшого ендоскопічного обстеження. Вперше побудовано діагностичну модель для прогнозування наявності ураження кишковика на основі біохімічних фекальних маркерів. Запропоновано визначати ФКП та комплекс Нв/Нр як значущі маркери НПЗП-індукованого ураження кишковика. Надано практичні рекомендації щодо використання означених біомаркерів у діагностиці НПЗП-обумовленого ураження кишковика, його профілактики та моніторингу.

Впровадження результатів дослідження в практику. Результати наукових досліджень, викладені у дисертаційній роботі, впроваджено у навчальний процес (використано в курсі лекцій і на практичних заняттях з лікарями-інтернами на кафедрі терапії, інфекційних хвороб та дерматовенерології післядипломної освіти Національного медичного університету імені О.О. Богомольця МОЗ України), в практику кардіологічного, терапевтичних відділень №1 та 2 КМКЛ №1, відділень кардіології, терапії, хронічної внутрішньої патології, гастроентерології №1 і 2 та діагностично-лікувальному багатопрофільному відділенні внутрішньої медицини

Центрального госпіталю МВС України, а також II терапевтичного відділення КМКЛ №4.

Апробація матеріалів дисертації. Основні теоретичні та практичні положення дисертаційного дослідження доповідалися та обговорювалися на науково-практичних конференціях: VII науковій сесії Інституту гастроентерології НАМН України «Новітні технології в теоретичній та клінічній гастроентерології» (Дніпро, 13-14.06.2019 р.) та Міжнародній конференції молодих науковців (AYMSConf) 2019 (Київ, 22-24.11.2019 р.).

Апробацію дисертації проведено на міжкафедральному засіданні кафедри терапії, інфекційних хвороб та дерматовенерології післядипломної освіти Національного медичного університету імені О.О. Богомольця МОЗ України (14.05.2020 р, протокол №20).

Подяка. Ми висловлюємо вдячність компанії R-biopharm AG (Дармштадт, Німеччина) та її менеджерам, А. Buk, А. Lennerz та L. Massold, і керівнику наукового відділу, Т. van Stappen, а також ПП «Біола» як офіційному представнику R-biopharm AG в Україні та її співробітниці Л. Предземірській за надані комплекти реактивів для визначення ФКП та sIgA і за технічну підтримку у проведенні досліджень методом ІФА. Ми висловлюємо вдячність лабораторії Діаген (м. Київ) та її засновнику і науковому директору Коляді О.К. і науковому співробітнику Мосейку В.В. за матеріальну, технічну та організаційну допомогу у проведенні досліджень методом ПЛР. Ми висловлюємо вдячність Науково-дослідному інституту експериментальної та клінічної медицини та його директору, професору Натрус Л.В., за надану технічну та організаційну допомогу у проведенні досліджень методом ІФА. Ми дякуємо викладачам кафедри менеджменту охорони здоров'я, к.ф.-м.н., доценту Гур'янову В.Г. та к.мед.н., доценту Вишевецькому В.В. за знання, які вони дали у процесі навчання в аспірантурі та підтримку у обробці даних і формуванні дизайну цієї роботи.

Публікації. За темою дисертації опубліковано 6 наукових праць (з них 2 оглядові), зокрема 4 статті у наукових спеціалізованих виданнях, що внесені до

переліку фахових видань України, 1 стаття у журналі іншої держави, яка входить до Організації економічного співробітництва та розвитку і Європейського Союзу; 1 тези доповідей в матеріалах вітчизняних науково-практичних конференцій та конгресів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом комплексної науково-дослідної теми кафедри терапії, інфекційних хвороб та дерматовенерології післядипломної освіти Національного медичного університету імені О.О. Богомольця «Клініко-патогенетичне обґрунтування профілактики та лікування медикаментозних уражень кишковика у хворих на остеоартрит» (№ держреєстрації 0120U101414).

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено нове вирішення актуального завдання сучасної медицини, а саме удосконалення діагностики медикаментозних уражень кишковика у хворих на остеоартрит шляхом вивчення діагностичних можливостей неінвазивних фекальних біомаркерів таких ушкоджень.

1. У хворих на ОА виявлено достовірне підвищення ФКП (у 7 разів, $p < 0,001$), фекального Нв/Нр комплексу (у 6,5 разів, $p = 0,004$) та фекального sIgA (у 1,83 рази, $p = 0,006$), що свідчить про наявне запалення слизової оболонки кишкової стінки.

2. У хворих на ОА спостерігаються достовірно знижений вміст *Firmicutes* (у 1,29 разів, $p < 0,0001$) та *Actinobacteria* (у 1,2 рази, $p = 0,017$); підвищений вміст *Bacteroidetes* та «інших» мікроорганізмів (у 2,5 та 1,6 разів відповідно, $p < 0,01$); чотирикратне зниження співвідношення *F/B* ($p < 0,0001$). У хворих з підвищеним рівнем ФКП спостерігається знижений вміст *Akkermansia muciniphila*, а у хворих з підвищеним Нв/Нр комплексом – знижений вміст *Bacteroidetes* та підвищене співвідношення *F/B*.

3. Прийом неселективних НПЗП асоціюється з достовірно більш вираженим ушкодженням кишковика (що проявляється в 3,78 разів вищим

рівнем ФКП та в 4,99 разів вищим рівнем фекального Нв/Нр комплексу за його значення у тих, хто не приймав НПЗП), яке зменшується після відміни НПЗП. Встановлено пряму кореляцію ФКП та Нв/Нр комплексу з тривалістю прийому НПЗП ($\rho=0,455$ та $\rho=0,463$, $p<0,05$).

4. У пацієнтів, які приймали неселективні НПЗП спостерігався нижчий в 1,5 рази вміст «інших» мікроорганізмів, підвищений в 1,89 разів вміст *Gamma-proteobacteria* та знижений в 1,36 разів вміст *Akkermansia muciniphila*. У підгрупі селективних НПЗП були відсутні достовірні зміни рівнів фекальних біомаркерів у порівнянні з тими, хто не приймав НПЗП, та спостерігався підвищений вміст *Actinobacteria* (в 1,62 рази у порівнянні з таким у тих, хто не приймав НПЗП і в 1,76 з таким у тих, хто приймав неселективні НПЗП) та виду *Akkermansia muciniphila* (в 2 рази нижче за рівень у тих, хто не приймав НПЗП).

5. Наявність ураження кишковика може бути визначена на основі рівнів ФКП та фекального комплексу Нв/Нр з прогностичністю позитивного результату 81,2% та прогностичністю негативного результату 79,4%.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Для діагностики НПЗП-індукованого ураження кишковика, всім хворим на ОА, які приймають НПЗП більш ніж 2 тижні (або при появі здуття і діареї незалежно від тривалості прийому), слід визначати рівень ФКП і фекального Нв/Нр комплексу.

2. У разі підвищення ФКП вище за 50 мг/кг та фекального Нв/Нр комплексу вище за 2 мг/кг слід замінити неселективні НПЗП на високоселективні, або на парацетамол та розглянути можливість відміни НПЗП.

3. Якщо підвищення маркерів ушкодження кишковика зберігається через 2 тижні після відміни НПЗП або переведення пацієнта на парацетамол, слід направити пацієнта на колоноскопію.

Ключові слова: остеоартрит, нестероїдні протизапальні препарати, ентеропатія, колопатія, кальпротектин, секреторний імуноглобулін А, комплекс «гемоглобін/гаптоглобін», кишковий мікробіом, *Akkermansia muciniphila*.

ANNOTATION

Kuzminets A.A. The diagnostic capabilities of non-invasive biomarkers for drug-induced intestinal lesions in patients with osteoarthritis

– Qualifying dissertation research on the rights of the manuscript.

Dissertation for obtaining a Doctor of Philosophy degree, branch of knowledge - 22 «Health care», specialty - 222 «Medicine».

– O.O. Bohomolets National Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Kyiv, 2021.

Annotation content

The dissertation is devoted to the study of non-invasive biomarker diagnostic capabilities for drug - induced intestinal lesions in patients with osteoarthritis. Osteoarthritis (OA) is the most common musculoskeletal disease. It is a potentially disabling disease, associated with a higher mortality rate than in a similar population without osteoarthritis[1]. It is also associated with a higher prevalence of gastrointestinal diseases (GI), which is mainly due to the frequent use of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) by these patients [2]. According to the literature, NSAID-induced lower gastrointestinal lesions, are no less common than upper lesions, often asymptomatic [3], and can lead to malabsorption and nutrient deficiency, chronic protein loss and blood loss, and, in severe cases, to various types of intestinal obstruction. [3]. At present, there are no generally accepted non-invasive markers of NSAID-induced intestinal lesions, and the "gold standard" for the diagnosis of NSAID entero- and colopathy are invasive studies - video capsule endoscopy and colonoscopy, respectively. However, NSAID-induced lesions of the lower gastrointestinal tract, in contrast to those of the upper, are much less studied and do not have generally accepted recommendations for their treatment and prevention [4].

In the dissertation, the possibility of using non-invasive indicators is studied - fecal biomarkers of calprotectin, secretory immunoglobulin A, and

hemoglobin/haptoglobin complex - in the diagnosis of NSAID-induced intestinal lesions and changes in the intestinal microbiome associated with such lesions.

Aim of the research: Improvement of the diagnosis of drug-induced intestinal lesions in patients with osteoarthritis by studying the diagnostic capabilities of non-invasive fecal biomarkers of such lesions.

Objectives of the research:

1. To study the prevalence and structure of changes in fecal biomarkers of inflammation (fecal - calprotectin, secretory immunoglobulin A, hemoglobin/haptoglobin complex) in patients with osteoarthritis.
2. To study the peculiarities of changes in the composition of the fecal microbiome (FM) as a non-invasive marker of intestinal lesions in patients with osteoarthritis, as well as to establish the relationship between the composition of the FM and laboratory indicators of intestinal wall inflammation.
3. To investigate the relationship between the intake of NSAIDs of varying degrees of selectivity and the presence of intestinal lesions as established by biochemical indicators.
4. To investigate the relationship between the intake of NSAIDs of varying degrees of selectivity and the composition of the FM.
5. To develop a statistical model for predicting the presence of NSAID-induced lesions in terms of non-invasive biomarkers.

Methods of the research:

- clinical:
 - general clinical survey (complaints, anamnesis);
 - physical examination (including measurement of anthropometric parameters and determination of body mass index (BMI));
- laboratory:
 - enzyme-linked immunosorbent assay of fecal ultrafiltrates (determination of fecal calprotectin (FC), secretory immunoglobulin A (sIgA) and hemoglobin/haptoglobin (Hb/Hp) complex;

- polymerase chain reaction of fecal ultrafiltrates (determination of the main types of intestinal microflora, class *Gamma-proteobacteria* and species *Akkermansia muciniphila*)
- statistical methods of processing the obtained results:
 - EZR v. 1.38 (Saitama Medical Center, Jichi Medical University, Saitama, Japan), a graphical user interface for R (The R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria);
 - Office Excel 2016 (Microsoft Corporation, USA).

Research groups:

- Study group (1) - Patients suffering from osteoarthritis and receiving NSAIDs (91 people);
 - a. The subgroup of those who did not take NSAIDs (32 people);
 - b. The subgroup of those who took non-selective NSAIDs (31 people);
 - c. The subgroup of those who took selective NSAIDs (28 people);
- Patients without signs of OA (the control group) (30 people)

Main content and results:

We observed 91 patients with OA of various localization and degree, who formed the experimental group, aged 59.61 ± 1.56 years. Women predominated among the patients (53:38). In the process, they were divided into three subgroups for NSAIDs intake: 1st - those who did not take NSAIDs (32 patients), 2nd - those who took non-selective NSAIDs, to which we also included "semi-selective" - oxicams and nimesulide (31 patients), and 3rd - those who took selective NSAIDs - coxibs - (28%). The control group consisted of 30 people (17 women and 13 men), with a mean age of 56.10 ± 1.94 years (this group being comparable in age and sex with the experimental group).

The design of this study was approved by the Commission on Bioethical Expertise and Research Ethics at the Bohomolets National Medical University.

Radiography of the affected joints, gastroscopy, and colonoscopy in patients at the time of invitation to participate in the study had already been performed; with endoscopy having revealed no organic pathology. The average time from lower endoscopy to study was 4.3 ± 2.1 years. The diagnosis of OA was based on the diagnostic criteria of the American College of Rheumatology [5–7], subject to further modification [8]. All patients were tested for fecal calprotectin, secretory immunoglobulin A, hemoglobin/haptoglobin complex, as well as major intestinal microbiome types, *Gamma-proteobacteria*, and *Akkermansia muciniphila* bacteria in feces.

Among the localizations of joint lesions, lesions of the knee (95%), hip (49%) and small joints of the hand (46%) predominated. The duration of the disease was dominated by patients diagnosed a year or less before the study (40%). According to the duration of NSAIDs intake, the subjects were distributed as follows: less than 1 week - 20.88%, 1-2 weeks - 24.18%, up to 1 month - 4.40%, 1-2 months - 8.79%, 2-3 months - 5.49%, and more than 3 months - 36.26% of patients; the median duration of intake was 27.5 (IQR 7-400) days. Concomitant pathology was dominated by obesity and hypertension (35%), dyspepsia (26%), pathology of the pancreas without dysfunction (17%), and pathology of the thyroid gland and gallbladder (13%). Regarding body weight, the most common were overweight people (39.6%), slightly less common - those with normal weight (18.7%), and those suffering from obesity of the first degree (17.6%). As for joint insufficiency, most patients had grade 2 (57.1%), slightly fewer - grade 1 (30.8%); radiologically - 57% had stage 2, and 27% had stage 3. Regarding joint apparatus symptoms, 100% of patients were concerned by pain, 85.7% by crepitation or crunching on moving, 78% by stiffness, 70.3% by disfiguration or deformation, 29.67% by joint effusion, and 25.28% by jamming during movements.

Subgroups of patients did not differ statistically by gender, age, risk factors for OA, OA phenotypes, severity of pain on a numerical scale, Lequesne algofunctional index, or severity of pain in the morning ($p > 0.05$). According to the frequency of gastrointestinal symptoms, only the group of non-selective NSAIDs differed by

almost twice the frequency of pain or discomfort in the epigastrium (which was present in 55% of patients in this group), by almost seven times higher prevalence of heartburn (61%), by almost twice the frequency of bloating (48%), by a four times higher prevalence of diarrhea (45%), but by a lower prevalence of constipation (19%). Proton pump inhibitors were used significantly more often by members of the non-selective NSAIDs subgroup (46.88%) than by those who did not take NSAIDs (25.8%), $p = 0.026$; no significant difference in the frequency of PPIs intake was found between the representatives of the selective NSAIDs subgroup (32.14%) and two other subgroups ($p > 0.05$). The drug of this group was almost always omeprazole with a median dose of 0.04 g/day (median, dose range 0.02-0.04 g/day).

The study found that the level of FC in OA patients significantly exceeded that of the control group (147.19 (IQR 132.76-161.8) mg/kg vs. 20.91 (IQR 19.5-32.53) mg/kg ($p < 0.001$), being distributed across the groups as follows: 68.78 (IQR 61.48-90.295) mg/kg in no-NSAIDs subgroup, 259.65 (IQR 234.669-294.989) mg/kg in non-selective NSAIDs users, and 111.93 (IQR 105.31-149.63) mg/kg in those who took selective NSAIDs; we found a statistically significant difference between all 3 subgroups from the control group and subgroups of NSAIDs from the no-NSAIDs subgroup ($p < 0.01$). Patients with OA significantly more often displayed moderately elevated levels of FC, compared with individuals in the control group (OR=9.692; 95% CI 2.363-29.560; $p < 0.001$); among patients who did not take NSAIDs, the intermediate level of FC was found to be significantly more common (OR=4.92; 95% CI 1.273-23.965; $p = 0.0012$) than among the control group; at the same time, patients who took non-selective NSAIDs, compared with those who did not take NSAIDs, had a significantly higher prevalence of elevated FC levels (OR=9.3; 95% CI 2.427-45.569; $p = 0.0019$). To test for NSAID-induced mucosal damage as a cause of increased FC, after consultation with physicians, we suggested patients with elevated FC to stop NSAIDs intake for two weeks, and if necessary, to substitute paracetamol at a dose of 0.5-1 g 1-3 times a day, which is known not to cause intestinal damage. At the end of the two weeks, we re-measured the level of FC in these patients. It turned out that in 91 patients (83.49%), the level of FC had become normalized, and

in 18 (16.51%) it had remained elevated. The latter were referred for fibrocolonoscopy to exclude organic intestinal pathology, as opposed to NSAID-induced lesions, and excluded from the study. These were not included in the number of patients described in this study. The level of fecal Hb/Hp complex in the control group was 0.73 (IQR 0.65-0.79) mg/kg versus 4.77 (IQR 3.41-6.81) mg/kg in the OA group. In those who did not take NSAIDs, its level was 1.88 (IQR 1.23-2.6) mg/kg, in those who took non-selective NSAIDs - 9.38 (IQR 7.47-13.29) mg/kg and in those who took selective NSAIDs - 2.98 (1.34-4.62) mg/kg. The subgroup of non-selective NSAIDs differed significantly from the control group and the no-NSAIDs subgroup, and the subgroup of selective NSAIDs - from the subgroup of non-selective NSAIDs and the control group ($p < 0.05$). In patients with OA, there was an increase in the level of fecal Hb/Hp complex, while in the control group, its values did not exceed the threshold in 100% of participants. In those taking non-selective NSAIDs, the prevalence of elevated fecal Hb/Hp complex levels was significantly higher than in the control group ($p < 0.001$) and than in the group of those who did not take NSAIDs (OR=4.229; 95% CI 1.288-15.289; $p = 0.0097$). SIgA levels differed in patients with OA from subjects of the control group (1088.83 (IQR 986.0-1.291.25) mg/kg versus 593.57 (IQR 549.0-761.91) mg/kg, $p < 0.01$), but subgroups did not differ from the control group and among themselves ($p > 0.05$).

Regarding the microbiome, the content of *Firmicutes* was 66.66% in the control group (IQR 58.57-73.66), 51.47% (IQR 48.11-56.21) in those who did not take NSAIDs, 57.21% (IQR 49.98-69.05) in those who took non-selective, and 47.83% (IQR 32.24-52.92) in those who took selective NSAIDs; the difference between the subgroups and the control group was significant ($p < 0.05$), and the subgroup of the selective NSAIDs also differed from that of the nonselective ones ($p < 0.01$). The *Bacteroidetes* content was 6.06% (IQR 3.23-8.57), 15.08% (8.03-29.21), 18.04% (IQR 9.36-17.75) and 13.50% (IQR 9.24-17.75), respectively; the difference between subgroups and control was significant ($p < 0.0001$). The content of *Actinobacteria* was, respectively, 12.16% (IQR 8.09-16.54), 8.41% (IQR 5.59-10.02), 7.75% (IQR 5.51-10.56) and 13.66% (IQR 13.26-14.56); the difference

between subgroups no- NSAIDs and non-selective NSAIDs from control ($p < 0.01$), and subgroups of selective NSAIDs - from other subgroups - from other subgroups was significant ($p < 0.0001$). The content of "other" representatives of the microflora was, respectively, 15.12% (IQR 12.10-19.57), 25.04% (IQR 19.51-34.48), 17.00% (IQR 12.54-25.69) and 25.02% (IQR 12.85-36.16) (subgroups no-NSAIDs and selective NSAIDs differed from control ($p < 0.001$), and non-selective - from subgroup no-NSAIDs ($p < 0.05$)). The *F/B* ratio was 11.60 (IQR 6.56-20.76), 3.33 (IQR 1.79-6.74), 3.27 (IQR 2.65-5.25) and 3.65 (IQR 1.63-4.84); the difference between the subgroups and the control group was significant ($p < 0.0001$). The content of the class *Gamma-proteobacteria* in those who did not take NSAIDs was 1.44% (IQR 0.81-2.03), in those who took non-selective - 1.96% (IQR 1.52-2.57), and those who took selective NSAIDs - 2.19% (IQR 1.08-2.51), the difference between the subgroup of non-selective and subgroup no-NSAIDs was significant - $p < 0.01$; the content of bacteria of the species *Akkermansia muciniphila* was equal to 2.55% (IQR 1.63-4.30), 1.35% (IQR 1.20-1.64), and 1.22% (IQR 0.99-1.50), respectively, a significant difference was found between the subgroups that received NSAIDs, and the subgroup no-NSAIDs ($p < 0.001$). Patients with FCP levels > 50 mg/kg were found to have significantly lower levels of *Akkermansia muciniphila* than those with normal levels (0.0021% (IQR 0-0.5407) vs. 3,4127% (IQR 0,0337-4,3502), $p = 0.031$); in patients with elevated (> 2 mg/kg) levels of Hb/Hp complex there was a lower content of *Bacteroidetes* (8.03 (IQR 7.36-12.86) vs. 18.95 (IQR 11.63-25.27), $p = 0.007$) and a higher *F/B* ratio (7.69 (IQR 5.47-9.33) vs. 3.13 (IQR 1.79-5.16), $p = 0.009$) than in patients with normal Hb/Hp levels.

A significant negative ($p < 0.05$) correlation was found between the fecal content of *Firmicutes* and the radiological stage of OA ($\rho = -0.521$) and a positive correlation of *Firmicutes* content and the fecal content of the complex Hb/Hp ($\rho = 0.371$), a negative correlation between the content of *Bacteroidetes* and Hb/Hp complex ($\rho = -0.462$), the positive correlation between the *F/B* ratio and the level of fecal Hb/Hp complex ($\rho = 0.463$) and between BMI ($\rho = 0.455$) and with age ($\rho = 0.562$) was found as well. A significant ($p < 0.05$) negative correlation was found

between the content of *Actinobacteria* and the age of patients ($\rho = -0.300$), with a positive correlation between the content of "other" types and the radiological stage of OA ($\rho = 0.562$) and with BMI ($\rho = 0.316$). A significant ($p < 0.05$) positive correlation was found between fecal content of *Gamma-proteobacteria* and the radiological stage of OA ($\rho = 0.526$) and with BMI ($\rho = 0.356$), as well as a negative correlation between the content of *Akkermansia muciniphila* and the level of FCP ($\rho = -0.426$) and a positive correlation between the level of this bacterium and the age of the subjects ($\rho = 0.402$).

The logistics model developed by us has the form $\ln(P/(1-P)) = -2.168 + 0.2986 * (\text{Hb}/\text{Hp}) + 0.0083 * \text{FCP}$, and allows the prediction of the risk of NSAID-induced intestinal lesions, AUC = 0.872 (95% CI 0.773-0.97), statistically significantly different from 0.5 ($p < 0.05$). The optimal limit of decision making PT=0.987. At the chosen decision threshold, the sensitivity of the model is 65% (95% CI 40.8-84.6), the specificity is 90% (95% CI 73.5-97.9), the predictability of a positive result is 81.2% (95% CI 54.4-96), and the predictability of a negative result is 79.4% (95% CI 62.1-91.3).

Thus, we studied the diagnostic potential of non-invasive fecal biomarkers in patients with OA depending on their NSAID intake and the selectivity of these medications, and we established the possibility of probable prediction of NSAID-induced intestinal lesions by its non-invasive biomarkers.

Scientific novelty of the obtained results

For the first time, the levels and frequency of increase in fecal calprotectin, secretory immunoglobulin A, and hemoglobin/haptoglobin complex were studied in patients with OA depending on whether or not they take NSAIDs and the selectivity of such NSAIDs. Data on the content of the main types of intestinal microbiome (*Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, "other" types, the *Firmicutes/Bacteroidetes* (F/B)) ratio and its representatives – the class *Gamma-proteobacteria* and the species *Akkermansia muciniphila* – in patients with OA have been supplemented depending on whether or not they take NSAIDs and the selectivity of such NSAIDs. Data on the intestinal microbiome of patients with OA of

the Ukrainian population have been supplemented. For the first time, the connection between the increase in fecal markers of intestinal inflammation and the composition of the intestinal microbiome was studied, as well as their diagnostic value concerning NSAID-induced intestinal lesions in the non-invasive analysis of intestinal status in patients with osteoarthritis.

Practical significance of the obtained results

Data on the diagnostic significance of intestinal inflammation biomarkers and intestinal microflora in relation to the possibility of non-invasive selection of patients with the need for the further endoscopic examination have been provided. For the first time, a diagnostic model was built to predict intestinal lesions based on biochemical fecal markers. We proposed to define FCP and Hb/Hp complex as significant markers of NSAID-induced intestinal lesions. Practical recommendations for the use of these biomarkers in the diagnosis of NSAID-induced intestinal lesions, their prevention, and their monitoring are given.

Implementation of research results in practice. The results of scientific research presented in the dissertation are being introduced into the educational process (used in the course of lectures and in practical classes with interns at the Department of Therapy, Infectious Diseases and Dermatovenereology Postgraduate Education, Bogomolets National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine), in the practice of the cardiology department, the departments of therapy №1 and 2 of Kyiv City Clinical Hospital №1, the departments of cardiology, therapy, chronic internal pathology, gastroenterology №1 and 2, and the diagnostic-and-treatment therapeutic multidisciplinary department of internal medicine of the Central Hospital of the Ministry of Internal Affairs of Ukraine, as well as II-th therapeutic department of Kyiv City Clinical Hospital №4.

Approbation of dissertation materials. The main theoretical and practical provisions of the dissertation research were reported and discussed at the following scientific and practical conferences: the VII scientific session of the Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine "Latest technologies in theoretical and clinical gastroenterology" (Dnipro, June 13-14, 2019)

and Annual Young Medical Scientists Conference (AYMSConf) 2019 (Kyiv, November 22-24, 2019).

The dissertation was tested at the interdepartmental meeting of the Department of Therapy, Infectious Diseases and Dermatovenereology Postgraduate Education, Bogomolets National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine (May 14, 2020, protocol №20).

Acknowledgments. We are grateful to R-biopharm AG (Darmstadt, Germany), represented by its clinic product managers, A. Buk, Dr. A. Lennerz and L. Massold, and the Head of the Scientific Department, Dr. T. van Stappen, as well as PE "Biola" as an official representative of the R-biopharm AG in Ukraine, represented by its manager, L. Predzemirska, for providing us with sets of reagents for the determination of FCP and sIgA and for technical support in conducting ELISA research. We are grateful to the Diagen laboratory (Kyiv) and its founder and research director, O.K. Kolyada, and researcher, V.V. Moseiko for material, technical and organizational assistance in conducting research by PCR. We are grateful to the Research Institute of Experimental and Clinical Medicine and its director, Doctor of Medical Sciences, Professor LV Natrus, for providing technical and organizational assistance in conducting the ELISA research. We thank the teachers of the Department of Health Management, Candidate of Physical and Mathematical sciences, Associate Professor V.G. Gurgyanov and Candidate of Medical Sciences, Associate Professor V.V. Vyshevetsky for the knowledge they gave in the process of postgraduate study and support in data processing and design of this work.

Publications. On the topic of the dissertation 6 scientific papers (including 2 reviews) have been published, in particular, 4 articles in specialized scientific journals that included in the list of professional publications of Ukraine, one article in a journal of another country, which is a member of the Organization for Economic Cooperation and Development and the European Union; one abstract of reports in the materials of domestic scientific and practical conferences and congresses.

Connection of work with scientific programs, plans, and topics. The dissertation is a fragment of a complex research topic of the Department of Therapy,

Infectious Diseases and Dermatovenereology Postgraduate Education, Bogomolets National Medical University Clinical and pathogenetic substantiation of prevention and treatment of drug-induced intestinal lesions in patients with osteoarthritis (state registration number 0120U101414).

CONCLUSIONS

The dissertation presents a new solution to the current problem of modern medicine, namely improving the diagnosis of drug-induced intestinal lesions in patients with osteoarthritis by studying the diagnostic capabilities of non-invasive fecal biomarkers for such lesions.

1. Patients with OA showed a significant increase in FCP (7 times, $p < 0.001$), fecal Hb/Hp complex (6.5 times, $p = 0.004$), and fecal sIgA (1.83 times, $p = 0.006$), which indicates the presence of inflammation of the intestinal wall.

2. Significantly reduced levels of Firmicutes (1.29 times, $p < 0.0001$) and Actinobacteria (1.2 times, $p = 0.017$) were observed in patients with OA; increased content of Bacteroidetes and "other" microorganisms (2.5 and 1.6 times, respectively, $p < 0.01$); four-fold decrease in the F/B ratio ($p < 0.0001$). Decreased Akkermansia muciniphila was observed in patients with elevated FCP levels, and decreased Bacteroidetes and elevated F/B ratios in patients with elevated Hb/Hp complex.

3. Taking nonselective NSAIDs was found to be associated with significantly more pronounced intestinal damage (manifesting in 3.78 times higher levels of FCP and 4.99 times higher level of fecal Hb/Hp complex than its value in those who did not take NSAIDs), which decreases after the discontinuation of NSAIDs. There was a direct correlation between FCP and Hb/Hp complex levels with the duration of NSAIDs intake ($\rho = 0.455$ and $\rho = 0.463$, $p < 0.05$).

4. Patients taking non-selective NSAIDs had a 1.5-fold lower content of "other" microorganisms, a 1.89-fold increase in Gamma-proteobacteria, and a 1.36-fold decrease in Akkermansia muciniphila levels. In the subgroup of selective NSAIDs there were no significant changes in the levels of fecal biomarkers compared to those who did not take NSAIDs, and there was an increased content of

Actinobacteria (1.62 times compared with those who did not take NSAIDs and 1.76 times those with those who took non-selective NSAIDs) and *Akkermansia muciniphila* (2 times lower than in those who did not take NSAIDs).

5. The presence of intestinal lesions were able to be determined on the basis of levels of FCP and fecal Hb/Hp complex with a prognostic value of a positive result of 81.2% and a prognostic value of a negative result of 79.4%.

PRACTICAL RECOMMENDATIONS

1. To diagnose NSAID-induced bowel lesions, all patients with OA who take NSAIDs for more than 2 weeks (or when bloating and diarrhea occur regardless of the duration of administration), should determine the level of FCP and fecal Hb/Hp complex.

2. In the case of an increase in FCP level above 50 mg/kg and fecal Hb/Hp complex level above 2 mg/kg, the current non-selective NSAIDs should be discontinued and replaced with highly selective NSAIDs or paracetamol, and consider the discontinuation of the NSAIDs intake.

3. If the increase in intestinal damage markers persists for two weeks after discontinuation of NSAIDs or changing it to paracetamol, the patient should be referred for colonoscopy.

Keywords: osteoarthritis, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, enteropathy, colopathy, calprotectin, secretory immunoglobulin A, hemoglobin/haptoglobin complex, intestinal microbiome, *Akkermansia muciniphila*

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Губська ОЮ, Кузьмінець АА, Гуцул ВМ, Лавренчук ІО. Кишковий мікробіом й остеоартрит. Гастроентерологія. 2019;53:132–7. doi:10.22141/2308-2097.53.2.2019.168988.
2. Кузьмінець АА, Панін АВ, Губська ОЮ. Склад кишкового мікробіому у пацієнтів з остеоартритом. In: Annu. Young Med. Sci. Conf. 2019. Kyiv; 2020. p. 24–5. <http://mmj.nmuofficial.com/index.php/journal/issue/view/20/114-pdf>
3. Губська ОЮ, Кузьмінець АА, Коляда ОК, Мосейко ВВ, Панін АВ. Стан кишкового мікробіому в пацієнтів з остеоартритом. Сучасна гастроентерологія. 2019;109:18–25. doi:10.30978/MG-2019-5-18.
4. Губська ОЮ, Кузьмінець АА. НПЗП-ентеротоксичність: фокус на проблему. Сучасна гастроентерологія. 2018;103:50–9. doi:10.30978/MG-2018-5-50.
5. Губська ОЮ, Кузьмінець АА, Панін АВ. Рівень фекального комплексу «гемоглобін/гаптоглобін» у пацієнтів з остеоартритом залежно від прийому нестероїдних протизапальних препаратів. Сучасна гастроентерологія. 2020;111:23–7. doi:10.30978/MG-2020-1-23.
6. Gubska O, Kuzminets A, Panin A. Comparing of faecal calprotectin levels in patients with osteoarthritis taking NSAID treatment and patients without NSAIDS therapy. EUREKA Heal Sci. 2020;17–24. doi:10.21303/2504-5679.2020.001193.

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ	2
Зміст анотації.....	2
ЗМІСТ	27
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	30
ВСТУП.....	31
РОЗДІЛ 1. ОСОБЛИВОСТІ УРАЖЕНЬ КИШКОВИКА ТА ЗМІН КИШКОВОГО МІКРОБІОМУ У ХВОРИХ НА ОСТЕОАРТРИТ (огляд літератури)	39
1.1. Особливості уражень кишковика у хворих на остеоартрит.....	39
Епідеміологія	40
Патогенез НПЗП-ентеропатії.....	44
Клінічні прояви НПЗП-індукованих уражень кишковика.....	50
Класифікація та види уражень кишковика.....	51
Діагностика НПЗП-індукованих уражень кишковика	53
Профілактика та лікування НПЗП-ентеропатій.....	56
1.2. Особливості змін кишкового мікробіому у хворих на остеоартрит.....	60
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	71
2.1. Дизайн дослідження	71
2.2. Клінічна характеристика обстежених хворих	71
2.2.1. Клініко-лабораторна характеристика пацієнтів з ОА	71
Висновок	84
2.2.2. Клініко-лабораторна характеристика пацієнтів з ОА залежно від прийому НПЗП.	84
2.3. Методи спеціального обстеження хворих	94
2.3.1 Методика збору аналізу калу.....	94
2.3.2 Методика визначення концентрації кальпротектину, секреторного імуноглобуліну А та комплексу «гемоглобін/гаптоглобін».....	95
2.3.3 Методика визначення вмісту типів і родів бактерій та <i>Akkermansia muciniphila</i>	96
2.3.4 Методика статистичної обробки даних	97

РОЗДІЛ 3. ЧАСТОТА ТА СТРУКТУРА ЗМІН ФЕКАЛЬНИХ БІОМАРКЕРІВ ЗАПАЛЕННЯ У ПАЦІЄНТІВ, ЯКІ ХВОРИЮТЬ НА ОСТЕОАРТРИТ.....	99
3.1. Фекальний кальпротектин	99
3.2. Комплекс «гемоглобін/гаптоглобін»	101
3.3. Секреторний імуноглобулін А	102
РОЗДІЛ 4. ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН ПОКАЗНИКІВ СКЛАДУ ФЕКАЛЬНОГО МІКРОБІОМУ ЯК НЕІНВАЗИВНОГО МАРКЕРА УРАЖЕНЬ КИШКОВИКА У ХВОРИХ НА ОСТЕОАРТРИТ	105
4.1. <i>Firmicutes</i>	106
4.2. <i>Bacteroidetes</i>	107
4.3. Співвідношення F/V	108
4.4. <i>Actinobacteria</i>	109
4.5. Інші.....	110
4.6. Порівняння вмісту представників КМ за біохімічними показниками..	111
РОЗДІЛ 5. ЗВ'ЯЗОК МІЖ ПРИЙОМОМ НПЗП РІЗНОГО СТУПЕНЯ СЕЛЕКТИВНОСТІ ТА НЕІНВАЗИВНИМИ ПОКАЗНИКАМИ УРАЖЕННЯ КИШКОВИКА.....	114
5.1. Фекальний кальпротектин	114
5.2. Нь/Нр комплекс	117
5.3. sIgA.....	120
РОЗДІЛ 6. ЗВ'ЯЗОК МІЖ ПРИЙОМОМ НПЗП РІЗНОГО СТУПЕНЯ СЕЛЕКТИВНОСТІ ТА СКЛАДОМ ФЕКАЛЬНОГО МІКРОБІОМУ	122
6.1. <i>Firmicutes</i>	122
6.2. <i>Bacteroidetes</i>	123
6.3. Співвідношення F/V	124
6.4. <i>Actinobacteria</i>	126
6.5. «Інші».....	127
6.6. <i>Gamma-proteobacteria</i>	128
6.7. <i>Akkermansia muciniphila</i>	129
РОЗДІЛ 7. СТАТИСТИЧНА МОДЕЛЬ.....	131
РОЗДІЛ 8. АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	134
ВИСНОВКИ.....	145

	29
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	147
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ.....	148
ДОДАТКИ.....	165
ДОДАТОК 1.....	165
ДОДАТОК 2.....	166
ДОДАТОК 3.....	167

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

DMOADs	– disease-modifying osteoarthritis drugs, хворобо-модифікуючі препарати;
Hb/Нр комплекс	– фекальний комплекс «гемоглобін/гаптоглобін»;
sIgA	– фекальний секреторний імуноглобулін А;
АСК	– ацетилсаліцилова кислота;
ВКЕ	– відеокапсульна ендоскопія;
ДПК	– дванадцятипала кишка;
ІПП	– інгібітори протонної помпи;
ІФА	– імуноферментний аналіз;
КМ	– кишковий мікробіом;
ЛЗ	– лікарський засіб;
МЕ	– мікроскопічний ентерит;
НПЗП	– нестероїдні протизапальні препарати;
ОА	– остеоартрит;
ПЛР	– полімеразна ланцюгова реакція;
ПГ	– простагландини;
ПЕ	– побічні ефекти;
ПЛР	– полімеразна ланцюгова реакція;
СНБР	– синдром надмірного бактеріального росту;
СО	– слизова оболонка;
ТК	– тонкий кишковик;
ФКП	– фекальний кальпротектин;
ФНС	– функціональна недостатність суглобів;
ЦОГ-1	– циклооксигеназа-1;
ЦОГ-2	– циклооксигеназа-2;
ЧРШ	– числова рейтингова шкала оцінки болю;
ШК	– шлунково-кишкові;
ШКТ	– шлунково-кишковий тракт;

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження.

Захворювання кістково-м'язової системи є одним з найрозповсюдженіших захворювань сучасності, і остеоартрит (ОА) є найпоширенішою з них патологією синовіальних суглобів, складаючи 33,1% від них, ним уражені понад 10% населення у світі; на ОА колінного суглобу страждає 4% всього населення планети [9]. У США його діагностують у 50% осіб старших за 65 років та у 80% осіб старших за 75 років [10]. Захворюваність на ОА в Україні на 2015 рік становила 431 на 100 тис. населення, а поширеність — 2995 на 100 тис. населення [11]. Частка ОА у загальній кількості випадків порушень ходи у світі складає 22% [12]. Серед людей з симптомним ОА спостерігається достовірно вища загальна смертність, ніж серед їх однолітків без симптоматики ОА [1]. ОА, також, асоційований з вищою частотою захворювань шлунково-кишкового тракту (ШКТ), що, переважно, пов'язане з частим застосуванням цими пацієнтами нестероїдних протизапальних препаратів (НПЗП) [2]. НПЗП мають вплив на слизову оболонку шлунка, печінку, підшлункову залозу. Увага сучасних дослідників та спеціалістів приділяється ураженням слизової оболонки 12-палої, тонкої та товстої кишок. Якщо стосовно профілактики НПЗП-індукованих уражень верхніх відділів ШКТ наявні чіткі і ефективні рекомендації [13,14], нами знайдено відносно небагато наукових відомостей щодо уражень нижніх відділів ШКТ; окрім того, на теперішній час не існує загальноприйнятих рекомендацій щодо їх лікування та профілактики [4].

Із зарубіжних джерел відомо, що серед усіх пацієнтів, які приймають НПЗП, частота ушкоджень нижніх відділів ШКТ, за різними даними, варіює від 45% до 70%. НПЗП-індуковані ушкодження кишкового складають близько 40% всіх випадків ускладнень прийому НПЗП, причому близько 8,4% з них мають важкість від середньої до тяжкої [15,16], при тому, що частота ураження нижніх відділів ШКТ практично не відрізняється від верхніх. НПЗП-індуковані ентеро-

та колопатії практично завжди безсимптомні та рідко викликають гострі порушення самопочуття, внаслідок чого часто залишаються поза увагою клініцистів та дослідників [3]. Попри це, вони призводять до мальабсорбції та нутрієнтної недостатності, хронічної втрати білку та крововтрати, а також, у тяжких випадках, до різних видів кишкової непрохідності [3]. На теперішній час не існує загальноприйнятих неінвазивних маркерів НПЗП-індукованих уражень кишкови́ка, а «золотим стандартом» діагностики НПЗП-ентеро- та колопатій є інвазивні дослідження – відеокапсульна ендоскопія та колоноскопія відповідно. Єдиним надійним способом профілактики НПЗП-індукованих уражень кишкови́ка вважається відміна НПЗП [4]. При цьому, більшість пацієнтів відмовляється від виконання колоноскопії як з причин інвазивності цього дослідження, так і, в нашій країні, з фінансових міркувань. Тому частота проведення колоноскопії в Україні як скринінгового дослідження, незважаючи на наявність рекомендацій щодо необхідності її виконання у осіб старших за 50 років задля скринінгу онкологічних захворювань кишкови́ка, є вкрай низькою. Нажаль, нам не вдалося знайти опублікованих даних щодо конкретної кількості виконаних в Україні чи м. Києві колоноскопій.

Зважаючи на вищеперераховане, саме застосування неінвазивних маркерів ураження слизової оболонки (СО) кишкови́ка дозволило б значно зменшити побічні ефекти та знизити кількість ускладнень медикаментозного лікування ОА. У патогенезі НПЗП-індукованих уражень кишкови́ка відіграють роль ушкодження й некроз ентероцитів, підвищення проникності СО кишкови́ка, зниження продукції слизу, запалення й нейтрофільна інфільтрація кишкової стінки та транслокація кишкових бактерій [17,18]. Як наслідок хронічного запалення й порушення цілісності СО, нерідко розвивається прихована крововтрата [3]. При цьому, фекальний кальпротектин (ФКП) є найпоширенішим маркером ушкодження кишкови́ка [19], децю менш відомим є фекальний комплекс «гемоглобін/гаптоглобін». До того ж, вже відомим є феномен підвищення рівня ФКП на тлі прийому НПЗП [20,21]. Також ми вирішили розглянути основні типи фекальної мікробіоти у якості можливого

маркера розвитку НПЗП-ушкодження кишковика [18], а, враховуючи біологічну роль секреторного імуноглобуліна А [22,23], висунули припущення про можливість його використання як маркера запалення слизової оболонки кишковика. Наостанок, знаючи про здатність бактерії виду *Akkermansia muciniphila* стимулювати синтез слизу СО та її протективний вплив на СО [24–27], а також її здатність впливати на біодоступність хондроїтину [28], ми вирішили перевірити наявність зв'язку між її вмістом у калі та вираженістю підвищення маркерів запалення СО кишковика. Виходячи з того, що до класу *Gamma-proteobacteria*, всі представники якого є грам-негативними, входить значна кількість умовно-патогенних та патогенних родин, зокрема, *Pseudomonadaceae* та *Enterobacteriaceae*, а, також, даних щодо того, що ліпополісахариди грамнегативних бактерій можуть відігравати окрему роль у патогенезі ОА [29,30] та НПЗП-індукованого ураження кишковика [18], ми вирішили також провести пошук зв'язку їх вмісту з показниками ОА та вивчити різницю між вмістом *Gamma-proteobacteria* у підгрупах пацієнтів з ОА за прийомом ними НПЗП та ступенем селективності НПЗП.

Мета дослідження. Удосконалення діагностики медикаментозних уражень кишковика у хворих на остеоартрит шляхом вивчення діагностичних можливостей неінвазивних фекальних біомаркерів таких уражень.

Завдання дослідження.

1. Вивчити частоту та структуру змін фекальних біомаркерів запалення (фекальних – кальпротектину, секреторного імуноглобуліну А, комплексу «Гемоглобін/гаптоглобін») у пацієнтів, які хворіють на остеоартрит.

2. Вивчити особливості змін показників складу фекального мікробіому (ФМ) як неінвазивного маркера уражень кишковика у хворих на остеоартрит, а, також, встановити наявність зв'язку між складом ФМ та лабораторними показниками запалення кишкової стінки.

3. Дослідити зв'язок між прийомом НПЗП різного ступеня селективності та біохімічними показниками ураження кишковика.

4. Дослідити зв'язок між прийомом НПЗП різного ступеня селективності та складом ФМ.

5. Розробити статистичну модель для прогнозування наявності НПЗП-індукованих уражень за показниками його неінвазивних біомаркерів.

Об'єкт дослідження.

Неінвазивні показники запалення СО кишковика у хворих на ОА, кишковий мікробіом (КМ) у хворих на ОА.

Предмет дослідження.

- рівень біомаркерів запалення кишковика (фекальних кальпротектину, секреторного імуноглобуліну А та комплексу «гемоглобін/гаптоглобін»);
- вміст типів кишкової мікробіоти за даними полімеразної ланцюгової реакції

Методи дослідження:

- клінічні:
 - загальноклінічне опитування (скарги, анамнез, антропометричні параметри, індекс маси тіла (ІМТ), фізикальне обстеження);
- лабораторні:
 - імуноферментний аналіз ультрафільтратів калу (визначення фекального кальпротектину (ФКП), секреторного імуноглобуліну А (sIgA) та комплексу «гемоглобін/гаптоглобін» (Hb/Hp));
 - полімеразна ланцюгова реакція ультрафільтратів калу (визначення основних типів кишкової мікрофлори, класу *Gamma-proteobacteria* та виду *Akkermansia muciniphila*);
- статистичні методи обробки результатів:
 - EZR v. 1.38, (Медичний центр Saitama, Медичний університет Jichi, Японія), який є графічним інтерфейсом для R-studio (The R Foundation for Statistical Computing, Австрія);
 - Office Excel 2016 (Microsoft Corporation, США).

Групи дослідження:

- Досліджувана група (1) – пацієнти, що хворіють на остеоартрит (91 особа);
 - a. Підгрупа тих, хто не приймав НПЗП (32 особи);
 - b. Підгрупа тих, хто приймав неселективні НПЗП (31 особа);
 - c. Підгрупа тих, хто приймав селективні НПЗП (28 осіб);
- Пацієнти без ознак ОА (група контролю) (30 осіб).

Наукова новизна одержаних результатів.

Вперше вивчено рівні і частоту підвищення фекальних кальпротектину, секреторного імуноглобуліну А, комплексу «гемоглобін/гаптоглобін» у хворих на остеоартрит залежно від прийому чи не прийому ними НПЗП та селективності НПЗП. Доповнено дані щодо вмісту основних типів КМ (*Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, «інших» типів, співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes* (F/B)) та окремих його представників – класу *Gamma-proteobacteria* та виду *Akkermansia muciniphila* – у хворих на ОА залежно від прийому чи не прийому ними НПЗП та селективності НПЗП. Доповнено дані щодо КМ пацієнтів з ОА української популяції. Вперше досліджено зв'язок підвищення фекальних маркерів запалення кишковика зі складом кишкового мікробіому, а також їхню діагностичну цінність щодо НПЗП-індукованих уражень кишковика в неінвазивному аналізі стану кишковика у хворих на остеоартрит.

Практичне значення одержаних результатів.

Уточнено дані щодо діагностичної значущості біомаркерів запалення кишковика та кишкової мікрофлори стосовно можливості неінвазивного відбору пацієнтів з необхідністю подальшого ендоскопічного обстеження. Побудовано діагностичну модель для прогнозування наявності ураження кишковика на основі біохімічних фекальних маркерів. Запропоновано визначати ФКП та комплекс Нв/Нр як значущі маркери НПЗП-індукованого ураження кишковика. Надано практичні рекомендації щодо використання означених біомаркерів у

діагностиці НПЗП-обумовленого ураження кишкового, його профілактики та моніторингу.

Особистий внесок здобувача.

Дисертантом спільно с науковим керівником обрано тему дисертаційного дослідження, складено план та розроблено основну стратегію виконання роботи. Дисертантом проведений аналіз літератури з досліджуваної проблеми, визначено актуальність, мету та завдання дослідження, розроблено його дизайн, сформовано групи спостереження, виконано весь обсяг клінічного обстеження, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих результатів. Дисертант самостійно виконав лабораторне дослідження методом ІФА у повному обсязі. Здобувачем самостійно написано всі розділи дисертації, зроблена систематизація, інтерпретація одержаних результатів, аналіз та узагальнення результатів, сформульовано висновки та практичні рекомендації. Дисертантом забезпечено впровадження розробок наукових досліджень у клінічну практику. Дисертантом за матеріалами дисертаційної роботи підготовлено виступи на конгресах та конференціях, опубліковано наукові статті та тези, самостійно оформлена дисертаційна робота.

Робота виконувалася на кафедрі терапії, інфекційних хвороб та дерматовенерології післядипломної освіти Національного медичного університету імені О.О. Богомольця (завідувач кафедри: д.мед.н., професор Губська О.Ю.), клінічна база – Київська міська клінічна лікарня №1 (головний лікар: Іванько О.В.). Здійснювалася наукова співпраця з Науково-дослідним інститутом експериментальної та клінічної медицини (директор: д.мед.н., професор Натрус Л.В.) та генетичною лабораторією «Diagen» (науковий керівник: Коляда О.К.).

Апробація матеріалів дисертації.

Основні теоретичні та практичні положення дисертаційного дослідження доповідалися та обговорювалися на науково-практичних конференціях: VII науковій сесії Інституту гастроентерології НАМН України «Новітні технології в теоретичній та клінічній гастроентерології» (Дніпро, 13-14.06.2019 р.) та

Міжнародній конференції молодих науковців (AYMSConf) 2019 (Київ, 22-24.11.2019 р.).

Апробацію дисертації проведено на міжкафедральному засіданні кафедри терапії, інфекційних хвороб та дерматовенерології післядипломної освіти Національного медичного університету імені О.О. Богомольця МОЗ України (14.05.2020 р, протокол №20).

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

Дисертаційна робота є фрагментом комплексної науково-дослідної теми кафедри терапії, інфекційних хвороб та дерматовенерології післядипломної освіти Національного медичного університету імені О.О. Богомольця «Клініко-патогенетичне обґрунтування профілактики та лікування медикаментозних уражень кишковика у хворих на остеоартрит» (№ держреєстрації 0120U101414).

Впровадження результатів дослідження в практику.

Результати наукових досліджень, викладені у дисертаційній роботі, впроваджено у навчальний процес (використано в курсі лекцій і на практичних заняттях з лікарями-інтернами на кафедрі терапії, інфекційних хвороб та дерматовенерології післядипломної освіти Національного медичного університету імені О.О. Богомольця МОЗ України, в практику кардіологічного, терапевтичних відділень №1 та 2 КМКЛ №1, відділень кардіології, терапії, хронічної внутрішньої патології, гастроентерології №1 і 2 та діагностично-лікувальному багатопрофільному відділенні внутрішньої медицини Центрального госпіталю МВС України, а також II терапевтичного відділення КМКЛ №4.

Публікації.

За темою дисертації опубліковано 6 наукових праць (з них 2 оглядові), зокрема 4 статті у наукових спеціалізованих виданнях, що внесені до переліку фахових видань України, 1 стаття у журналі іншої держави, яка входять до Організації економічного співробітництва та розвитку та Європейського

Союзу; 1 тези доповідей в матеріалах вітчизняних науково-практичних конференцій та конгресів.

Структура та обсяг дисертації.

Дисертація викладена на 167 сторінках друкованого тексту, складається з анотації, переліку умовних позначень, вступу, огляду літератури, характеристики дизайну, матеріалів та методів дослідження, 4 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних літературних джерел, 3 додатків. Робота ілюстрована 11 таблицями та 46 рисунками. Список використаної літератури містить 168 джерел, які займають 17 сторінок. Додатки займають 3 сторінки.

РОЗДІЛ 1.
ОСОБЛИВОСТІ УРАЖЕНЬ КИШКОВИКА ТА ЗМІН КИШКОВОГО
МІКРОБІОМУ У ХВОРИХ НА ОСТЕОАРТРИТ
(огляд літератури)

1.1. Особливості уражень кишкового тракту у хворих на остеоартрит

Нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП) широко використовуються при різних клінічних ситуаціях та є найчастіше призначуваними лікарськими засобами у світі [31,32]. НПЗП особливо незамінні при всіх захворюваннях кістково-м'язової системи, що перебігають з запаленням і болем. Крім того, всі НПЗП мають жарознижувальні властивості. Особливо зростає потреба в НПЗП у осіб похилого віку, які нерідко мають коморбідні стани, які найчастіше пов'язані з ураженням серцево-судинної системи та опорно-рухового апарату (артрити та радикулопатії) [31]. Переважна більшість згаданих пацієнтів застосовує ацетилсаліцилову кислоту (АСК) для профілактики та лікування серцево-судинних подій та НПЗП для лікування захворювань суглобів та хребта. Окремою нішею застосування НПЗП є терапія остеоартриту [32].

Негативними наслідками застосування лікарських препаратів зазвичай стають їх побічні ефекти, достатньо добре вивчені для НПЗП. В основному, вони асоціюються з пошкодженнями майже всіх відділів шлунково-кишкового тракту (ШКТ) [33–35]. Спектр найпоширеніших клінічних наслідків несприятливого побічного впливу НПЗП переважно представлений НПЗП-гастропатією та/чи диспепсією, асоційованою з прийомом НПЗП; все більше уваги приділяється НПЗП-ентеропатії [31,33,36,37]. Спостерігається зростаюча кількість свідчень того, що застосування НПЗП при остеоартриті, особливо паралельно з іншими препаратами, які, зазвичай, призначаються особам похилого віку, призводить до збільшення кількості випадків і тяжкості ураження кишкового тракту, які є складними в діагностиці та можуть стати причинами тяжких ускладнень і госпіталізації [32,38]. Незважаючи на той факт, що

ураження ШКТ можуть виникати в будь-якому його відділі, найбільш відомими та обговорюваними є НПЗП-індуковані ураження слизової оболонки (СО) шлунка та дванадцятипалої кишки (ДПК). При цьому ураження кишкового нижче зв'язки Трейтса (НПЗП-індуковані ентеропатії і колопатії) необґрунтовано залишаються поза увагою лікарів. Внаслідок цього не діагностована НПЗП-ентеропатія стає джерелом кишкової кровотечі (гострої або частіше прихованої), непрохідності або перфорації [39]. Таким чином, означена вище проблема потребує особливого ставлення клініцистів і подальшої розробки схем та алгоритмів ведення пацієнтів.

Епідеміологія

Ураження тонкого кишкового (ТК) внаслідок застосування НПЗП були описані в 80-х роках минулого століття [32,40], проте довгий час глибоко не вивчалися через більш легке розпізнавання та більшу гостроту уражень верхніх відділів травного каналу та складність доступу до ТК. З початком використання візуалізуючих методів досліджень, таких як відеокапсульна ендоскопія і двобалонна ентероскопія, та збільшенням кількості призначень НПЗП і НПЗП разом з АСК, стала можливою оцінка стану усіх відділів ШКТ [3]. Узагальнені дані щодо кількості зареєстрованих випадків уражень верхніх і нижніх відділів ШКТ подій подані на рис. 1.1.

Як показано на рисунку 1.1, зареєстрована частота подій з боку верхніх відділів ШКТ неухильно зменшується. Найвірогідніше, це пов'язано з широким введенням у клінічну практику інгібіторів протонної помпи (ІПП). Натомість, частота виявлення подій з боку нижніх відділів ШКТ неухильно зростає. Це можна пояснити збільшенням технічних можливостей візуалізації та діагностики вказаних станів.

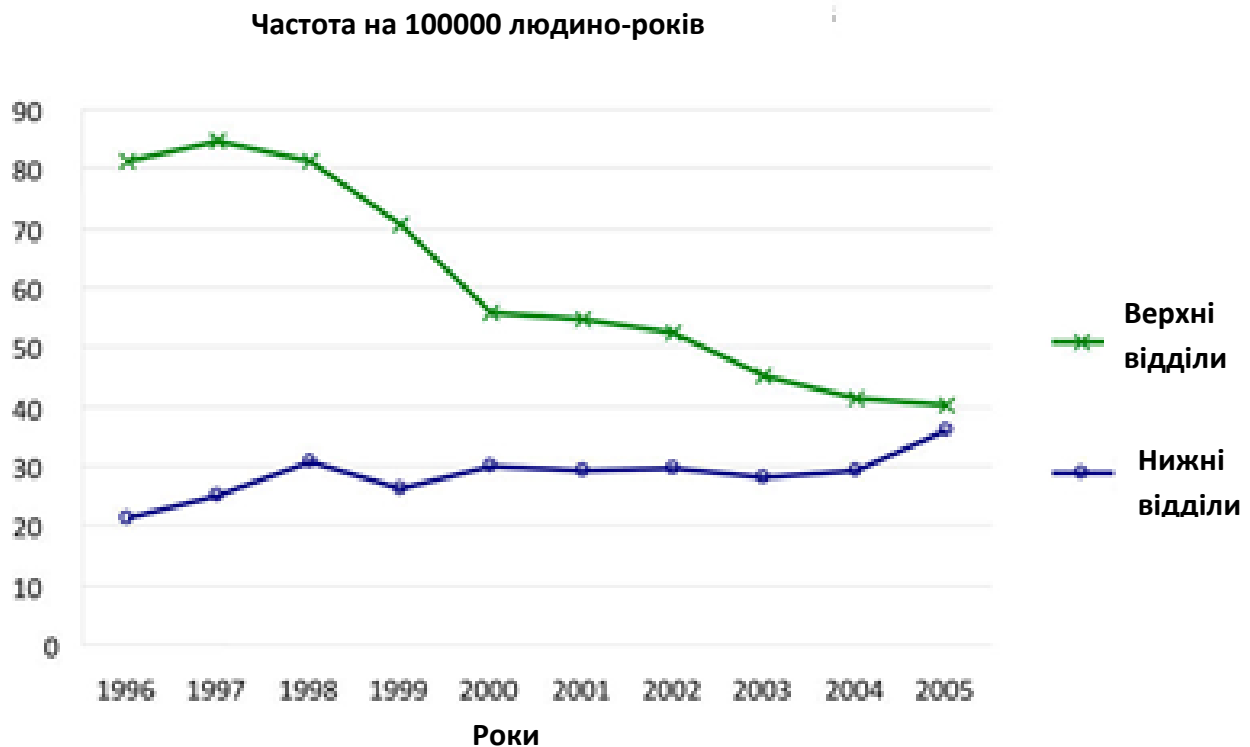


Рис. 1.1. Зміни у часі кількості зареєстрованих випадків уражень верхніх і нижніх відділів ШКТ (Sostres C, Gargallo CJ, Lanas A., 2013) [3].

НПЗП-індуковані ентеропатії складають близько 40% всіх серйозних ускладнень прийому НПЗП [15] і пов'язані зі значною захворюваністю та смертельними виходами. Так, в дослідженнях Wolfe M.M. et al., 1999, у 44,8% пацієнтів, що приймали НПЗП, при проведенні відеокапсульної ендоскопії (ВКЕ) були верифіковані ураження кишковика різного ступеня тяжкості. 3,5% з них були середньо-важкими і 4,9% важкими [16,37]. За метааналізом досліджень 80-х років, до 70% пацієнтів, які приймають НПЗП, можуть мати безсимптомну ентеропатію [41]. 1-2% пацієнтів з цієї категорії стикалися з серйозними ускладненнями [3]. НПЗП-індукована ентеропатія вважається найпоширенішою причиною появи прихованої крові в калі [42,43]. Кровотечі на тлі НПЗП-ентеропатій, на відміну від тих, які виникли внаслідок гастропатій, переважно хронічні [44]. Епідеміологічні дані з вивчення побічних ефектів НПЗП наведені у табл. 1.1.

**Зведена таблиця деяких досліджень з вивчення побічних ефектів НПЗП
(адаптовано з Lim Y.J., Yang Ch-H., 2012) [15]**

	Метод	Період	Результат
1.	Популяційне дослідження (Lanas A, García-Rodríguez LA, Polo-Tomás M, et al., 2009) [45]	1996-2005	Співвідношення верхніх/нижніх ШК ускладнень (кровотеча, перфорація, обструкція) зменшується
2.	Подвійне сліпе дослідження з використанням ВКЕ (целекоксиб проти напроксену з омепразолом) (Goldstein JL, Eisen GM, Lewis B, et al., 2005) [46]	2 тиж.	Перфорації СО ТК у 55% пацієнтів групи напроксену
3.	Подвійне сліпе плацебо-контрольоване дослідження з використанням ВКЕ та фекального кальпротектину (диклофенак проти плацебо) (Maiden L, Thjodleifsson B, Theodors A, et al., 2005) [47]	2 тиж.	Макроскопічне пошкодження ТК у 68-75% пацієнтів групи диклофенаку
4.	Клінічне дослідження з використанням ВКЕ (НПЗП в порівнянні з контролем) (Graham DY, Orekun AR, Willingham FF, Qureshi WA., 2005) [48]	3 міс.	Ураження СО ТК у 71% пацієнтів, які використовують НПЗП (проти 10% тих, які не приймали дані препарати)
5.	Реєстр двобалонної ендоскопії (Matsumoto T, Kudo T, Esaki M, et al., 2008) [49]	2004-2005	НПЗП-ентеропатія виникала у половини пацієнтів, які приймали НПЗП

Примітка. ШК – шлунково-кишкові

Дані таблиці підтверджують вищенаведені факти щодо важливості ураження нижніх відділів ШКТ у структурі токсичного впливу різних класів НПЗП.

Як відомо, у клінічній практиці здатність інгібувати ізоформи фермента циклооксигенази (ЦОГ) може лише ізофермент циклооксигеназа-2 (ЦОГ-2), чи, разом з нею, циклооксигеназа-1 (ЦОГ-1). НПЗП поділяють на неселективні – напроксен, індометацин, диклофенак, ібупрофен тощо, селективні (іноді – «напівселективні») – мелоксикам та німесулід, а також високоселективні (іноді – просто селективні) – група коксибів. Іноді АСК, у низьких дозах, виділяють у селективні інгібітори ЦОГ-1. При цьому, як вважається, препарати, що інгібують ЦОГ-1 – АСК та неселективні НПЗП – становлять загрозу для ШКТ, у той час, як селективні, зі збільшенням ступеня селективності до ЦОГ-2, втрачають цей побічний ефект, тому їх часто призначають з метою запобігання ураження ШКТ. Натомість, Wallace JL et al., 2013, встановили, що НПЗП, які зазвичай обирають для захисту СО шлунка, збільшують частоту і гостроту проявів ураження кишковика [32], і, внаслідок цього, НПЗП-ентеропатії часто бувають серйознішими за гастропатії [31]. Дослідники Y.J. Lim та Ch.-H. Yang (2012), натомість, вказують, що за серйозністю ускладнень, зокрема, за частотою розвитку шлунково-кишкової кровотечі, ентеропатії співставні з гастропатіями [15]. Вважається, що АСК у кишковорозчинних формах позбавлена гастротоксичності. Проте саме вивільнення діючої речовини (АСК та/чи НПЗП) призводить до первинного ураження СО кишки. Внаслідок цього, АСК, особливо її кишковорозчинні форми, в тому числі в низьких (кардіопротекторних) дозах, підвищує ризик ураження кишковика [32] і може викликати пошкодження СО, яке майже не відрізняється від гастродуоденальних ушкоджень. Механізм пошкоджуючої дії АСК при одночасному призначенні з іншими НПЗП, ймовірно, не відрізняється від такого при призначенні паралельно двох і більше НПЗП і полягає в одночасному блокуванні ЦОГ-1 і 2, призводячи, як було показано вище (Tanaka et al., 2002), до найбільш значних пошкоджень СО [50].

Деякими дослідниками (наприклад, J.L. Wallace, 2013), наведено дані, що НПЗП-ентеропатії, які виникають на тлі традиційного гастропротективного призначення кислотознижуючих препаратів, протікають важче [32]. Інші дослідники (Wallace J.L., Ferraz J.G., 2010; Lanas A., García-Rodríguez L. et al.) не встановили різниці у частоті ентеропатії на тлі застосування інгібіторів протонної помпи (ІПП) і без них [45,51].

Зрозуміло, що одночасне призначення НПЗП та АСК супроводжується ще більшим пошкодженням кишковика [31,52] і асоційоване з підвищеним ризиком дивертикуліту та кровотечі з дивертикулів [53,54]. Так, у квітні 2008 року Rahme et al. був опублікований результат дослідження частоти госпіталізації у провінції Квебек, Канада, у зв'язку з верхніми і нижніми ШК-подіями, асоційованими з прийомом традиційних НПЗП з аспірином літніми пацієнтами. Згідно з результатами даного дослідження, у пацієнтів з ревматоїдним артритом і остеоартритом дивертикуліт і дивертикулярні кровотечі виявилися найбільш частими проявами уражень кишковика, становлячи 30-50% всіх серйозних кишкових подій, пов'язаних з НПЗП [55].

Розглянемо більш докладно основні гіпотези та моделі виникнення та розвитку НПЗП-ентеропатії.

Патогенез НПЗП-ентеропатії

Патогенез НПЗП-ентеропатії вивчений менше, ніж НПЗП-гастропатії та суттєво відрізняється від нього за додатковими факторами ушкодження СО [53]. Як відомо, у патогенезі НПЗП-гастропатії провідну роль відіграє пригнічення синтезу простагландинів (ПГ) внаслідок зниження активності ЦОГ, і такі ураження успішно лікуються та попереджаються кислотознижувальними препаратами, а саме ІПП, які знижують агресивність шлункового соку і, таким чином, запобігають його руйнівній дії на СО. Суттєвими патогенетичними факторами НПЗП-ентеропатії вважаються: пряма цитотоксична дія НПЗП на СО ТК, патологічний вплив кишкових бактерій, жовчі та ентерогепатична рециркуляція НПЗП [31,32] (Рис. 1.2).



Рис. 1.2: «Порочне коло» патогенезу НПЗП-ентеропатії: взаємодія жовчі, кишкових мікроорганізмів і ентерогепатичної рециркуляції НПЗП у патогенезі НПЗП-ентеропатії (Blackler RW, Gemici B, Manko A, Wallace JL. *Curr Opin in Pharm*, 2014) [31].

I. Vjarnason та K. Takeuchi (2009) виділяють у дії НПЗП 3 основних напрямлення дії: інгібування ЦОГ-1, інгібування ЦОГ-2 та топічний ефект.

В якості моделі механізмів ентеротоксичності НПЗП Y.J. Lim та Ch.-H. Yang (2012) описують «теорію 3 ударів» [15] з посиланням на I. Vjarnason et al., 1993. На 1-му етапі, НПЗП розчиняють фосфоліпиди на поверхні СО ТК та спричиняють прямий негативний вплив на мітохондрії ентероцитів. Думки дослідників щодо зв'язку цих ланок ушкодження мітохондрій різні: I. Vjarnason зі співавторами у багатьох статтях (1993, 1995, 2009) акцентують увагу на прямому ушкодженні мітохондрій шляхом розриву процесу окисного фосфорилування [56,57] і вважають цей процес незалежним від прямого ушкодження мембран клітин [41]; інші – наприклад, Y.J. Lim та Ch.-H. Yang (2012) пишуть про вторинне ушкодження мітохондрій унаслідок

порушення цілісності клітинних мембран [15]. На 2-му етапі пошкодження мітохондрій призводить до виснаження резервів АТФ та відтоку кальцію, що посилює виснаження резервів АТФ та супроводжується утворенням вільних радикалів і підвищенням проникності СО, яка, на думку більшості дослідників, відіграє центральну роль у патогенезі НПЗП-індукованої ентеропатії [41,57]. Підвищена проникливість розвивається вже протягом 12-ти перших годин з моменту разового прийому середньостатистичного НПЗП [58] і сприяє проникненню агресивних факторів просвіту кишкового та бактеріальній інвазії внаслідок втрати бар'єрної функції кишкового з подальшою запальною реакцією у пошкоджених тканинах [58]. На 3-му етапі агресивні чинники кишкового, такі як жовчні кислоти, протеолітичні ферменти, кишкові бактерії та їх токсини легко проникають крізь пошкоджений бар'єр у товщу СО, що поглиблює її хімічну травму. Утворене пошкодження поглиблюється хемотаксисом до місця ушкодження нейтрофілів, які виділяють лізосомальні ферменти [56].

Подібна до вищезгаданої модель патогенезу НПЗП-ентеропатії представлена на рис. 1.3.

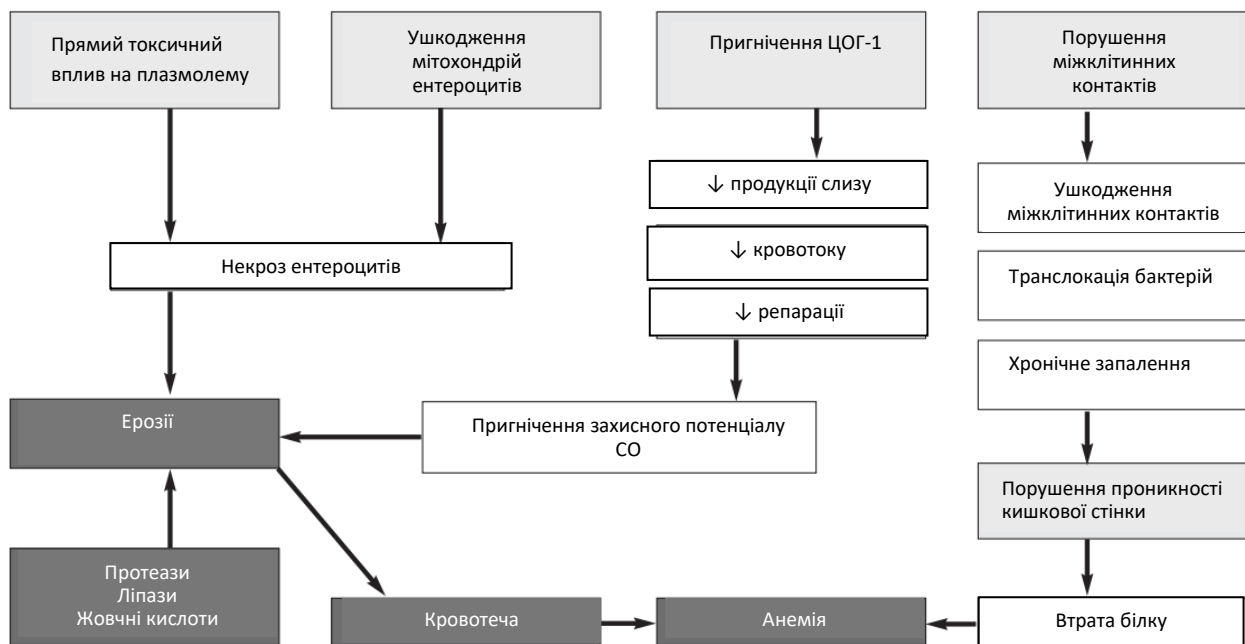


Рис. 1.3. Модель патогенезу НПЗП-індукованої ентеропатії (адаптовано з Евсеев М.А., 2013) [39].

Наступні гіпотези вивчали патогенетичну роль ЦОГ. Загальновідома роль ЦОГ та її ізоформ у захисті цілісності кишкового епітелію [42]. За даними А. Tanaka et al. (2002), для ушкодження СО ТК необхідне одночасне інгібування ЦОГ-1 та ЦОГ-2, що призводить до вираження СО ТК. Ізольоване інгібування ЦОГ-2 не призводить до значних змін морфології СО. Ізольоване інгібування ЦОГ-1, хоча й знижує продукцію ПГ, але не призводить до пошкодження СО. Автори пов'язали цей феномен з компенсаторним підвищенням активності ЦОГ-2 у відповідь на інгібування ЦОГ-1 [50]. За І. Bjarnason та К. Takeuchi (2009), основна роль зниження активності ЦОГ-1 полягає в унеможливленні підвищення кровопостачання ураженої ділянки СО і, внаслідок цього, ішемічного її пошкодження [41]. Короткотривале застосування ЦОГ-2 інгібіторів не викликає підвищеної проникливості СО ТК, однак довготривале пригнічення ЦОГ-2, не викликаючи ушкодження шлунка, все ж викликає гостре ушкодження ТК з можливістю її перфорації, вірогідно, за рахунок імуномодулюючої дії ЦОГ чи «прозапальної» ролі її пригнічення [41]. Топічна дія ж складається з безпосереднього ушкодження фосфоліпідної мембрани та ушкодження мітохондрій шляхом роз'єднання ланцюжка окисного фосфорилування [41], з виходом у підвищення проникності, як було описано вище. За даними, наведеними І. Bjarnason та К. Takeuchi (2009), топічний ефект посилює ушкодження СО, викликане одночасним інгібуванням ЦОГ-1 та ЦОГ-2, інгібуванням лише ЦОГ-2, і не підвищує ступінь ушкодження СО, яке викликане інгібуванням лише ЦОГ-1 [41].

Таким чином, ентеротоксична дія НПЗП є наслідком інгібування ЦОГ, не обмежуючись, однак, лише нею, але залучає багатофакторний нелінійний механізм ушкодження на клітинному, тканинному, а потім і органному рівнях, за участі бактерій просвіту кишки та, можливо, імунний механізм.

Іншим фактором патогенезу НПЗП-ентеропатії, як і гастропатії, стають порушення мікроциркуляції та, як наслідок, підвищення кишкової моторики, які супроводжують використання НПЗП [42,58]. Додатковими факторами вважаються порушення роботи NO-синтази, дія прозапальних цитокінів,

нейтрофільна інфільтрація та дія вільних радикалів [42]. Watanabe et al. відзначали, що у патогенезі НПЗП-ентеропатії серйозну роль відіграє активація ліпополісахаридного/Toll-like 4-рецепторного/MyD88-залежного сигнального шляху [42]. Молекулярно-клітинний патогенез НПЗП-ентеропатії наведено на рис. 1.4.

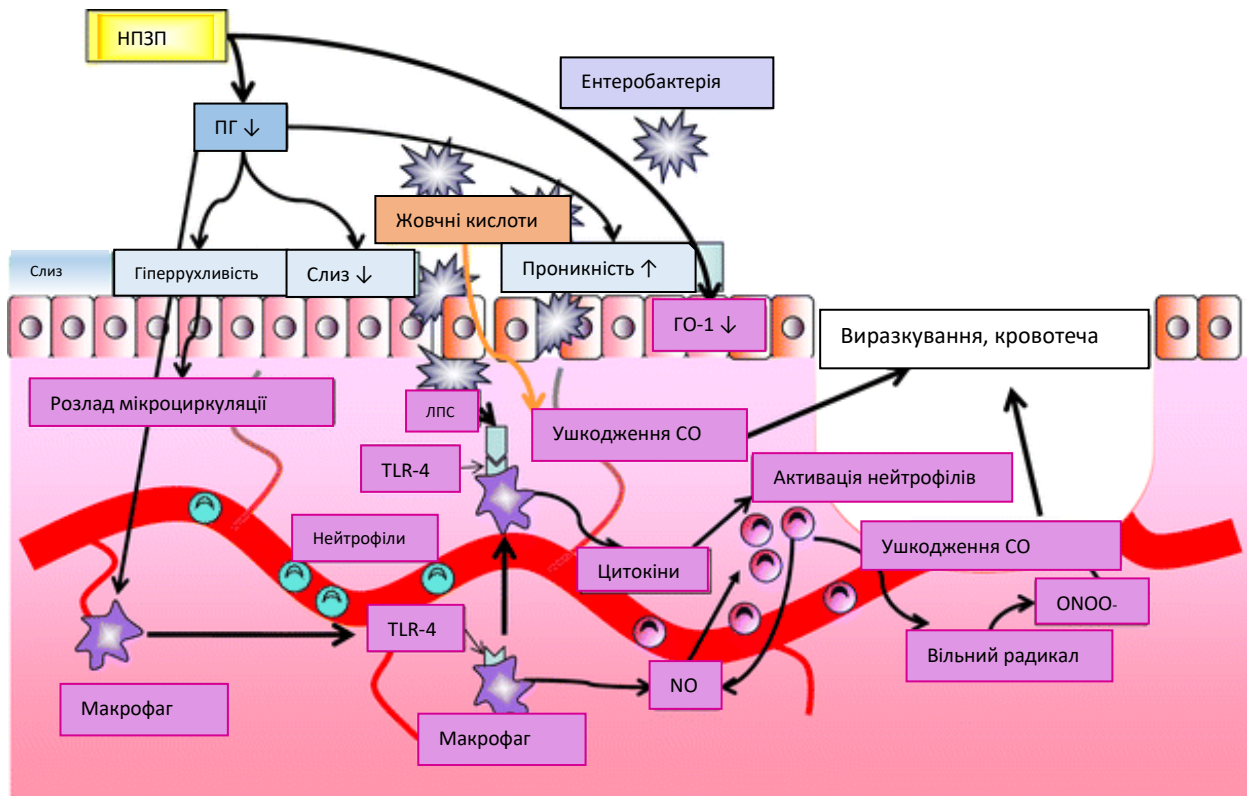


Рис. 1.4. Молекулярно-клітинний механізм пошкодження кишковика при НПЗП-ентеропатіях (Higuchi K, Umegaki E, Watanabe T, et al. 2009) [42].

Примітки: ГО-1 – гемоксигеназа-1; ЛПС-ліпополісахариди; TLR4 – Toll-like рецептор 4.

Як видно з даного рисунку, внаслідок зниження рівня ендогенних ПГ, що викликається застосуванням НПЗП, відбувається зниження продукції слизу, підвищена моторика кишковика, пошкодження міжклітинних зв'язків, що призводить до підвищення проникності кишкової стінки. Безпосереднє пошкодження СО кишкової стінки посилюється впливом жовчних кислот, ферментів кишковика, мікроорганізмами або токсинами. Паралельно з цим виникає запалення, викликане прозапальними цитокінами (які своєю появою в

значній мірі зобов'язані ліпополісахаридам бактерій), що призводить до нейтрофільної інфільтрації стінки кишкового. На даній схемі не вказаний прямий вплив НПЗП на СО шляхом розчинення фосфоліпідів клітинних мембран, який описаний вище.

Ще одним важливим механізмом розвитку НПЗП-ентеропатії, як зазначалося вище, є їх ентерогепатична рециркуляція [31,38,52] (Рис. 1.5). Означене явище багаторазово підсилює здатність НПЗП викликати кишкові пошкодження та призводить до підвищення концентрації та збільшення часу перебування НПЗП у кишковоку.

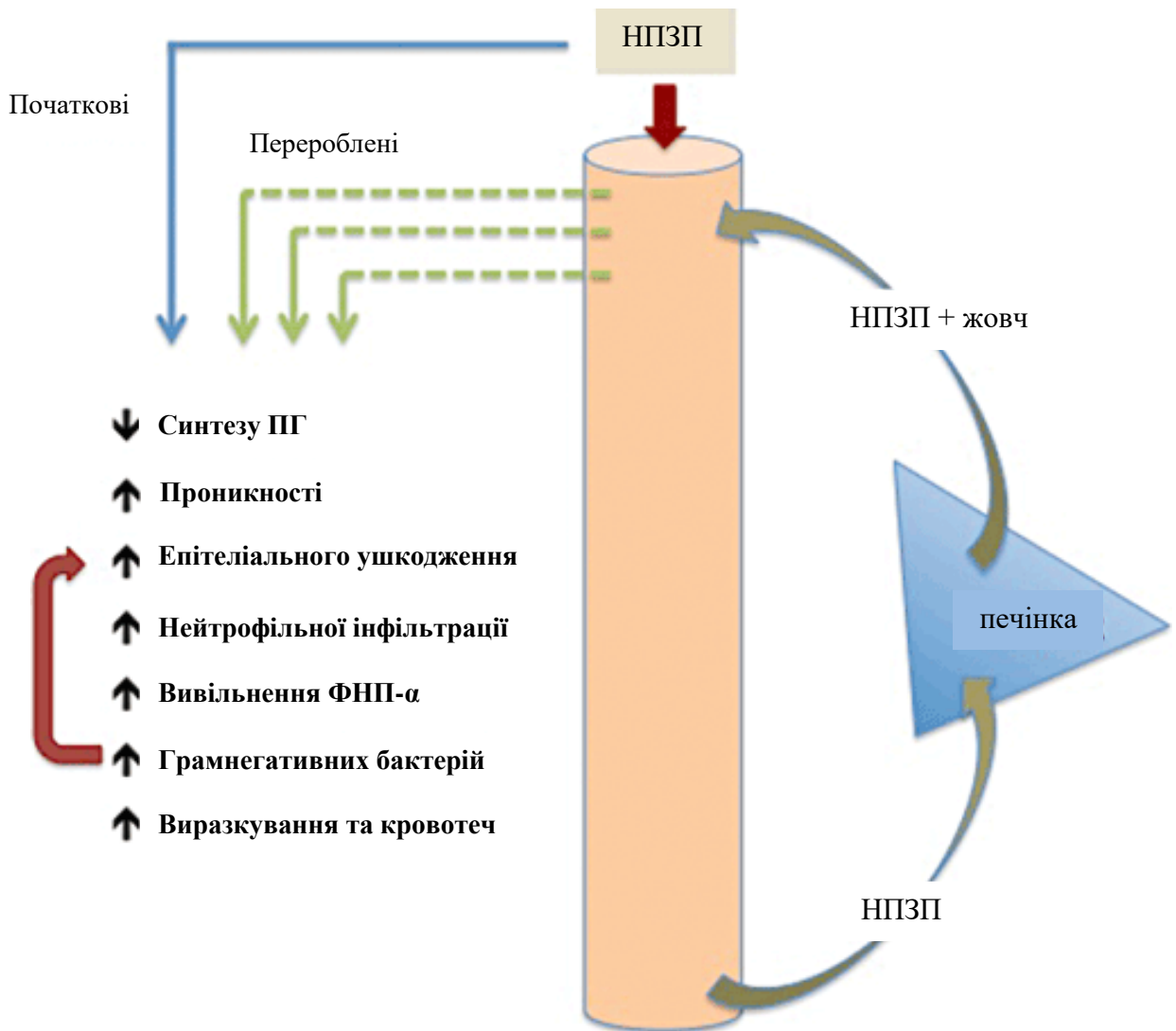


Рис. 1.5. Ентерогепатична рециркуляція НПЗП та пошкодуючі механізми впливу НПЗП на кишковик (J.L. Wallace, 2012) [52].

Примітки: ФНП-α – фактор некрозу пухлин α; ПГ – простагландини.

Як видно з рисунка 5, первинні ефекти НПЗП спричинені безпосереднім впливом лікарського засобу (ЛЗ). Вторинні ефекти спричинені дією ЛЗ після його проходження шляхом ентерогепатичної рециркуляції (крізь печінку та вивільненням у порожнину кишкового з жовчю). НПЗП, які піддаються ентерогепатичній рециркуляції, пошкоджують стінку кишкового сильніше, ніж ті, які діють на неї безпосередньо, оскільки у взаємодії з жовчю вони справляють синергічний цитолітичний вплив на ентероцити. Окремим фактором патогенезу вважається вплив грам-негативних бактерій кишкової флори, що підтверджується дослідженнями з використанням ліній стерильних мишей, в плані щодо запобігання даного стану за допомогою антибіотикотерапії та корекції кишкової мікрофлори пробіотиками [59].

Таким чином, патогенез НПЗП ентеропатії є багатоступеневим складним процесом, обумовленим як безпосередньо місцевою токсичною та ЦОГ-обумовленою дією НПЗП, так і складним механізмом, що запускається ними на клітинному, та тканинному рівнях з залученням факторів агресії кишкового (ферментів, жовчі та мікробіоти).

Клінічні прояви НПЗП-індукованих уражень кишкового

Найчастіше НПЗП-ентеропатії протікають безсимптомно [58], тим не менш, часто стають причинами анемії чи гіпопротеїнемії внаслідок хронічної крововтрати навіть при негативних результатах нижньої ендоскопії [53]. Рідше цей стан викликає неспецифічні скарги, такі як болі в животі. У статті Y.J. Lim та Ch-H. Yang 2012 року [15] вказані такі клінічні прояви, як епігастральний біль, нудота, порушення травлення, закрепи, чи, навпаки, діарея.

Внаслідок проліферативних процесів, що розвиваються як результат хронічного, тривалого запалення, іноді виникають специфічні органічні зміни у стінці кишки у вигляді діафрагмоподібних стриктур [3,41,53,60,61]. Вони є патогномонічними саме для НПЗП-уражень кишкового. Діафрагмоподібна стриктура є концентричним павутинчастим утворенням, в середньому від 2 до 4 мм завтовшки, які видаються в просвіт ТК і звужують його. При цьому вони

не пов'язані з судинними сплетіннями [39]. Їх знаходять, разом з сегментарним виразкуванням СО кишковика, у пацієнтів, які приймають НПЗП і мають анемію та/або симптоми кишкової обструкції [62]. Діафрагмоподібні стриктури проявляються неспецифічно, переважно у вигляді симптомів обструкції кишковика [15]. За даними M-L. Wang et al. (2011), патогенез діафрагмоподібних стриктур й досі незрозумілий [60,61]. С. Sostres et al. (2013) висловили думку, що діафрагмоподібні стриктури формуються після загоєння НПЗП-виразок, як наслідок фіброзу [3], що підтверджується гістологічними даними, а саме порушенням структури СО, фіброзом та виразкуванням [61]. Вперше дана патологія була описана J. Lang et al. (1988), як рідкісне ускладнення тривалої терапії НПЗП [61,63]. Вона виникає у 2% пацієнтів, що приймають НПЗП [39,64], частіше у клубовій кишці [61,63,65,66] та в середній третині ТК [39]; рідше – у ДПК [67,68]. Є повідомлення про діафрагмоподібні стриктури товстої кишки [50,61] та тіла шлунка [61].

Наявні опубліковані дані щодо численних випадків кишкових перфорацій [39], в т.ч. дивертикулярних [69], на тлі прийому НПЗП. Знайдено літературні описання клінічних випадків гастроколональної фістули [70] і НПЗП-ентеропатії, яка мала ендоскопічну картину, подібну хворобі Крона [71].

Втрати білку, приховані кровотечі з ушкоджених ділянок СО, діафрагмоподібні стриктури, що утворюються при їх загоєнні, можуть спричиняти подальші ускладнення у вигляді гіпоальбумінемії, залізодефіцитної анемії та часткової кишкової непрохідності.

Класифікація та види уражень кишковика

НПЗП-індукована ентеропатія може бути віднесена до різновидів мікроскопічного ентериту (МЕ) – діагностичної категорії та патологічного стану, які характеризуються мікроскопічними та/чи субмікроскопічними змінами СО ТК, і в цьому дещо нагадують запальні захворювання кишковика. Гістологічна структура ворсинок СО ТК при МЕ, як правило, збережена, при цьому СО інфільтрована лімфоцитами. Виразкоутворенню передують вкорочення

ворсинок СО ТК та набряк епітелію. Ці зміни часто розглядаються як ранні прояви НПЗП-ушкодження (Губская Е.Ю., 2016) [72].

Узагальнений спектр НПЗП-індукованих уражень кишковика поданий у таблиці 1.2

Таблиця 1.2

Спектр вивчених проявів та ускладнень НПЗП-індукованих ентеро-та колопатій (Are C., Turagam M., Aucar J.A. et al., 2011) [58]

Тонка кишка:

- Підвищена кишкова проникність
- Кишкове запалення
- Мальабсорбція та атрофія СО
- Виразкування
- Кишкова перфорація
- Діафрагмоподібні стриктури
- Атрофія ворсинок СО

Товста та пряма кишка:

- Неспецифічний коліт
- Еозинофільний коліт
- Колагенозний коліт
- Товстокишкові виразки
- Діафрагмоподібні стриктури
- Проктит
- Ректальні виразки

Ускладнення інших хронічних захворювань на тлі НПЗП-терапії:

- Гострі ускладнення дивертикулярної хвороби (перфорація, кровотеча)
- Рецидив запального захворювання кишковика
- Кровотеча з ангіодиспластичного ушкодження

Частота виявлення основних побічних ефектів НПЗП з боку кишковика наведена у табл. 1.3:

Таблиця 1.3

Частота виявлення основних побічних ефектів НПЗП у нижніх відділах ШКТ (Sostres C., Gargallo C.J., Lanas A., 2013) [3]

Побічна дія	Частота (%)
Підвищена кишкова проникність	від 44 до 70
Запалення кишковика	від 60 до 70
Крововтрата та анемія	30
Мальабсорбція	від 40 до 70
Виразкування СО	від 30 до 40

Як видно з цієї таблиці, запалення кишковика, підвищена проникність кишкової стінки та мальабсорбція є найбільш поширеними несприятливими побічними ефектами (ПЕ) НПЗП з високою частотою виникнення. Виразкування СО та крововтрата є менш поширеними та уражають приблизно третину хворих.

Діагностика НПЗП-індукованих уражень кишковика

Діагностика НПЗП-ентеропатії має ґрунтуватися на анамнестичній исторії відносно НПЗП-ентеротоксичності [58], а саме – відомостях щодо самого факту застосування НПЗП (а також його складу, дози, тривалості застосування та способу введення). Основними підходами до діагностики НПЗП-ентеропатії є: 1) візуалізуючі методи – ендоскопія [73]; 2) функціональні проби, які діагностують зміни проникності СО ТК [73]; 3) методи діагностики запалення СО ТК – сцинтиграфія з використанням помічених ізотопом індію-111 лейкоцитів (¹¹¹In-мічені лейкоцити), а також

підрахунок таких лейкоцитів у калі та визначення фекального кальпротектину. Разом зі ^{111}In -міченими лейкоцитами у деяких експериментах використовувалися $^{99\text{m}}\text{Tc}$ - (Vjarnason, et al., 1993) [56] та ^{51}Cr -мічені еритроцити (Vjarnason, et al., 1987) [40]. Обидва методи показали однакову результативність порівняно з ^{111}In -міченими лейкоцитами у визначенні локалізації та ступеня тяжкості запальних і геморагічних змін кишковика. Тест з вуглеводами заснований на здатності моносахаридів проникати крізь водяні пори у пошкодженій СО, а дисахаридів – через порушені міжклітинні з'єднання. ^{51}Cr -ЕДТА-метод був розроблений та найчастіше використовується для визначення швидкості клубочкової фільтрації, але був застосований і як маркер запальних захворювань кишковика [73]. На думку N.M. Davies et al., ^{51}Cr -ЕДТА-метод зарекомендував себе як добре відтворюваний, простий, точний та безпечний тест на кишкову проникність [73]. Він виявився достатньо чутливим, щоб виявити підвищення кишкової проникності після 2-разового вживання 1,2 мг АСК, 400 мг ібупрофену чи 75 і 50 мг індометацину, і мав статистично значущу відмінність в результатах при визначенні після вживання 750 і 100 мг напроксену [73]. Сцинтиграфія з використанням ^{111}In -мічених лейкоцитів є радіологічним методом, заснованим на виявленні міграції лейкоцитів до джерела запалення, яке неминуче виникає при НПЗП-ентеропатіях. Через 4 дні після введення в організм ^{111}In -мічених лейкоцитів, їх можна виявити у калі лабораторно. Сцинтиграфія та виявлення мічених лейкоцитів у калі разом складають достатньо чутливий кількісний спосіб вимірювання ступеня активності кишкового запалення [73], незважаючи на їх недостатню специфічність [53,58].

Фекальний кальпротектин (ФКП) є найвживанішим у сучасній практичній медицині неінвазивним маркером виявлення інтестинального запалення. Він являє собою недеградований цитозольний білок нейтрофілів і його підвищення може бути ефективним та чутливим маркером діагностики НПЗП-ентеропатії [73]. У різних дослідженнях вивчалися кількісне виділення ФКП з калом при прийомі індометацину та напроксену; лорноксикаму та

напроксену. Результати вказували на значне підвищення рівня ФКП у групах прийому індометацину та напроксену і відсутність такого у групі лорноксикаму [73]. В іншому дослідженні концентрація ФКП порівнювалася із 4-денною екскрецією ^{111}In -мічених лейкоцитів в оцінці розповсюдженості та ступеня тяжкості НПЗП-ентеропатії. У дослідженні було задіяно 312 пацієнтів: 192 хворих на ревматоїдний артрит, 65 – на остеоартрит та 55 на інші захворювання, які приймали 18 різних НПЗП [73]. Концентрація ФКП була значно вищою у пацієнтів, що приймали НПЗП, ніж у пацієнтів групи контролю, демонструючи високий ступінь кореляції з результатами екскреції ^{111}In -мічених лейкоцитів [73]. Частота виявлення і тяжкість втрат білку та міграції лейкоцитів не залежали від типу та дози НПЗП [73].

Досліджувався також термін, за який підвищується рівень ФКП після початку прийому НПЗП та час, через який цей показник повертається до норми після припинення їх прийому (Rendek et al., 2016) [74]. Дослідження було проведено на 30 здорових волонтерах, які приймали диклофенак 50 мг тричі на добу протягом 14 днів, і яким проводилося дослідження проби калу на 0, 2, 4, 7, 14 день та на 17, 21, та 28 день дослідження, і потім з інтервалом 7 днів до нормалізації рівня ФКП. Було виявлено, що на тлі прийому диклофенаку у 27% піддослідних рівень ФКП перевищив норму (медіана 76 мкг/г, діапазон 60-958 мкг/г), що відповідало 8,3% вимірів. Цей показник у даної групи досліджуваних нормалізувався ще під час прийому диклофенаку. В середньому, рівень ФКП був значно вищим протягом прийому ($M=9,5$, міжквартильний діапазон 13,4) за базовий рівень ($M=9,5$, міжквартильний діапазон 0,0), $p=0,003$. У 2 учасників дослідження ФКП залишався підвищеним на 17-й та 21-й день (вже після відміни препарату). Статистично значущої різниці між базовим рівнем ФКП та його рівнем після відміни диклофенаку виявлено не було. Через 2 тижні після припинення прийому диклофенаку у всіх учасників рівень ФКП був у межах норми [74]. Як видно з наведеного дослідження, рівні ФКП дозволяють визначити наслідки впливу НПЗП на ШКТ, час зареєстрованого

впливу цілком співпадає з прогнозованим за патогенезом та даними морфологічних досліджень на тваринах.

Фіброгастроуденоскопія і колоноскопія є діагностично ненадійними через те, що ураження найчастіше локалізуються саме в ТК. Радіологічні методи часто дають хибнонегативний результат та не визначають поверхневі дефекти СО, хоча і можуть допомогти в постановці діагнозу [58].

ВКЕ і тонкокишкова (двобалонна) ентероскопія визнані «золотим стандартом» діагностики ураження ТК [15,58]. ВКЕ є більш ефективною економічно при діагностиці прихованих кровотеч [75]. Ускладненнями ВКЕ є затримка капсули в кишковоки і його обструкція, чому може додатково сприяти наявність діафрагмоподібних стриктур. Попередити такі випадки допомагає використання «капсул прохідності» («patency capsule») [58] – кишковорозчинних капсул, що містять радіоактивну мітку і дозволяють відстежити пересування кишкових мас. Треба відмітити, що в Україні існує дуже невелика кількість центрів, які оснащені відповідним устаткуванням та можуть виконувати ВКЕ, і дане дослідження є недоступним для значної частини пацієнтів.

Профілактика та лікування НПЗП-ентеропатій

R.W. Blackler et al., 2014, а також Y.J. Lim та Ch-H. Yang, 2012, схиляються до думки, що на теперішній момент не існує ефективних, доступних та загальноприйнятих препаратів для лікування або профілактики НПЗП-ентеропатії [15,31,58]. Є суперечливі дані, які свідчать про те, що селективні інгібітори ЦОГ-2 виявляють менш виражену шкідливу дію на кишковик, ніж неселективні [15,76]. Наприклад, J.L. Goldstein et al. встановили, що целекоксиб, як селективний інгібітор ЦОГ-2, чинить достовірно меншу шкідливу дію на СО ТК, ніж напроксен у поєднанні з омепразолом [15,46]. L. Maiden et al., навпаки, не знайшли суттєвої різниці між частотою розвитку НПЗП-ентеропатії у пацієнтів, що приймають неселективні та селективні інгібітори ЦОГ-2 [77]. За даними огляду, проведеного I. Vjarnason та

К. Takeuchi, 2009, ЦОГ-2 селективні НПЗП є менш шкідливими для СО лише при короткочасному застосуванні [41]. Ураження ТК при використанні селективних інгібіторів ЦОГ-2 впродовж тривалого часу (більше трьох місяців) порівняне з таким при використанні неселективних інгібіторів ЦОГ [41]. З цього можна зробити висновок, що ЦОГ-2 селективні НПЗП не показали суттєвого поліпшення кишкової безпеки в порівнянні з неселективними при тривалому прийомі [64]. Перспективними у цьому напрямку вважалися проліки, такі як суліндак. В окремих дослідженнях, він справді показав суттєво меншу ентеротоксичність, ніж активні форми неселективних НПЗП [56], однак, згідно більш нових даних, він все ж асоціюється з високим ризиком клінічно маніфестних виразок [78]. Тому було запропоновано застосування комплексів та сполук НПЗП із речовинами, які чинять цитопротекторну дію, пригнічуючи запалення. У декількох дослідженнях було показано кращу переносимість та дещо вищу ефективність NO-напроксену (NO-вивільнюючого похідного напроксену) у порівнянні з традиційним напроксом [52]. На ринку фармацевтичної продукції вже наявний НПЗП, який стимулює виділення NO (амтолметин гуацил) [79,80]. Інший тип, гідроген сульфід-вивільнюючі похідні НПЗП (H₂S-НПЗП), при дослідженні на тваринах продемонстрували незначну, на відміну від звичайних, ентеротоксичність, а також більшу ефективність [52]. Також нами було знайдено декілька досліджень, що підтверджують ефективність пробіотиків при індометацин- чи АСК-індукованій ентеропатії, на лабораторних тваринах та *in vitro* [81,82]. Так, у дослідженні М. Vogas et al., 2006, було відмічено зменшення ушкоджень ТК у пацієнтів, які приймали низькі дози АСК, на тлі застосування *Lactobacillus casei* [83]. За іншими даними, прийом живої культури *Lactobacillus* зменшував ушкодження СО шлунку, але не товстої кишки (М. Gotteland, S. Cruchet, S. Verbeke, 2001) [84].

Серед можливих методів профілактики НПЗП-ентеропатії пропонуються гідроген сульфід [31], мізопростол (результати досліджень різняться, ефект дозозалежний, потребує призначення великих доз та зменшується зі зростанням часу лікування) [56,58], ребаміпід [58], оксид азоту [85], а також низка інших

фармакологічних засобів. У дослідженні препаратів, що використовуються для лікування пептичної виразки чи запальних захворювань кишковика для лікування індометацин-індукованої ентеропатії [42,86], отримано дані щодо ефективності тепренона, ребаміпіда, ірзогладина та мізопростолу [42]. Ребаміпід є одним із широко вживаних препаратів для профілактики НПЗП-уражень усіх відділів ШКТ. Він довів свою ефективність у багатьох дослідженнях. Так, у дослідженні S. Fujimori et al., 2010, де порівнювалися кількість виявлених уражень СО ТК при прийомі диклофенаку натрію 75 мг/добу та омепразолу 20 мг/добу, з ребаміпідом 300 мг/добу чи плацебо, серед пацієнтів, у яких були виявлені такі ушкодження, ребаміпід достовірно знижував кількість уражень СО [87]. Сукральфат виявився ефективним лише для профілактики уражень верхніх відділів ШКТ [73]. Відносно ППП – дані дещо суперечливі. У той час як практично всі сучасні дослідники сходяться на думці про те, що зниження шлункової кислотності не чинить суттєвої ентеропротективної дії [41,58,86], є дані про те, що лансопразол [42,86] та рабепразол [42] мають ентеропротективну дію, на відміну від омепразолу [42,86]. Автори це пояснюють можливою дією лансопразолу, яка не обумовлена зниженням рН шлункового соку [42].

На сьогоднішній день не існує загальноприйнятих або протокольних методів лікування НПЗП-ентеропатії. Найбільш надійним методом є відміна прийому НПЗП [58,73]. Низкою дослідників (Fujimori et al., Watanabe et al., 2012) була показана ефективність мізопростолу при диклофенак- та аспірин-індукованій ентеропатії [15]. Ними було встановлено, що він, хоча і не попереджує розвиток НПЗП-ентеропатії, але зменшує запалення і гостроту симптомів у пацієнтів [41]. Також була встановлена ефективність метронідазолу, який, зменшуючи ступінь бактеріальної інвазії, опосередковано зменшує ступінь пошкодження кишкової стінки [44]. Інший можливий механізм дії метронідазолу пов'язаний зі зменшенням пригнічення окисного фосфорилування, викликаного дією НПЗП [41]. У деяких пошукових дослідженнях було виявлено позитивний ефект сульфасалазину [41,53].

Загалом, зважаючи на особливості патогенезу, переведення пацієнта з одного НПЗП на інший не є ефективним в лікуванні ентеропатії [53].

Одними з найдоведеніших, найефективніших і найчастіше призначуваних засобів для лікування захворювань опорно-рухового апарату, є НПЗП. Але НПЗП, незважаючи на високу ефективність для купірування болю та протизапальну активність, мають несприятливі ефекти, найбільш частим і клінічно значущим з яких є гастроентеротоксичність. НПЗП-ентеротоксичність, складаючи близько 40% від усіх серйозних побічних ефектів НПЗП, є серйозною загрозою для здоров'я, іноді і життя хворого. За різними даними, вона має місце у 40-70% пацієнтів, які приймають НПЗП, і є не менш розповсюдженою, ніж НПЗП-гастропатії, складаючи до двох третин випадків НПЗП-гастроентеротоксичності.

Розповсюдженість НПЗП-ентеропатії вивчена недостатньо через складність та високу вартість досліджень, а також через її зазвичай згладжену клінічну картину. «Золотим стандартом» виявлення НПЗП-гастропатій є відеокапсульна ендоскопія та тонкокишкова (двобалонна) ентероскопія. Також можуть бути використані лабораторні методи виявлення прихованої крові у калі (при негативних результатах ФЕГДС), аналіз фекального кальпротектину як маркера запалення кишкового, та функціональні тести (радіоізотопне сканування з ^{111}In -міченими лейкоцитами та ^{51}Cr -міченою етилендіамінтетраоцтовою кислотою) для виявлення підвищеної проникності та запалення кишкової стінки.

Найнадійнішим методом лікування та профілактики НПЗП-індукованої ентеропатії є відміна НПЗП. Зниження рН шлункового соку також не дає вірогідної ентеропротективної дії. З метою профілактики та лікування НПЗП-індукованих уражень нижніх відділів травного тракту досліджувалося багато лікарських засобів та методик, проте, на сьогоднішній день жодні з них не є загально визнаними, що потребує подальших досліджень.

1.2. Особливості змін кишкового мікробіому у хворих на остеоартрит

Наразі накопичується усе більше даних щодо взаємозв'язку між кишковою мікрофлорою та розвитком патології опорно-рухового апарату. Вже не викликає сумнівів вплив кишкової мікробіоти на виникнення ожиріння та метаболічного синдрому [88,89]. У той же час є добре відомим взаємозв'язок цих двох патологій з остеоартритом (ОА). Серед особливостей цієї патології – чітка асоціація ОА колінних суглобів з ожирінням та ОА кистей з проявами метаболічного синдрому – гіперглікемією, гіперліпідемією, а також зі змінами складу кишкової мікрофлори [90,91]. Досліджено, що у хворих на ОА при ожирінні збільшується кількість умовно-патогенних бактерій на фоні зменшення вмісту бактероїдів; також, у таких хворих зі збільшенням ступеня ожиріння підвищується частота виділення ентерококів при зниженні їх абсолютної кількості у складі мікробіом [92]. Досить детально вивчено роль кишкової мікрофлори в патогенезі аутоімунних захворювань, в тому числі запальних захворювань суглобів – ревматоїдного артрити, анкілозуючого спондилоартрити і псоріатичного артрити [93,94]. Важливе значення в активації запального процесу у хворих на ревматоїдний артрит має такий кишковий мікроорганізм, як *Prevotella copri* [95].

Значно менша кількість даних стосується ролі кишкової мікробіоти у патогенезі ОА. Так, в експериментальних роботах показано роль кишкової мікрофлори в генезі запального ушкодження хряща у тварин з ожирінням [29]. Одним з факторів, які провокують таке пошкодження вважають бактеріальні ліпополісахариди, що виробляються кишковими мікроорганізмами – грамнегативними бактеріями. В умовах підвищеної кишкової проникності, рівень ліпополісахаридів підвищується у пацієнтів з ОА не тільки в крові, але і в синовіальній рідині. Їх концентрація корелює з тяжкістю ураження суглобів, вираженістю больового синдрому і ступенем звуження суглобової щілини [30]. В експерименті показано, що застосування пребіотика олігофруктози у тварин з ожирінням і остеоартритом призводить до нормалізації кишкової мікрофлори, зменшення мікрозапалення (в т.ч. синовіальної оболонки) і вираженості

ураження суглобів [96]. Обговорюється роль кишкової мікрофлори у розвитку остеопорозу [97]. Добре відомим є взаємозв'язок остеопорозу і ОА [98].

Зосередимося докладніше на можливих механізмах впливу кишкових мікроорганізмів на суглоби. Грамнегативна кишкова мікрофлора здатна продукувати, а потім виділяти везикули, що містять ліпополісахариди та протеїни. Везикули, особливо за підвищеної кишкової проникності, здатні всмоктуватися в кров і розповсюджуватися по всьому організму, в тому числі проникати в порожнину суглобів. Залежно від свого складу такі везикули можуть обумовлювати як про-, так і протизапальну дію. Прозапальний ефект ліпополісахаридів в значній мірі обумовлений ліпідом А, сполученим з ліпідзв'язуючим протеїном. Подібний прозапальний комплекс активує нейтрофіли і макрофаги. Активовані клітини запускають запальний каскад, що включає інтерлейкін (IL)-1 β , фактор некрозу пухлин (TNF), матриксні металопротеїнази (ММР), вільні радикали, які несприятливо впливають на суглобові структури [99]. Підвищений рівень мікробних ліпополісахаридів викликає мікрозапалення, характерне для хворих з ожирінням і метаболічним синдромом. Він, у свою чергу, активує синтез прозапальних цитокінів, таких як IL-1, IL-6, TNF- α , ІАП-1 (інгібітор активатора плазміногена-1), що в подальшому призводить до запалення [92]. Добре відома роль Toll-like рецепторів (TLR) четвертого типу і їх корецептора MD-2 в активації як макрофагів, так і синовіоцитів. Особливо значущою є роль цього механізму при вживанні в їжу великої кількості тваринних жирів. У фізіологічних умовах мікробні ліпополісахариди інактивуються печінкою, однак, при їх надлишку відбувається накопичення таких продуктів в гепатоцитах з формуванням неалкогольної жирової хвороби печінки зі зниженням її знешкоджуючої здатності. У товстому кишковику за цих умов спостерігається дисбіоз, що супроводжується зменшенням кількості грампозитивних біфідобактерій і наростанням грамнегативної флори. Ще одним фактором ризику ОА є низька фізична активність, яка супроводжується зниженням рівня ліпопротеїдів

високої щільності, що здатні знижувати рівень ліпополісахаридів і запобігати пошкодженню не тільки печінки, але і суглобів [30].

Одним з механізмів впливу кишкових мікроорганізмів на перебіг ОА може бути зміна метаболізму різних лікарських засобів під впливом останніх. Цікаві дані наведені в дослідженні Wang Q. та співавт. (2017), які показали, що деградація хондроїтину у кишковоку залежить, з одного боку, від співвідношення мікроорганізмів, які секретують сульфатазу та сульфатредуючі бактерії, з іншого – їх антагоніста *Akkermansia muciniphila*. Обидві ці групи мікроорганізмів конкурують за субстрат, що містить сульфгідрильні групи, в даному випадку – хондроїтин. Тому в присутності *A. muciniphila*, що захищає хондроїтин сульфат від розпаду, препарат ефективний, а при її відсутності – ні [28]. У невеликому китайському дослідженні показано роль *Bacteroides thetaiotaomicron* J1, *Bacteroides thetaiotaomicron* 82, *Bacteroides ovatus* E3, та *Clostridium hathewayi* R4 в деградації хондроїтин сульфату у здорових людей [100].

Важливим є те, що під впливом лікування ОА нестероїдними протизапальними препаратами (НПЗП), незалежно від того, чи це селективні, чи неселективні препарати, є великий ризик виникнення НПЗП-асоційованих уражень кишковоку. У зв'язку з тим, що НПЗП-асоційовані ентеропатії здебільшого мають асимптоматичний характер, протягом тривалого часу цій проблемі не приділялось належної уваги лікарів. За відсутності будь-яких специфічних маркерів діагностики ентеропатій було впроваджено метод відеокапсульної ентероскопії, який використовується до сьогоднішнього часу та має високу інформативність. З метою спрощення діагностики були запропоновані неінвазивні методи виявлення кишкового запалення, одним з яких стало визначення в калі пацієнта кальпротектину (КП). КП є цитозольним нейтрофільним білком, який не має властивості руйнуватися в процесі травлення та відображає наявність запальних процесів в кишковоку [101].

Не менш значущою є роль кишкових мікроорганізмів у виникненні побічних ефектів НПЗП. Прикладом є добре відомий потенціюючий вплив

Helicobacter pylori на розвиток НПЗП/аспірин-асоційованої гастропатії [102,103]. Останнім часом накопичено нові дані щодо ролі внутрішньопросвітної флори в пошкодженні нижніх відділів шлунково-кишкового тракту. При цьому вирішальне значення має згаданий вище механізм активації TLR4 бактеріальними ліпополісахаридами з подальшим залученням нейтрофілів. Наявні результати досліджень, які свідчать, що у щурів з нейтропенією, прийом НПЗП не супроводжувався кишковим пошкодженням. В інших експериментальних роботах показано відсутність ерозивно-виразкових змін в тонкій кишці у безмікробних (germ-free) щурів та у гризунів, які отримували антибіотики, які забезпечують стерилізацію кишковика [104]. Варто зазначити, що при стресі стимуляція глюкостероїдних рецепторів призводить до зміни кишкової проникності, збільшення вмісту грамнегативної мікрофлори та наростання пошкоджуючого впливу НПЗП на слизову оболонку тонкої кишки [105]. Однак, через різний склад кишкового мікробіому у щурів та людини не можна механічно переносити дані, отримані на гризунах, на людей, у клінічну практику. Тому необхідні подальші дослідження значення кишкового дисбіозу у генезі НПЗП-індукованої ентеропатії у людини.

Цікаві дані отримані дослідниками з США щодо статевої відмінності у кишкової проникності та складі кишкової мікрофлори. Так, у здорових жінок, у порівнянні з чоловіками встановлено більш виражене розмаїття мікробіоти у верхніх та нижніх відділах шлунково-кишкового тракту. При цьому у жінок спостерігається менша кишкова проникність. Застосування такого НПЗП як індометацин у представників одної чи іншої статі призводить до збільшення кишкової проникності. Але у жінок, додатково, спостерігалось зменшення різноманітності мікрофлори та збільшення вмісту у кишковика мікроорганізму роду *Prevotella*. Після припинення прийому індометацину досить швидко спостерігаються оборотні зміни у вигляді відновлення кишкової проникності та складу мікрофлори [106]. За даними, наведеними у статті Y. Li та ін., 2016, з посиланням на дослідження S. Nago та ін., 2016, у жінок більш

розповсюдженим є рід *Bacteroides* та менш розповсюдженим рід *Bifidobacterium*, при частішому виявленні родів *Veillonella* та *Methanobrevibacter* [107,108]. Також, розглядаючи статевозалежні особливості зв'язків зі складом кишкової мікробіоти, було доведено, що у тварин, а саме у мишей також спостерігається статева відмінність. Це проявляється у зміні добових коливань у мікробіоті кишковика, які мають більш високий рівень у самок, ніж у самців. Проте, у самок мишей спостерігається менша кількість бактерій у фекаліях порівняно з самцями. Це все ще раз доводить те, що гени, які детермінують стать, мають значний вплив на кишкову мікрофлору [107]. Як згадувалося вище, мікроорганізми роду *Prevotella* мають високий прозапальний потенціал та активують Т-хелпер-17 (Th17)-опосередкований механізм запалення. Пусковим моментом у цьому механізмі є стимуляція TLR2 з подальшим збільшенням синтезу IL-23, IL-1, IL-6 та IL-8. Саме цю активацію у даний час пов'язують з розвитком ревматоїдного артриту, індукованого кишковою мікробіотою [109,110].

Одним з клінічних доказів взаємного зв'язку складу кишкової мікробіоти та формування НПЗП-ентеропатії є дані про те, що при 3-місячному прийомі НПЗП наявність синдрому надлишкового бактеріального росту (СНБР) у 6,5 разів підвищує ризик розвитку виражених ерозивно-виразкових уражень тонкої кишки [111]. У той же час, використання протягом 2-х тижнів у хворих, які отримують НПЗП, рифаксиміну, повністю запобігає серйозним ушкодженням та значно зменшує частоту незначних ушкоджень тонкої кишки (ТК) [112]. Ще одним доказом взаємозв'язку складу кишкової мікробіоти та шкідливої дії НПЗП є позитивний вплив деяких пробіотиків на виникнення таких ушкоджень. Показано, що комбінований пробіотик VSL-3 (4 штами *Lactobacilli*, 3 *Bifidobacteria* та *Streptococcus salivaris*) попереджує індометацин-індуковане пошкодження ТК, що оцінювалося по зниженню виділення фекального кальпротектину [113]. В іншому дослідженні використання пробіотика на основі *Lactobacillus casei* дозволило усунути пошкодження слизової оболонки тонкої кишки, викликаного одночасним прийомом аспірину та омепразолу

[114]. У ще одному рандомізованому дослідженні був показаний протективний вплив *Lactobacillus gasseri* на слизову оболонку (СО) ТК у хворих, які тривалий час отримують низькі дози аспірину [115]. В оглядовій статті Otani K. та співавторів (2017) докладно розглядаються вплив кишкової мікрофлори на виникнення НПЗП-індукованої ентеропатії, потенційованню негативного впливу останніх поєднанням з інгібіторами протонної помпи (ППП), а також перспективи лікувально-профілактичного впливу на кишкову мікробіоту за допомогою пробіотиків та ребаміпиду [18,102].

Що стосується впливу рівня селективності НПЗП на стан кишковика, науковцями були проведені дослідження впливу неселективних-НПЗП (н-НПЗП) (диклофенак) та селективних-НПЗП (с-НПЗП) (німесулід) на функціональний стан тонкої кишки: на підставі вивчення пристінкового травлення, а саме стану всмоктування D-ксилози методом Roe та Rice у п'ятигодинній порції сечі, було знайдено, що максимальне зниження резорбції речовини спостерігається у перші дві години. Саме цей час є відображенням стану травлення в проксимальному відділі тонкої кишки. Однак, було зафіксовано, що цей показник не є однаковим для пацієнтів з різною тривалістю прийому препаратів. Отже, виходячи з цього було доведено, що під час прийому НПЗП порушення процесів всмоктування першочергово спостерігається у проксимальних відділах тонкої кишки, але згодом, при прийомі НПЗП більше 3 років, процес захоплює мембранний та порожнинний етапи гідролізу. Також, важливим є те, що функціональні зміни тонкої кишки на тлі прийому с-НПЗП мають менш виражений характер на відміну від н-НПЗП [116]. Як бачимо, результати досліджень змін проникності корелюють з результатами змін мікрофлори, що може вказувати на їхній зв'язок.

Не менш важливим є безпосередній вплив НПЗП на склад кишкової мікрофлори. Давно та добре вивчено антибактеріальну дію саліцилатів, у т.ч. ацетилсаліцилової кислоти [103]. Наведемо дані дослідження 2015 року, проведеного M. Rogers та D. Aronoff. У ньому автори порівнювали вплив прийому багатьох препаратів, включаючи НПЗП (найрозповсюдженішими з

яких виявилися напроксен та ібупрофен) та НПЗП, на вміст штамів фекальних бактерій у групі з 155 дорослих пацієнтів. Вони дійшли висновку, що різні препарати чинили не однакову дію. В осіб, які приймають аспірин, знайдено зміну вмісту *Prevotella* spp., *Bacteroides* spp., *Barnesiella* spp. та сімейства *Ruminococaceae*. У пацієнтів, які застосовують НПЗП, виявлені зміни кількості *Bacteroides* spp., а також родин *Enterobacteriaceae* та *Acidaminococaceae*. Обстежуючи хворих, які отримували ібупрофен, знаходили підвищення вмісту родин *Propionibacteriaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Puniceococaceae* та *Rikenellaceae*, причому відмінності були зафіксовані не тільки у порівнянні з групою людей, які не отримували нестероїдні протизапальні засоби, а й з хворими, які приймали напроксен. Цікаво, що при прийомі пацієнтами целекоксибу мікробний профіль був подібний до профілю пацієнтів, які отримували ібупрофен, і збагачувався бактеріями сімейства *Acidaminococaceae* та ентеробактеріями. Для хворих, які приймали кеторолак, характерним виявилось значне збільшення кількості *Alistipes* spp. Загальним, для усіх хворих, які приймали різноманітні НПЗП, було збільшення бактерій сімейств *Acidaminococaceae*, *Desulfovibrionaceae*, *Enterococaceae* та *Erysipelotrichaceae*. При додаванні до НПЗП НПЗП спостерігалася додаткова зміна вмісту *Bacteroides* spp., *Erysipelotrichaceae* spp. [117]. Проте, у ще одному невеликому дослідженні не було знайдено впливу прийому селективного інгібітора циклооксигенази-2 целекоксибу на склад кишкової мікрофлори [118].

Наведемо деякі матеріали з дослідження М. Rogers та D. Aronoff (рис. 1.6 та 1.7).

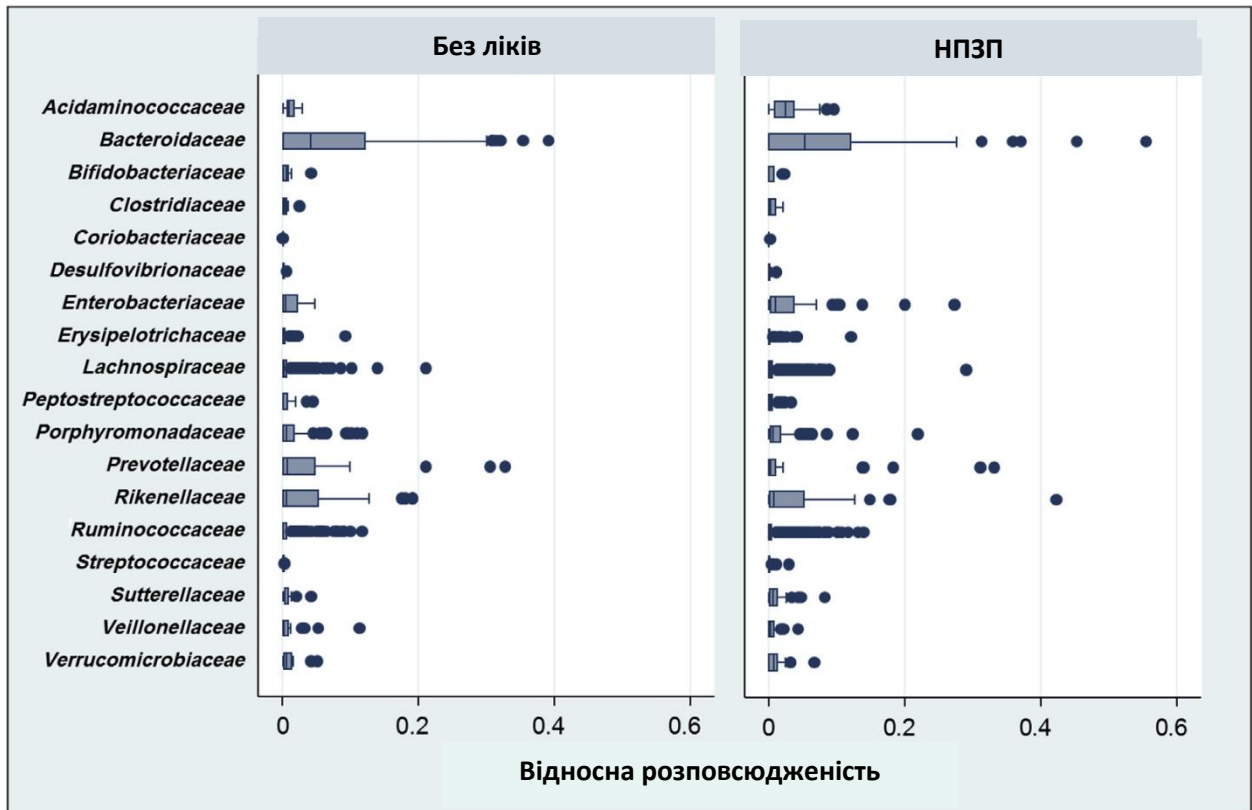


Рис. 1.6. Поширеність сімейств кишкових бактерій у осіб, які приймають тільки НПЗП у порівнянні з тими, які не вживають ліки [117].

На рисунку 1.6 показані зміни мікробіом на фоні прийому НПЗП. Як бачимо, зміни помітні практично у всіх сімействах мікроорганізмів. Особливо у групі тих, хто вживає НПЗП, проявилось збільшення розповсюдженості бактерій роду *Acidaminococcaceae*. За аналізом, проведеним авторами, було виявлено 4 таксономічні одиниці, асоційовані з прийомом НПЗП: 2 окремі види роду *Bacteroides* (з них один вид частіше знаходили у тих, хто вживає НПЗП, інший – у групи контролю), одна бактерія роду *Enterobacteriaceae* та одна роду *Acidaminococcaceae*.

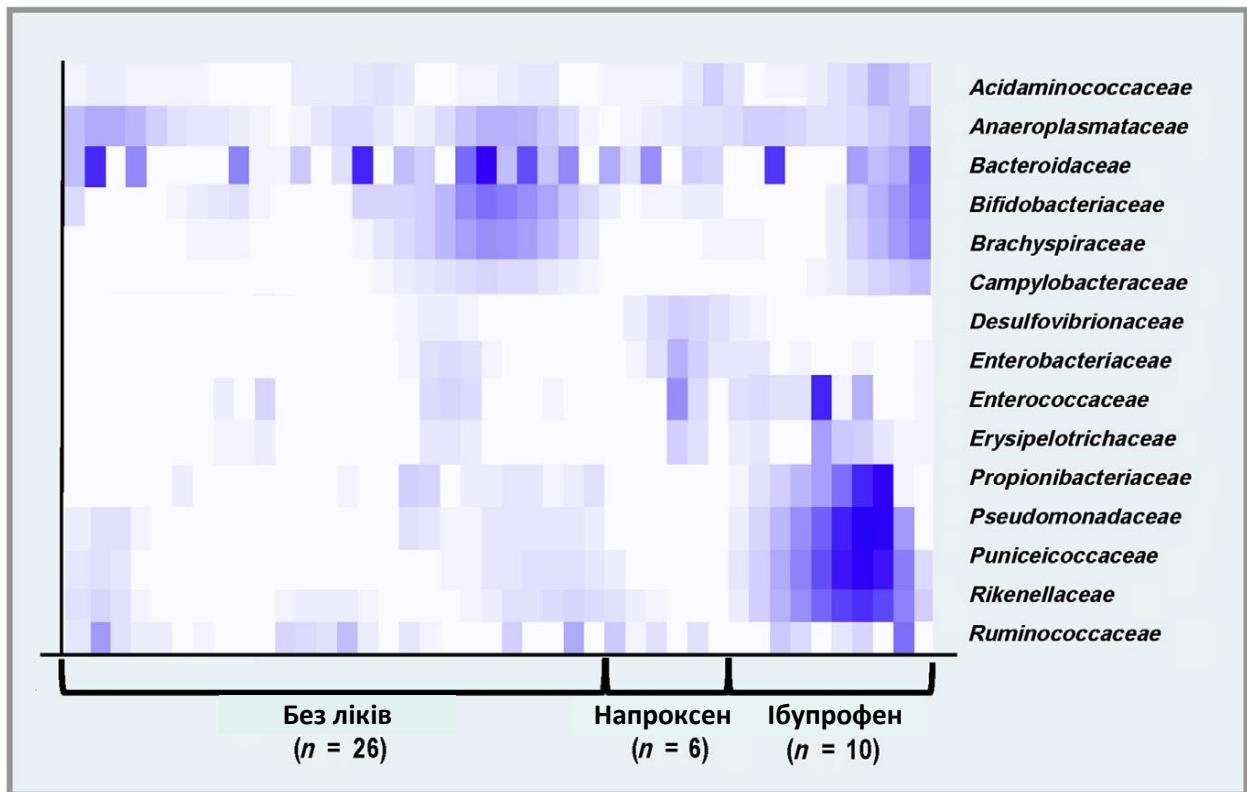


Рис. 1.7. Теплова карта бактеріальних сімейств, яка демонструє відмінності у їх відносному вмісті залежно від НПЗП, який приймається хворим [117].

На рисунку 1.7 видно різницю у мікробній композиції хворих на фоні прийому напроксену чи ібупрофену у порівнянні з тими, хто не приймав препарати. Як бачимо, у тих, хто приймав ібупрофен, підвищувався вміст бактерій сімейств *Propionibacteriaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Puniceicoccaceae* та *Rikenellaceae*, у порівнянні навіть з тими, хто приймав напроксен. Загальним для НПВП виявилось підвищення вмісту родин *Acidaminococcaceae*, *Desulfovibrionaceae*, *Enterococcaceae* та *Erysipelotrichaceae*. Хотілося б зазначити, що мікробіологічний профіль деяких хворих, які не приймали ліків, візуально подібний такому у деяких пацієнтів, які приймали ібупрофен. Це можна було б пояснити епізодичними прийомами ібупрофену, наприклад, для купірування головного болю, про який пацієнти не доповіли дослідникам.

Цілком закономірно, що отримані дані про взаємозв'язок кишкового дисбіозу та виникненні ОА стали підставою для застосування різних методів корекції мікрофлори з метою лікування остеоартриту. Окрім вже згаданих

досліджень з застосування рифаксиміну, пробіотиків VSL-3, штамів *Lactobacillus casei* та *Lactobacillus gasseri*, наведемо ще декілька прикладів. Одним з перших досліджень було застосування, у 2013 році, для лікування ОА екстракту новозеландської зеленої мідії, який володіє пребіотичною активністю. Було показано, що через 12 тижнів лікування спостерігалось збільшення вмісту *Bifidobacterium*, а *Enterococcus*, *Clostridium*, *Staphylococcus* та дріжджових грибків стало менше. При цьому відзначалося достовірне полегшення симптоматики ОА, підтверджене зниженням показника WOMAC [119]. Отримані дані можуть бути роз'яснені тісним взаємозв'язком між типом харчування, мікронутрієнтами, які надходять з ним та зміною кишкової мікробіоти, з подальшим модифікуючим впливом на чинники патогенезу ОА [107]. В даний час опубліковані результати одного рандомізованого дослідження, присвяченого лікуванню ОА колінних суглобів за допомогою пробіотика. При шестимісячному застосуванні *Lactobacillus casei* Shirota відзначалося достовірне зменшення вираженості симптоматики ОА за шкалою WOMAC та візуальною аналоговою шкалою, що супроводжувалося достовірним зниженням рівня С-реактивного протеїну, як маркера мікрозапалення [120].

Отже, на даний час існує чимало спостережень щодо наявних змін складу кишкової мікробіоти у хворих ОА. Однак нами не було знайдено досліджень щодо особливостей кишкового мікробіому у хворих, які належать до різних географічних груп, у т.ч. українській популяції. Також, недостатньо вивчено вплив прийому різних лікарських препаратів (у першу чергу НПЗП) на склад кишкової мікрофлори у хворих на ОА.

Таким чином, наразі НПЗП-індуковані гастропатії є добре вивченими, легко діагностуються і мають доведені засоби профілактики. Натомість, дані щодо НПЗП-індукованих уражень кишкови́ка є суттєво більш обмеженими. НПЗП-індуковані колопатії ще можуть бути діагностовані за допомогою колоноскопії, що є інвазивною процедурою, а НПЗП-індуковані ентеропатії –

лише за допомогою відеокапсульної ендоскопії, що є дорогим та малодоступним діагностичним заходом. Незважаючи на те, що підвищення рівня ФКП є відомим побічним ефектом НПЗП, майже не вивчено можливість його використання для діагностики НПЗП-індукованих уражень кишковика. Ще менш вивченою є можливість використання з цією метою комплексу «гемоглобін/гаптоглобін» чи інших фекальних біомаркерів, хоча це могло б суттєво спростити діагностику НПЗП-індукованих уражень кишковика і покращити стан здоров'я пацієнтів, які приймають НПЗП (в даному випадку тих, які страждають на ОА). Також, незважаючи на наявність окремих даних щодо змін ФКП при станах, які супроводжуються системним запаленням, у тому числі при ревматоїдному артриті, нами не знайдено даних щодо наявності чи відсутності його змін при ОА, який, як відомо, має в патогенезі системне запалення.

Вивчення КМ наразі є однією з найгарячіших тем у гастроентерології, й залишається темою, довкола якої тривають гарячі наукові дискусії. Непогано вивчено його зміни залежно від маси тіла; існують дослідження щодо його змін при запальних захворюваннях кишковика, порушеннях його моторики, дещо менше є досліджень щодо змін КМ при захворюваннях сполучної тканини, які характеризуються системним запаленням, таких як ревматоїдний артрит чи серонегативні спондилоартропатії. Але, незважаючи на те, що АО також має у патогенезі системне запалення, нами знайдено дані лише щодо змін КМ у пацієнтів з ОА та ожирінням, і, практично, не знайдено досліджень щодо стану КМ у пацієнтів з ОА незалежно від ІМТ. Ще одна тема, яка, на нашу думку, досі залишається поза увагою фахівців – розповсюдженість кишкової бактерії *Akkermansia muciniphila* у пацієнтів, які страждають на ОА, оскільки ця бактерія може впливати на біодоступність хондроїтину. Перераховане вище спонукає до самостійного вивчення та аналізу.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Дизайн дослідження

Дослідження проводилося з дотриманням сучасних принципів біоетики та доказової медицини у відповідності з принципами належної клінічної практики та з особливою увагою до вимог конфіденційності.

Дослідження мало крос-секційний дизайн. Схема дослідження наведена на рис. 2.1.

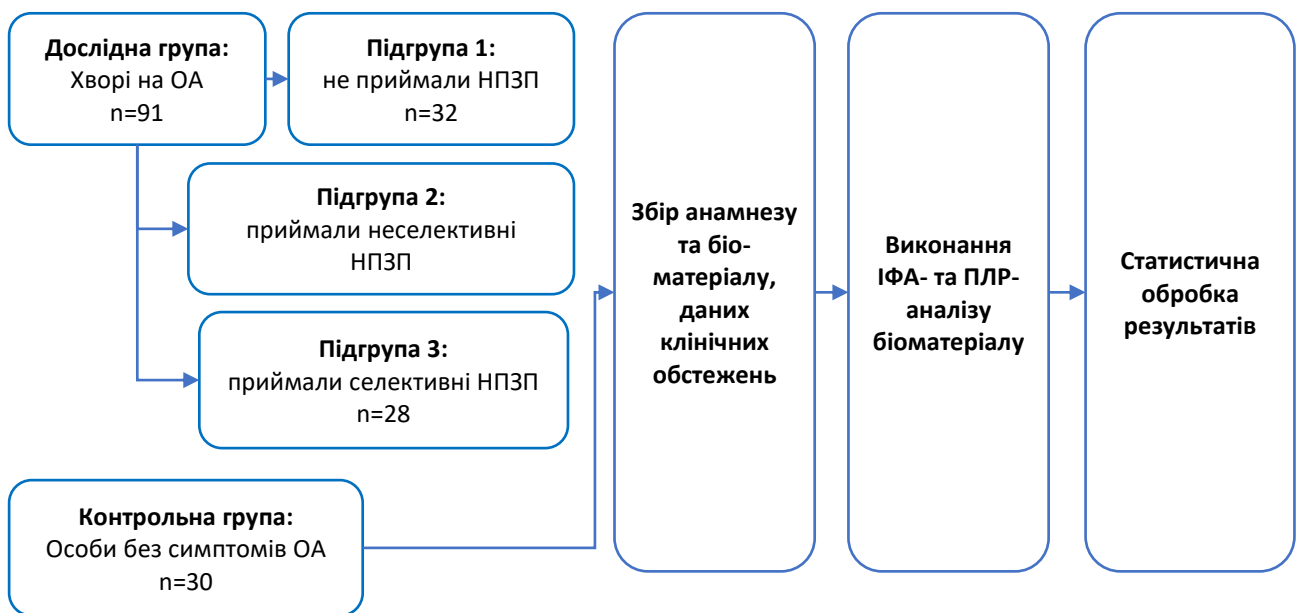


Рис. 2.1. Дизайн виконаного дослідження.

Дослідження виконувалося у термін з 2016 по 2019 роки.

2.2. Клінічна характеристика обстежених хворих

2.2.1. Клініко-лабораторна характеристика пацієнтів з ОА

Ми спостерігали 91-го хворого з ОА різних локалізацій, віком 35-85 років; в якості контрольної групи було набрано 30 осіб аналогічного віку, у яких не було симптомів ОА. Хворі спостерігалися амбулаторно у КМКЛ №1 та Центральному госпіталі МВС України, м. Київ (клінічні бази кафедри). Дослідження схвалено комітетом з біоетики НМУ імені О.О. Богомольця №121 від 24.04.2019 р. і повністю відповідає принципам Гельсінської декларації по

захисту прав людини, за висновком якого мета та завдання дисертації науково обґрунтовані, використані дослідження мають достатній рівень безпеки, теоретичні висновки та практичні рекомендації не несуть безпосереднього ризику для здоров'я пацієнтів, не порушують прав хворих та морально-етичних норм, не супроводжуються приниженням людської гідності або дискримінацією. Всіх пацієнтів було проінформовано про мету та завдання дослідження, а також можливість будь-коли припинити участь у дослідженні. Згода хворих на участь у дослідженні була підтверджена шляхом підписання відповідного документу.

Критерії включення до групи ОА: особи обох статей віком від 35 до 80 років, з наявним діагнозом ОА будь-якої локалізації.

Критерії включення до групи контролю: особи обох статей віком від 35 до 80 років, без клінічних ознак ОА, які не приймали НПЗП або аспірин на момент участі у дослідженні та протягом 3 місяців до цього, на момент обстеження не мали синдрому подразненого кишковика чи симптомів ураження ШКТ і не лікувалися з цього приводу, не мали відомих факторів ризику дисбіозу кишковика, ІМТ відповідає такому у групі ОА.

Критерії невключення: до дослідження не входили пацієнти, які приймали антибактеріальні препарати протягом трьох місяців до включення в дослідження, систематично приймали глюкокортикоїди, біологічні препарати, сульфасалазин, мізопростол, бісфосфонати, чи препарати з відомим впливом на кишковий транзит, мали структурні захворювання ШКТ, кишкові інфекції, або системні запальні захворювання, імунологічні розлади чи будь-які інші стани, які можуть впливати на об'єктивність результатів дослідження; мали серйозні травми великих суглобів або хірургічне втручання на органах ШКТ (крім апендектомії або холецистектомії); мали алкогольну чи наркотичну залежність; мали виражені психічні порушення, які заважають їм розуміти сутність інформованої згоди та/або режиму лікування, були нездатними виконувати рекомендації на період дослідження, мали тяжкі загально соматичні хвороби; також, у дослідження не включалися вагітні жінки.

Дизайн даного дослідження був схвалений комісією з питань біоетичної експертизи та етики наукових досліджень при Національному медичному університеті імені О.О. Богомольця, дослідження не містить підвищеного ризику для суб'єктів дослідження та виконано з урахуванням існуючих біоетичних норм та наукових стандартів щодо проведення клінічних досліджень з залученням пацієнтів.

Середній вік ($\pm m$) пацієнтів з ОА дорівнював $59,61 \pm 1,56$ років, серед пацієнтів переважали жінки (53:38). До контрольної групи увійшли 17 жінок та 13 чоловіків, середній вік склав $56,10 \pm 1,94$ років, серед них також переважали жінки (18:12). Розподіл хворих за віком та статтю групи ОА наведено у табл. 2.1. та рис. 2.2.

Таблиця 2.1

Кількісний розподіл хворих за віком та статтю

	35-44	45-54	55-64	65-74	75-85	Всього
Чоловіки	5	6	8	12	7	38
Жінки	8	9	16	12	8	43
Всього	13	15	24	24	15	91

Достовірної різниці між контрольною групою та хворими на ОА за статтю та віком виявлено не було ($p > 0,05$).

У нашому дослідженні більш ніж 75% хворих на ОА були жіночої статі (рис. 2.2). Це співпадає з загальновідомим фактом, що на ОА нижніх кінцівок та дрібних суглобів кистей частіше хворіють жінки, а чоловіки – частіше на ОА хребта [121] та віком 50 років [5].

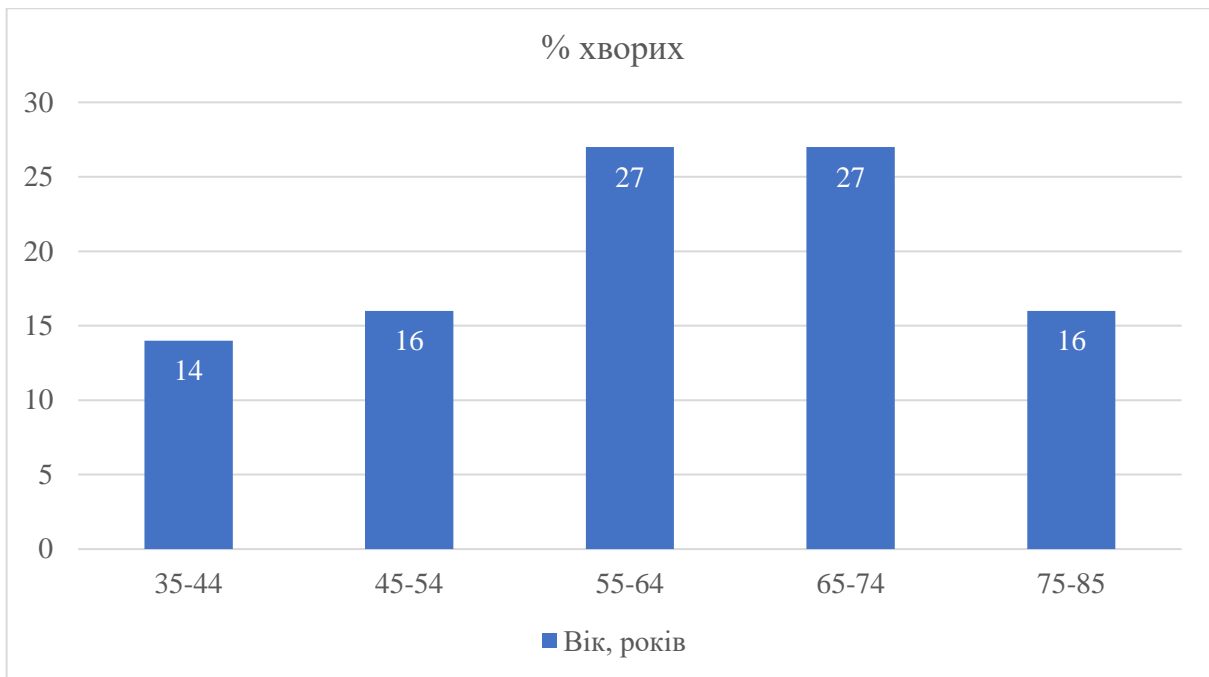


Рис. 2.2. Розподіл хворих за віком, (n=91).

За локалізацією ураження суглобів наші хворі розподілялися наступним чином: ураження 2 груп суглобів спостерігалось у 49,5% пацієнтів. 3-х та більше – у 50,5%. Колінні суглоби були уражені у 86 (95%), кульшові – у 45 (49%), гомілковостопні у 22 (24%), плечові – у 14 (16%), ліктьові у 5 (5%), променезап'ясткові у 15 (16%), дрібні суглоби у 42 (46%), хребет у 13 (14%). Двобічне ураження спостерігалось у 46 (51%) хворих, а чітко симетричне при ураженні великих суглобів нижніх кінцівок лише у 10 (11%). Виходячи з наведених значень, частіше за все у наших хворих відзначався ОА колінних суглобів, дещо рідше – ОА дрібних суглобів кистей і стоп. Потім слідували ураження кульшових і гомілковостопних суглобів.

Одночасне ураження всіх 4-х груп суглобів нижніх кінцівок відзначалося у 4-х хворих, 3-х груп – у 9, 2-х – у 33-х хворих. У той же час ураження декількох груп суглобів верхніх кінцівок відзначалося лише у 5 пацієнтів (рис. 2.3).



Рис. 2.3. Локалізація ураження суглобів, (n=91).

Середня давність виставлення діагнозу наших хворих складала $3,75 \pm 0,62$ роки, з них менше 1 року 5; 1 р. – 31; 2-3 р. – 16; 4-5 р. – 15; 6-10 р – 1; більше 10 – 8 пацієнтів (рис. 2.4).

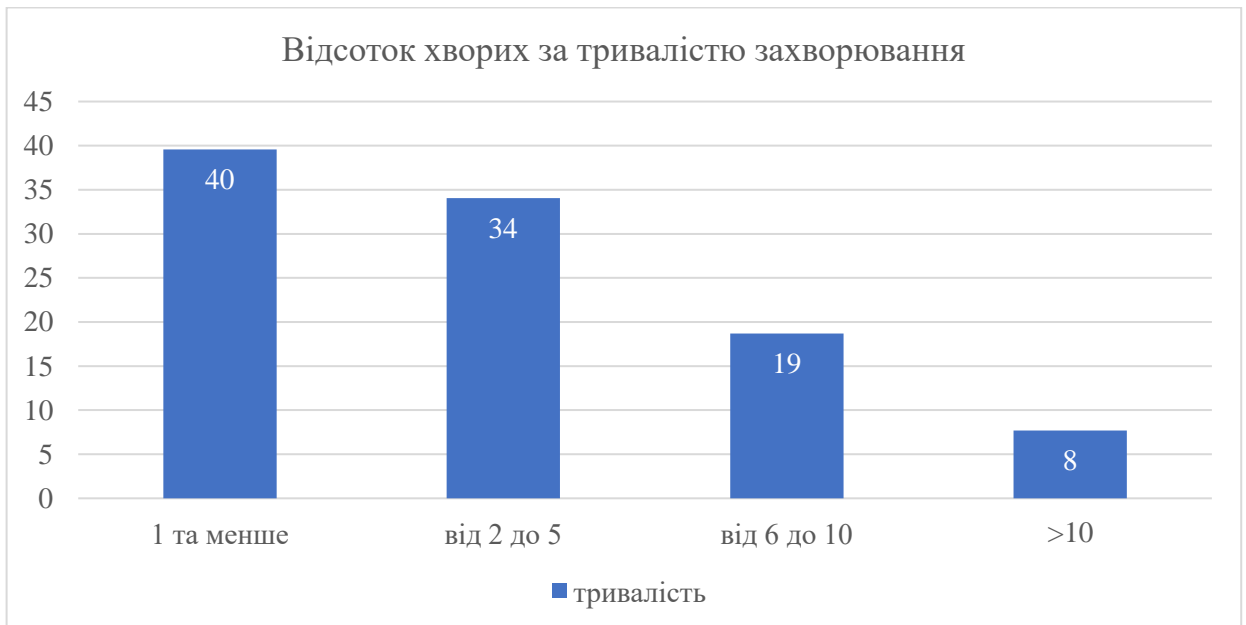


Рис. 2.4. Розподіл хворих на ОА залежно від тривалості захворювання з моменту встановлення діагнозу, (n=91).

Серед супутньої патології, на першому місці було ожиріння та артеріальна гіпертензія – 35%, на другому – диспепсія – 26%, патологія підшлункової залози без порушення функції ПЗ – 17%, патологія щитовидної залози і жовчного міхура по 13%. Інша патологія зустрічалася менш ніж у 10% пацієнтів і включала ІХС стенокардію, фібриляцію передсердь, церебральний атеросклероз, дисциркуляторну енцефалопатію, стеатоз печінки, варикозну хворобу (рис. 2.5).

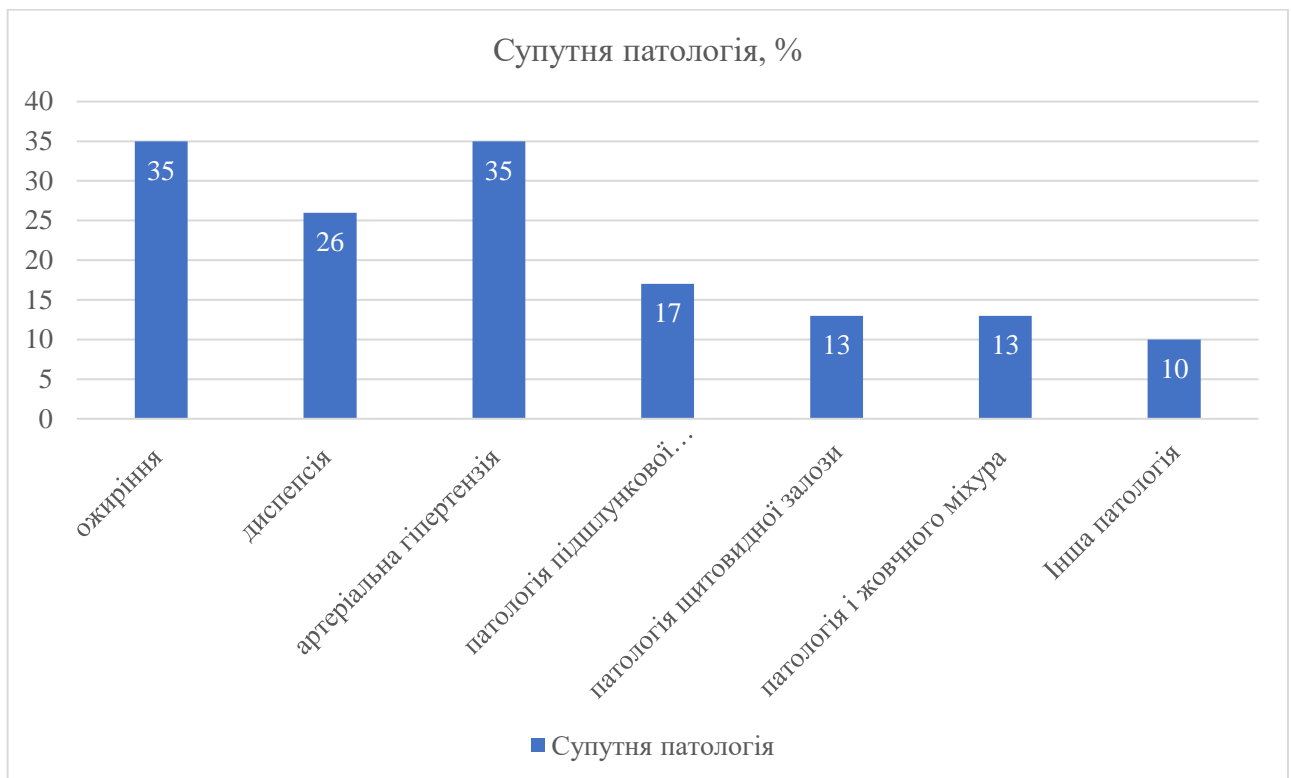


Рис. 2.5. Структура супутньої патології у досліджуваних пацієнтів, (n=91).

Таким чином, у більшості випадків супутні захворювання пов'язані з віком пацієнтів та надмірною масою тіла чи метаболічним синдромом. Слід зазначити, що в дослідження не включалися хворі з органічним ураженням верхніх відділів шлунково-кишкового тракту і важкими супутніми захворюваннями, які утруднюють обстеження.

Поміж факторів, які сприяють розвитку ОА у наших хворих відмічалися: у 24 (26%) – мікротравматизація суглобів, у 19 (21%) – спадкова схильність. У

12 пацієнтів (13%) знаходили патологію щитовидної залози (найчастіше аутоімунний тиреоїдит та вузловий зоб), цукровий діабет 2 типу був раніше виставлений 3 хворим. У більшості пацієнтів відзначалася надлишкова маса тіла чи ожиріння (табл. 2.2). ІМТ становив $28,41 \pm 0,79$ кг/м². Тяжкі фізичні навантаження задекларували 6% опитаних, помірні – 28%, незначні – 44%, а 22% задекларували сидячий спосіб життя. На момент дослідження палили 9 (10%) пацієнтів, ще 6 (6,6%) задекларували, що палили раніше.

Таблиця 2.2

Розподіл хворих за масою тіла

Пацієнтів	Знижена	Нормальна	Надлишкова	Ожиріння 1 ст	Ожиріння 2 ст	Ожиріння 3 ст
абс. к-ть	8	17	36	16	13	1
%	8,8	18,7	39,6	17,6	14,3	1

Згідно літературних даних, генетична схильність виявляється у 30-65% хворих на ОА. Причому на даний час знайдено більше 20 варіантів поліморфізму різних генів, відповідальних за розвиток остеоартриту [121]. Надлишкова маса тіла або ожиріння є незалежними чинниками ризику ОА суглобів не лише нижніх, але і верхніх кінцівок, особливо дрібних суглобів кистей [121,122]. Також відзначається чіткий зв'язок ОА з метаболічним синдромом і такими його компонентами, як гіперхолестеринемія, артеріальна гіпертензія й абдомінальне ожиріння [121,123], але наявні важливі дані щодо відсутності зв'язку ОА з цукровим діабетом [124]. Описана протективна роль середземноморської дієти та дієти з великим вмістом рослинної клітковини на виникнення ОА колінних суглобів і зменшення болю при ОА, який вже розвинувся [125,126]. Однак при подальшому аналізі було показано, що така дієта зменшує вираженість ОА переважно за рахунок позитивного впливу на масу тіла [127]. Добре відомим є негативний вплив у виникненні ОА

професійних, побутових або спортивних перевантажень, а також травмування суглобів [121].

Діагностика ОА ґрунтувалася на діагностичних критеріях American College of Rheumatology [5–7] з урахуванням подальшої модифікації [8].

Клінічні прояви захворювання представлені в табл. 2.3. Провідним симптомом у наших пацієнтів був суглобовий біль, який з різною інтенсивністю виявлявся у всіх хворих. Середнє значення його інтенсивності за 10-бальною числовою рейтинговою шкалою оцінки інтенсивності болю (ЧРШ) складало $6,32 \pm 0,19$. Інтенсивний біль, 8-10, зустрічався майже у третини пацієнтів (31,9%). Біль частіше мав механічний характер (у 65% пацієнтів), тобто, посилювався після навантажень, при підйомі по сходах і при вставанні з сидячого положення. Майже у 80% хворих відзначалася ранкова скутість в суглобах, яка в середньому тривала $17,92 \pm 3,27$ хвилин. Скутість, яка тривала понад 30 хвилин, ми знаходили у 15,4% хворих на ОА, проте ні у одного з наших пацієнтів її тривалість не перевищувала 1 години.

Таблиця 2.3

Суглобова симптоматика у хворих на ОА

Симптом	Абс.	%
Суглобовий біль	91	100
Скутість	71	78,0
Крепітація/хрускіт	78	85,7
Кісткова деформація	64	70,3
Випіт	30	29,67
Заклинювання	23	25,28

Майже у половини обстежених хворих під час руху відзначався хрускіт в суглобах, а пальпаторно під час активних і пасивних рухів у великих (найчастіше колінних) суглобах визначалася крепітація. Також при огляді суглобів, більш ніж у 70% хворих виявлялися кісткові деформації. Вони були присутні практично у всіх пацієнтів з ОА дрібних суглобів кистей і стоп

(вузлики Гебердена і Бушара), а також у багатьох хворих з ураженням колінних, променевоzap'ясткових, гомілковостопних і ліктьових суглобів. У третини наших хворих в колінних суглобах відзначався невеликий випіт без ознак запалення, а у чверті під час руху «заклинювання».

У пацієнтів з ураженням колінних і кульшових суглобів ми оцінювали вираженість болю і ступінь функціональної недостатності за допомогою альгофункціонального індексу Лекена (Lequesne Algofunctional Index). Він у наших хворих варіював у діапазоні від 2 до 21,5 і, в середньому, склав $12,03 \pm 0,61$, що відповідає дуже важкому ураженню суглобів. За ступенем функціональної недостатності суглобів хворі розподілилися наступним чином (табл. 2.4).

Таблиця 2.4

Розподіл хворих за ступенем функціональної недостатності суглобів (ФНС)

	ФНС 0	ФНС 1	ФНС 2	ФНС 3
абс. к-ть пацієнтів	4	28	52	7
% пацієнтів	4,4	30,8	57,1	7,7

Як видно з наведених даних, більш ніж у половини наших пацієнтів відмічався 2-й ступінь ФНС, переважно колінних, кульшових і гомілковостопних суглобів.

На теперішній час ОА розглядається як патогенетично неоднорідне захворювання, в межах якого виділяють кілька фенотипів [128]. У досліджуваній нами когорті хворих ми змогли виділити наступні фенотипи: за типом залучених суглобів – з переважним ураженням великих суглобів 52% і залученням як великих, так і дрібних суглобів 48%; за масою тіла пацієнта – з нормальною – 25% і підвищеною 75%; за інтенсивністю болю – з вираженою ЧРШ > 5 – 65% і слабо вираженою ЧРШ 0-5 35%; а також за часом переважання болю – в ранковий час – 29,7% і в кінці дня – 70,3%.

Крім проявів ОА у наших пацієнтів відзначалися й інші скарги. В анамнезі у 17 хворих (18,7%) відзначалися алергічні реакції. Так, у 10 хворих (11%) виявлялися слабкість і підвищена стомлюваність, у 6 (6,6%) періодичний кашель, у 17 (18,7%) головні болі, у 3 (3,3%) серцебиття і відчуття перебоїв в роботі серця, періодично у 33 (36,3%) відчуття болю та/чи дискомфорту в животі, у 25 (27,5%) нудоти, у 28 (30,8%) здуття, у 24 (26,4%) печія, у 58 (63,7%) порушення стула. В середньому, за Бристольскою шкалою форма калу відповідала $3,61 \pm 0,11$ балів. У 25 осіб (27,5%) в анамнезі відзначалася непереносимість молока.

При пальпації органів черевної порожнини у 18 хворих (19,8%) відзначався дискомфорт в епігастрії, а ще у 12 (13,2%) в проекції жовчного міхура. Збільшення печінки ми виявили у 8 пацієнтів (8,8%). Спленомегалія не визначалась ні у одного з наших пацієнтів. У 15 хворих (16,5%) відзначалося здуття кишкового, а у 5 (5,5%) дискомфорт по ходу кишкового при пальпації. Хронічний геморой виявлявся у 8 пацієнтів (8,8%) поза стадією загострення.

У більшості пацієнтів діагноз ОА підтверджувався рентгенологічно. 14-ти (15,4%) пацієнтам додатково проводилося МРТ-дослідження, а 4-м (4,4%) – ультрасонорафічне дослідження уражених суглобів. Ці види дослідження застосовувалися для уточнення діагнозу остеоартриту. Найчастіше необхідність в їх проведенні виникала на ранніх стадіях захворювання, за наявності ексудату в порожнині суглоба, періартикулярних змін, уточнення стану внутрішньосуглобових структур, особливо при травмах в анамнезі, як і рекомендується в спеціальній літературі [129,130]. У 8 пацієнтів (8,8%) ці дослідження були вирішальними в підтвердженні діагнозу ОА. Рентгенологічні стадії ураження суглобів наведені на рис. 2.5: 1-ша стадія – 5 пацієнтів (5,5%); 2-га – 52 (57,1%); 3-тя – 25 (27,5%); 4-та – 9 (9,9%) пацієнтів. У переважної більшості хворих (85%) зустрічалася стадія 2-3 (рис. 2.6).

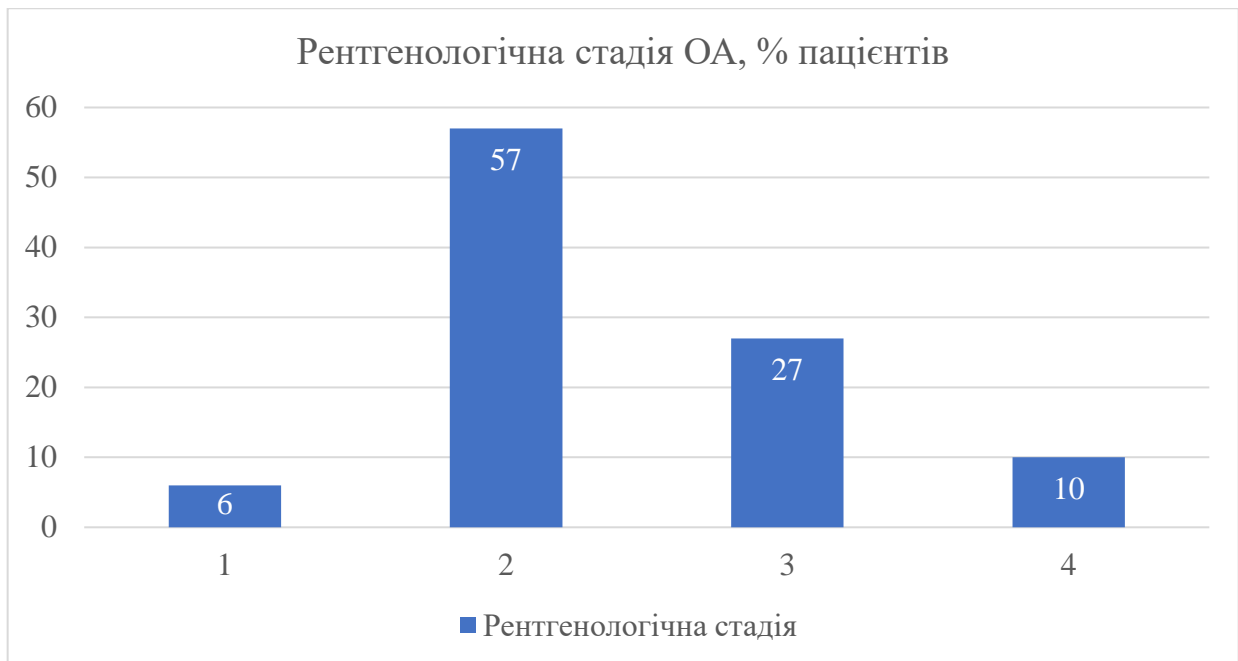


Рис. 2.6. Розподіл хворих за рентгенологічною стадією ОА, (n=91).

Крім клінічного аналізу крові та сечі всі наші хворі здавали біохімічні аналізи крові, які включали: СРП, РФ, АСЛО, фібриноген, трансамінази, білірубін, загальний білок, холестерин, креатинін, сечовину, сечову кислоту. У наших пацієнтів були відсутні клінічно значущі зміни в аналізах крові і сечі. У 5 хворих виявлялася анемія легкого ступеня, у 7 (7,7%) прискорення ШОЕ, у 4 (4,4%) мікропротеїнурія, у 8 (8,8%) хворих було виявлено незначну гіпопротеїнемію. У наших хворих не було виявлено лабораторних ознак інфекцій, викликаних вірусними гепатитами В та С, не були підвищені показники фібриногену, білірубину, креатиніну, сечовини, сечової кислоти та ГГТ. У 3 (3,3%) пацієнтів, які нещодавно перенесли стрептококову інфекцію, відзначалося підвищення титру АСЛО. У 6 (6,6%) хворих знаходили незначне підвищення СРБ, у 14 (15,4%) холестерину, у 5 (5,5%) глюкози крові. У 2 (2,2%) хворих з жировою хворобою печінки знаходили незначне підвищення трансаміназ (менше 2 верхніх меж норми), підвищення АЛТ домінувало над АСТ.

Також ми проаналізували попереднє лікування хворих на ОА. Значна частина наших пацієнтів коли-небудь приймали різні НПЗП. Так пацієнтів, що приймали НПЗП протягом останнього року, було 74 (81,3%), причому 19

(20,9%) з них користувалися як системними, так і топічними формами препаратів, а ще 2 (2,2%) тільки топічними. Неселективними НПЗП, у більшості випадків, був диклофенак у дозі 0,15 г/добу – його приймав 31 (34,07%) пацієнт, значно рідше наші пацієнти приймали метамізол натрію у дозі 1 г/добу (4 пацієнти, 4,39%), ібупрофен у дозі 1,2-1,6 г/добу (2 пацієнти, 2,2%, середня доза 1,4 г/добу) та кетанов у дозі 0,03 г/добу (1 пацієнт, 1,1%). Напівселективними НПЗП найчастіше були німесулід у дозі 0,2 г/добу (22 пацієнти, 24,18%) та мелоксикам у дозі 0,015 г/добу (19 пацієнтів, 20,88%), поодинокі пацієнти приймали лорноксикам у дозі 0,008-0,016 г/добу (5 пацієнтів, 5,49%, середня доза 0,012 г/добу). Селективними НПЗП були, найчастіше, целекоксиб у дозі 0,2 г/добу (27 пацієнтів, 29,67%), 1 пацієнт (1,1%) приймав еторикоксиб у дозі 0,06 г/добу. Деякі пацієнти протягом місяця переходили с одного препарату на інший; якщо серед них хоча б 1 був неселективним – ми зараховували таких пацієнтів до підгрупи неселективних. За тривалістю прийому НПЗП обстежені розподілилися наступним чином: менш ніж 1 тиждень їх приймали 20,88% пацієнтів, 1-2 тижні – 24,18%, до 1 місяця – 4,40%, 1-2 місяці – 8,79%, 2-3 місяці – 5,49%, і понад 3 місяці – 36,26% пацієнтів; медіана тривалості прийому склала 27,5 (IQR 7-400) днів (рис. 2.7).

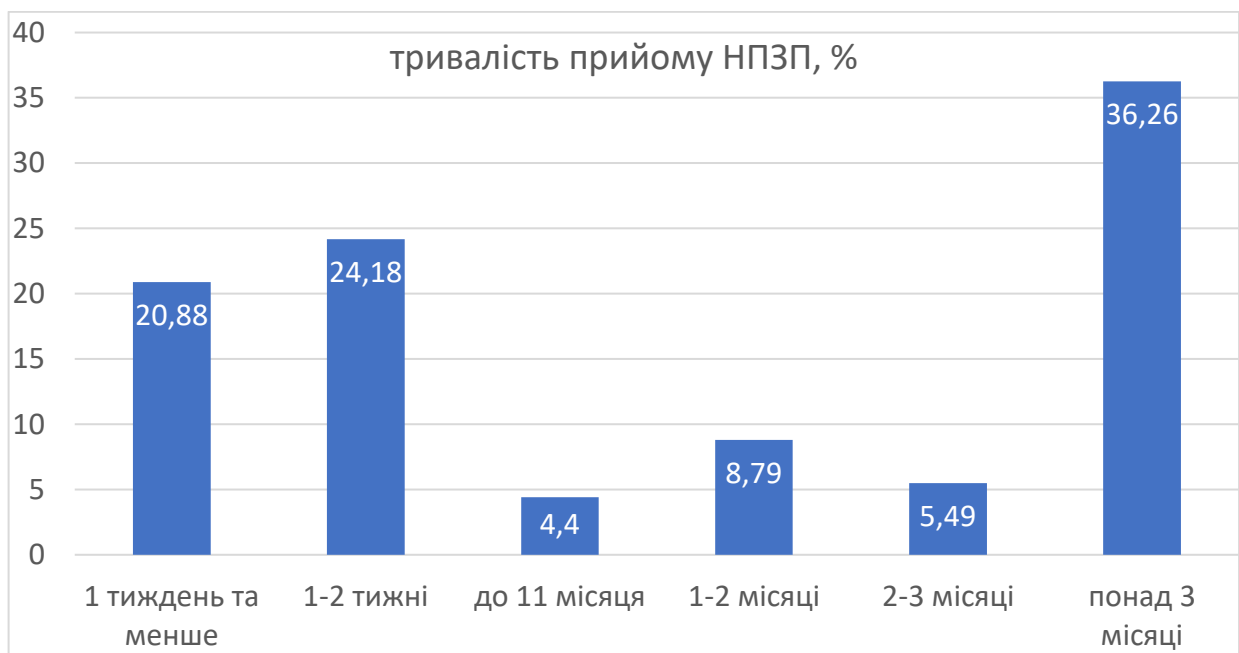


Рис. 2.7. Розподіл хворих на ОА в залежності від тривалості прийому НПЗП до моменту обстеження (%).

З-поміж DMOADs, більшість наших хворих застосовували хондроїтину натрію сульфат – 27 хворих (29,7%) у дозі 1-1,2 г/добу, глюкозаміну сульфат та гідрохлорид – 25 (27,5%) у дозі 1,5 г/добу (в т.ч. у 22 (24,2%) в вигляді комбінації глюкозаміну з хондроїтином), неомілювані авокадо-соеві сполуки у дозі 0,3 г-добу – 8 (8,8%), діацереїн у дозах 0,05-0,1 г/добу (середня доза 0,083 г/добу) – 3 (3,3%), добавки у вигляді морського колагену і акулячого хряща по 1, але всі пацієнти приймали DMOADs більш як за 3 місяці до участі у дослідженні. Крім цього 9 хворих приймали комбінацію кальцій + вітамін D3, 1 – прегабалін, 6 – фітопрепарати місцево. Хворі по-різному оцінили ефективність попереднього лікування. Відсутність ефекту відзначили 17 (18,7% хворих, частковий ефект – 26 (28,6%), хороший ефект – 48 (52,7%).

Для лікування супутньої патології наші пацієнти приймали й інші препарати. Гіпотензивна терапія: інгібітори АПФ – 14, бета-адреноблокатори – 9, блокатори кальцієвих каналів – 4, діуретики – 4, сартани – 3, статини – 7. Замісну терапію гормонами щитовидної залози приймали 4 пацієнти, метформін – 1, статини – 3, нітрати – 1; антисекреторні препарати – 35 (в т.ч. 32 ІПП), прокінетики – 2, панкреатин – 2, спазмолітики – 6, венотоніки – 2, антикоагулянти – 2, АСК в низьких дозах – 11, а ще у 5 хворих приймали її в більш високих дозах у складі комбінованих анальгетиків. Ще 17 пацієнтів приймали анальгетики в зв'язку з головними болями в т.ч. 9 метамізол (0,5-1 г/добу), 4 парацетамол разом з АСК, 6 парацетамол (0,5-1 г/добу), 3 – НПЗП (з них 2 – ібупрофен 0,4 г/добу, 1 – диклофенак 0,075 г/добу), 5 – комбінацію препаратів, проте ніхто з пацієнтів, які приймали анальгетики епізодично, не приймав їх напередодні здачі аналізу калу для нашого дослідження. ІПП достовірно частіше вживали представники підгрупи неселективних НПЗП (15 пацієнтів, 46,88%), ніж ті, хто не приймали НПЗП (8 пацієнтів, 25,8%), $p=0,026$; між представниками підгрупи тих, хто приймав селективні НПЗП (9 пацієнтів, 32,14%), та двома іншими підгрупами, достовірної різниці у частоті прийому ІПП не виявлено ($p>0,05$). Майже завжди препаратом цієї групи виявлявся омепразол з медіаною дози 0,04 г/добу (діапазон доз 0,02-0,04 г/добу).

Висновок до підрозділу 2.2.1

Як видно з наведених даних, в популяції обстежених нами хворих з ОА (середній вік $59,61 \pm 1,56$ років) переважали жінки – 58,2%. Практично у всіх наших хворих знаходили ОА великих суглобів нижніх кінцівок, в першу чергу колінних – 95%, дещо рідше кульшових – 49% а на третьому місці були дрібні суглоби кистей і стоп – 46%. Слід зазначити, що більш ніж у половини хворих відзначалося залучення більш 3-х груп суглобів і практично у такої ж кількості пацієнтів знаходили 2-бічний процес. Серед факторів, які сприяють розвитку захворювання на першому місці була надлишкова маса тіла або ожиріння, що зустрічалися більш ніж у 70% хворих, потім, зі значним відставанням, слідували мікротравматизація суглобів – 26%, спадкова схильність – 21%, важкі фізичні навантаження відмічалися лише у 6% обстежених хворих.

Провідним клінічним синдромом у наших пацієнтів був суглобовий біль, який виявлявся у всіх хворих. Його вираженість за ЧРШ склала $6,32 \pm 0,19$. Майже 80% хворих пред'являли скарги на ранкову скутість, при об'єктивному обстеженні у 70% знаходили кісткову деформацію, а при русі у 86% пацієнтів хрускіт і/або крепітацію. Для об'єктивізації ступеня ураження великих суглобів нижніх кінцівок ми використовували індекс Лекена, який становив $12,03 \pm 0,61$. Більш ніж у 57% хворих відзначався 2-й ступінь функціональної недостатності (ФН) (середнє значення ступеня ФН 1,68). Рентгенологічно у більшості наших хворих знаходили 2 стадію ураження суглобів. Для лікування ОА наші пацієнти, крім НПЗП, майже в третині випадків приймали DMOADs (частіше глюкозамін і/чи хондроїтин).

2.2.2. Клініко-лабораторна характеристика пацієнтів з ОА залежно від прийому НПЗП.

Обстежені нами хворі, залежно від прийому НПЗП були розділені на три підгрупи. Перша – 32 пацієнта, які протягом 4 тижнів до обстеження не приймали НПЗП або аспірин (навіть в низьких дозах), як для лікування ОА, так і інших супутніх захворювань (підгрупа «без НПЗП»); друга – 31 пацієнт, що

приймали неселективні НПЗП (до них відносилися і «напівселективні» – оксиками та німесулід) (підгрупа «неселективні»), третя – 28 пацієнтів, які приймали селективні НПЗП (високоселективні – коксиби) (підгрупа «селективні»). Критерієм включення до підгруп тих, хто приймали НПЗП, був прийом цих препаратів не рідше ніж 4 рази на тиждень протягом, щонайменше, 1 тижня. Розподіл хворих в підгрупах за статевою приналежністю представлений на рис. 2.8. Як видно з наведених даних, у всіх підгрупах незначно переважали жінки.

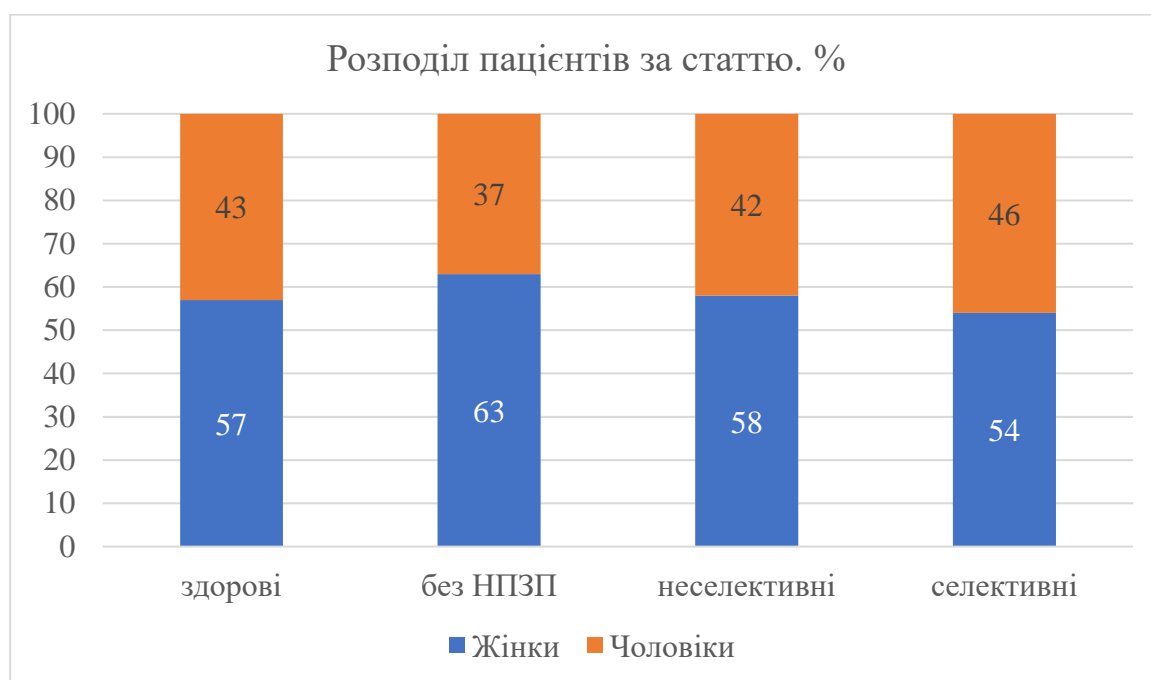


Рис. 2.8. Статева приналежність хворих на ОА в обстежуваних підгрупах, (n=91).

Розподіл по підгрупах залежно від віку хворих наведено на рис. 2.9. Як видно з наведених даних, хворі, які не приймали НПЗП, були незначно молодшими, а ті, хто приймав селективні препарати – дещо старшими, хоча відмінності виявилися недостовірними ($p > 0,05$).

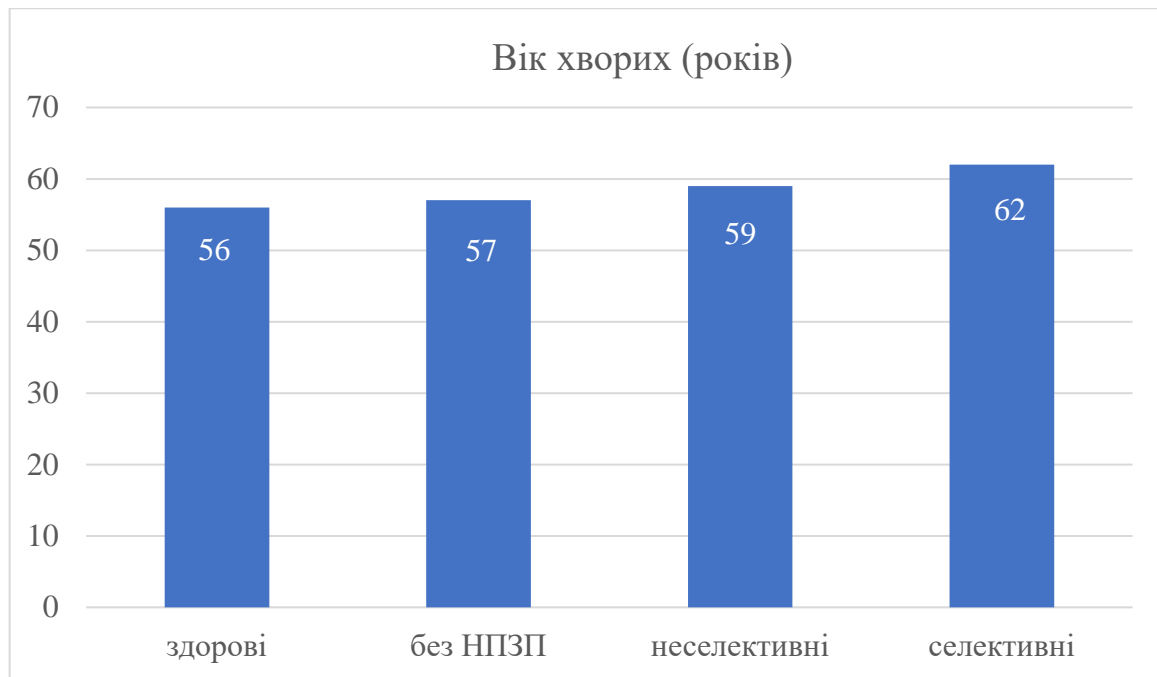


Рис. 2.9. Розподіл хворих на ОА в обстежених підгрупах за віком, (n=91).

Також ми оцінили розподіл хворих залежно від типу уражених суглобів. Пацієнтів з переважним ураженням тільки великих суглобів в першій підгрупі було 17 (53,1%), у другій 15 (48,4%), у третій 14 (50%). З поєднаним ураженням великих і дрібних суглобів в першій підгрупі було 11 хворих (34,4%), у другій 15 (48,4%), у третій 14 (50%). В першій підгрупі у 4 пацієнтів (12,5%) відзначалося ураження лише дрібних суглобів, у другій був всього один такий хворий (3,2%), а в третій не було жодного. Ураження лише 1-2 груп суглобів у першій підгрупі знаходили у 21 пацієнта (65,6%), у другій у 18 (58,1%), а в третій у 16 (57,1%) хворих. Ураження 3-х і більше груп суглобів відмічалось в першій підгрупі у 11 (34,4%), у другій у 13 (41,9%), у третій у 12 (42,9%) хворих. Відмінності між групами недостовірні ($p>0,05$).

Основні фактори ризику ОА в підгрупах хворих розподілялися наступним чином (рис. 2.10). Як бачимо, травматизація суглобів в анамнезі у хворих, які приймали неселективні і селективні НПЗП, у порівнянні з тими, котрі не приймали, була майже вдвічі вищою, однак відмінності виявилися недостовірними ($p>0,05$).

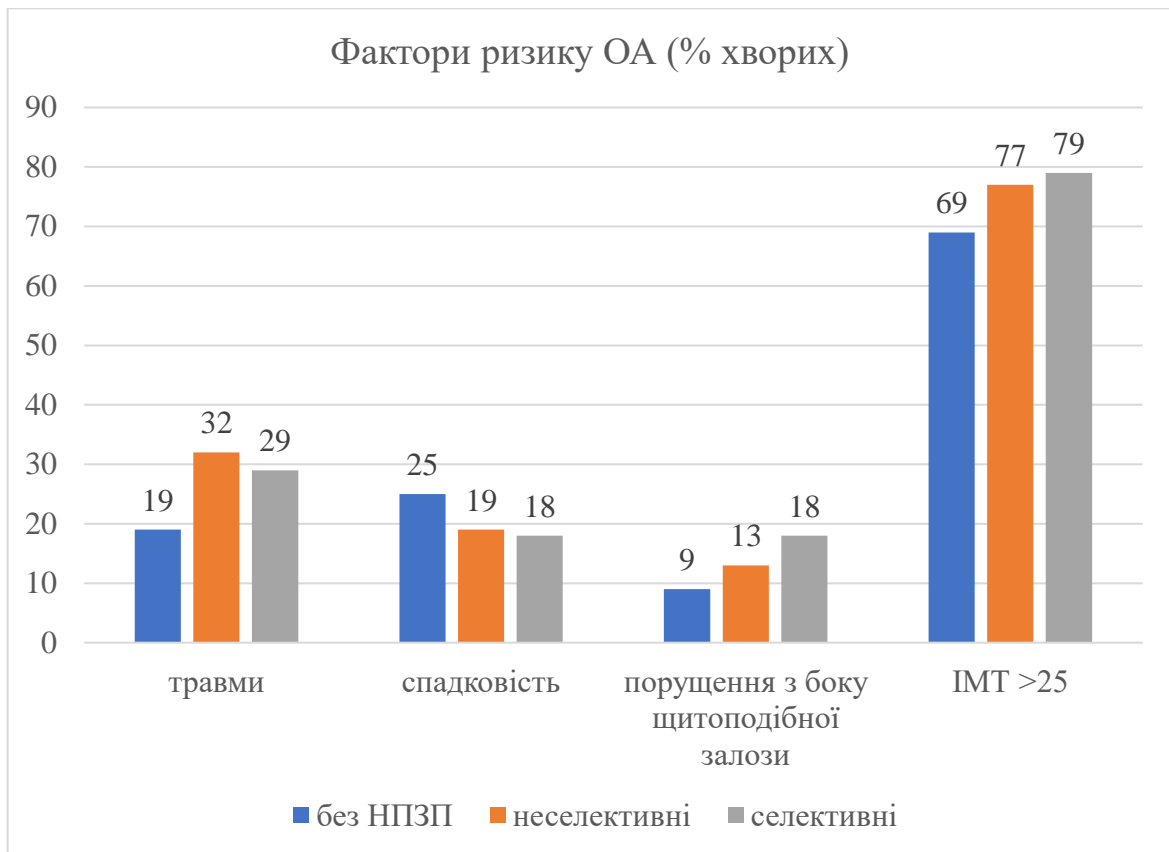


Рис. 2.10. Основні фактори ризику ОА у підгрупах хворих, (n=91).

Також, в першій підгрупі, в порівнянні з третьою, майже вдвічі рідше зустрічалася патологія щитовидної залози (відмінність недостовірною, $p > 0,05$). Нами також не знайдено достовірних відмінностей в частоті інших чинників ризику (спадкової схильності, надлишкової маси тіла та ожиріння, $p > 0,05$) (табл. 2.5). Кількість хворих з ІМТ>25 становила у підгрупах 31%; 23% і 21% відповідно. Також нами не знайдено достовірних відмінностей між хворими наших трьох підгруп за важкістю фізичних навантажень ($p > 0,05$).

Розподіл пацієнтів за фенотипом ОА в підгрупах хворих

Симптом	Без НПЗП (n=32)		неселективні (n=31)		селективні (n=28)		всього (n=91)	
	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%
Більше 3-х груп	17	53,1	15	48,4	14	50	46	50,5
Менше 3-х груп	15	46,9	16	51,6	14	50	45	49,5
ІМТ=25-29	15	46,9	11	35,5	10	35,8	36	40
ІМТ >30	7	21,9	13	41,9	12	42,8	32	35,2
ІМТ <25	10	31,2	7	22,6	6	21,4	23	24,8
Біль за ЧРШ ≥ 5	20	62,5	22	71	18	64,2	60	65,9
Біль за ЧРШ <5	12	37,5	9	29	10	35,8	31	34,1
Ранковий біль	11	34,4	9	29	7	25	27	29,7
Вечірній біль	21	65,6	22	71	21	75	64	70,3

Біль за ЧРШ виявився співставним у 3-х підгрупах: $6,09 \pm 0,34$; $6,47 \pm 0,31$ та $6,4 \pm 0,37$ відповідно. Кількість хворих з інтенсивністю болю за ЧРШ >5 в підгрупах становила 62,5%; 71% і 64,3% відповідно (рис. 2.11). Підгрупи, також, не відрізнялася за середнім ступенем функціональної недостатності суглобів і та індексом Лекена, який склав $11,33 \pm 1,23$; $11,76 \pm 1,08$ та $13,11 \pm 1,17$ відповідно ($p > 0,05$) (рис. 2.12), а також, за частотою виявлення ранкової скутості (рис. 2.13). У підгрупі неселективних НПЗП було дещо більше пацієнтів з 3-ю і 4-ю рентгенологічною стадією ураження суглобів, у порівнянні з першою підгрупою, однак і тут відмінності не досягали достовірного значення ($p > 0,05$). Також нами не знайдено достовірних відмінностей між підгрупами за тривалістю ранкової скутості, частотою виявлення деформацій суглобів, хрускоту при русі і «крепітації» при пальпації суглобів ($p > 0,05$).

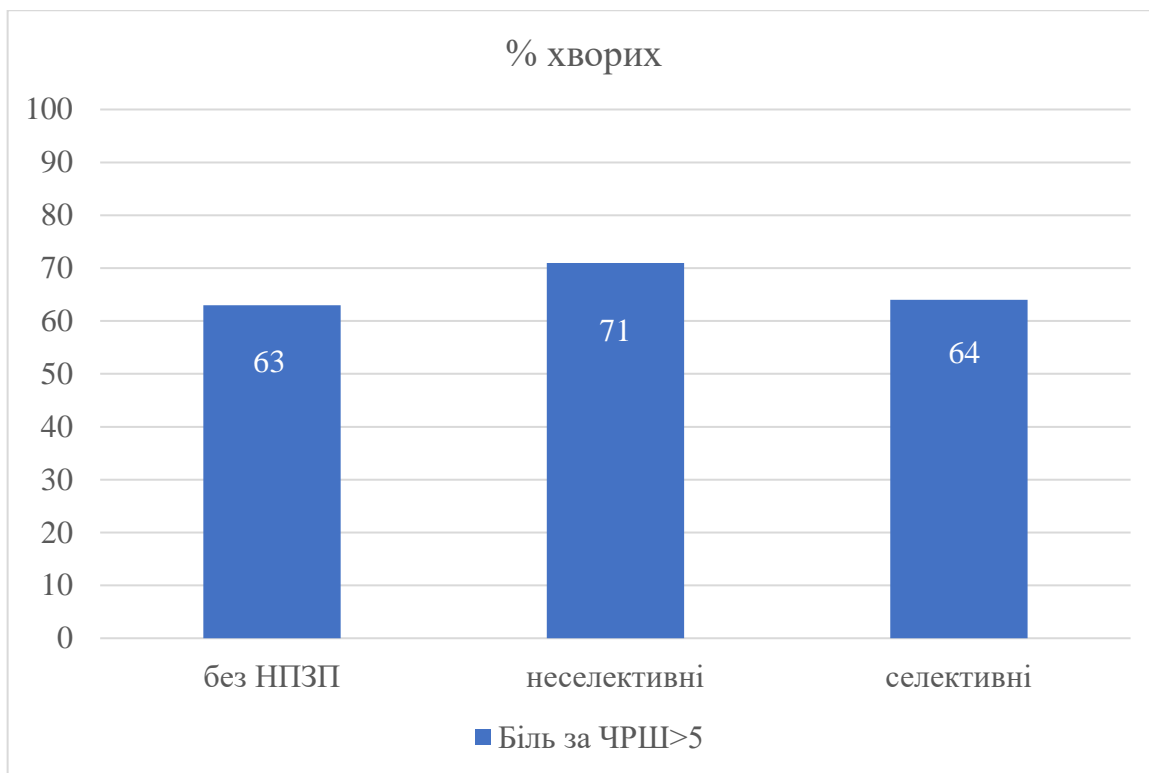


Рис. 2.11. Розподіл хворих по підгрупах (у %) з виразністю болю за ЧРШ>5, (n=91).

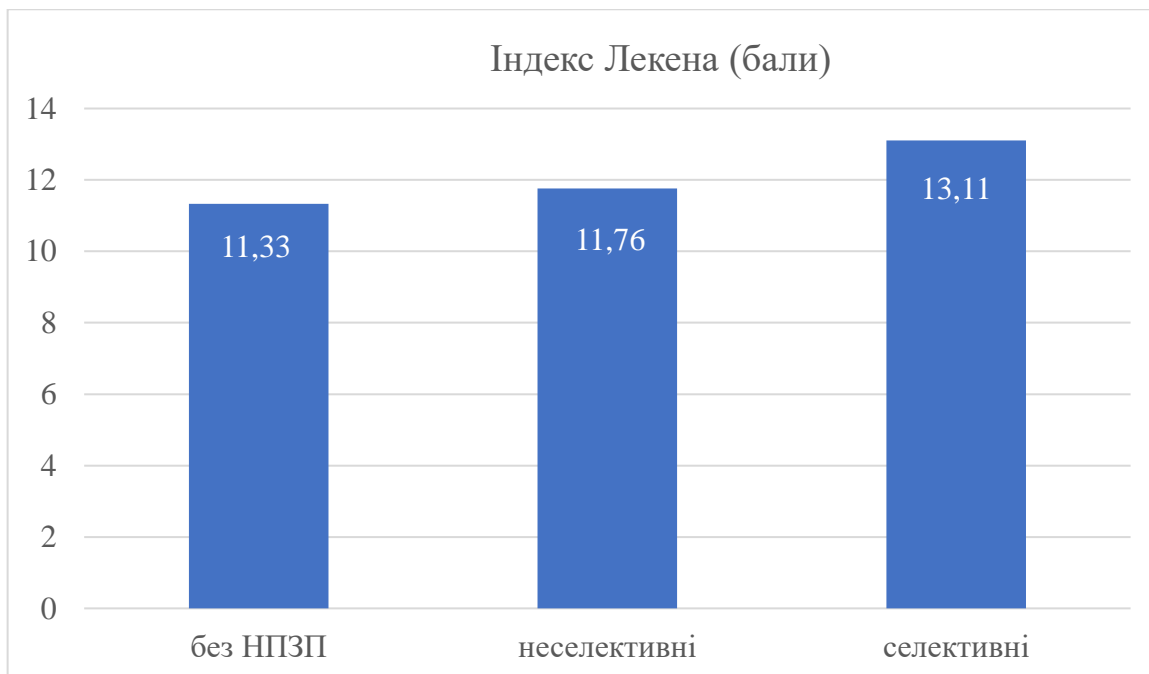


Рис. 2.12. Індекс Лекена в підгрупах хворих на ОА (в балах), (n=91).

При аналізі часу максимальної інтенсивності болю було показано (рис. 2.12), що більш ніж у третини пацієнтів, які не приймали НПЗП, зустрічалися

переважно ранкові болі, в підгрупі тих, хто приймав селективні препарати таких пацієнтів було 25%, а хворі, які приймали неселективні НПЗП займали проміжне положення (відмінності між підгрупами недостовірні, $p > 0,05$).

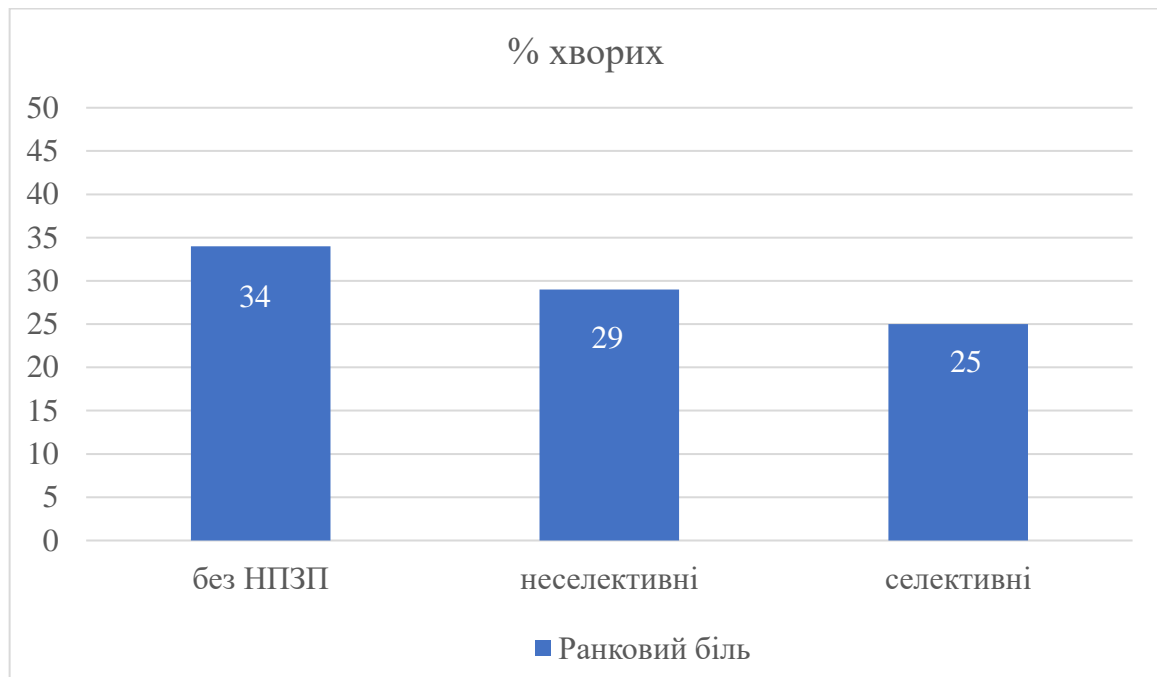


Рис. 2.13. Розподіл хворих по підгрупах (у %) з максимальною виразністю болю в ранковий час, (n=91).

Крім суглобових проявів, нами проаналізована симптоматика з боку шлунково-кишкового тракту в підгрупах обстежених хворих. Як уже згадувалося вище, у всіх наших пацієнтів були виключені ендоскопічно значущі ураження верхніх відділів шлунково-кишкового тракту. Незважаючи на це у частини хворих виявлялися такі скарги, як епігастральний біль чи дискомфорт, нудота, печія (рис. 2.14). Як видно з наведених даних, біль та/чи дискомфорт в епігастрії достовірно частіше зустрічалися у пацієнтів, що приймали неселективні НПЗП у порівнянні з двома іншими підгрупами хворих (OR=3,103, $p=0,042$ у порівнянні з першою підгрупою і OR=3,643, $p=0,033$ з третьою). Щодо печії отримані аналогічні відмінності (OR=15,306, $p=0,00002$ і OR=13,194, $p=0,0001$ відповідно). У той же час нами не знайдено достовірних відмінностей в частоті виникнення симптоматики з боку верхніх відділів шлунково-кишкового тракту між пацієнтами, які не приймають НПЗП та тими,

хто приймає селективні НПЗП ($p>0,05$). Нами також не знайдено достовірних відмінностей в частоті виникнення нудоти між другою і третьою підгрупами пацієнтів ($p>0,05$). У той же час, в порівнянні з тими, хто не приймав НПЗП, у хворих, які приймали неселективні НПЗП, нудота зустрічалася достовірно частіше ($OR=3,411$, $p=0,0499$).

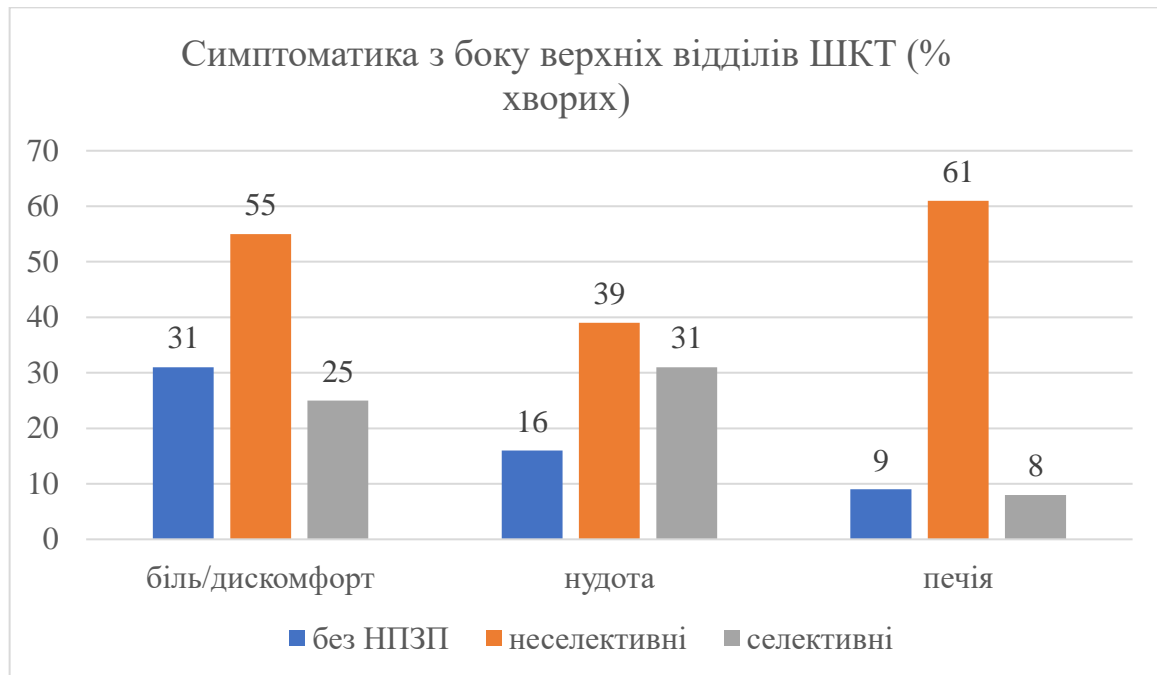


Рис. 2.14. Частота розвитку симптоматики з боку верхніх відділів шлунково-кишкового тракту в підгрупах хворих на ОА, (n=91).

Примітка. * – $p<0,05$ у порівнянні з підгрупами 1 та 3

Ці симптоми можуть бути пов'язані як з посиленням проявів вже існуючої функціональної диспепсії та гастроезофагеальної рефлюксної хвороби, так і з розвитком НПЗП-індукованої диспепсії. У літературі вказується, що на тлі застосування НПЗП (особливо неселективних) більш ніж у половини пацієнтів виявляють симптоматику з боку верхніх відділів ШКТ, яка не є пов'язаною з попередніми захворюваннями [131,132].

Крім перерахованих симптомів з боку верхніх відділів ШКТ, ми також проаналізували частоту симптомів з боку кишковика: здуття живота, запорів і проносів (рис. 2.15). Так, здуття кишковика нами знайдено майже у половини хворих, які приймали неселективні НПЗП і у чверті тих, котрі приймали

селективні НПЗП (OR=4,063, $p=0,0169$ в другій підгрупі, в порівнянні з першою); достовірні відмінності в частоті виявлення здуття між першою і третьою та другою і третьою підгрупами були відсутні ($p>0,05$). Хворих з порушенням випорожнень було 68,8% в першій підгрупі, в другій – 64,5% і в третій – 57,1%, однак при більш глибокому аналізі виявилось, що в першій та третій підгрупах частіше зустрічалися закрепи, а в другій діарея. Так, частка розвитку закрепу у другій підгрупі виявилася достовірно нижчою, в порівнянні з такою у першій підгрупі (OR=0,187, $p=0,004$) і у третій (OR=0,277, $p=0,0494$); між першою і третьою підгрупами відмінність виявилася недостовірною ($p>0,05$). Частота розвитку діареї у другій підгрупі виявилася достовірно вищою, ніж в першій (OR=5,765, $p=0,0054$) і в третій (OR=6,863, $p=0,0043$); між першою і третьою підгрупами відмінність недостовірна ($p>0,05$).

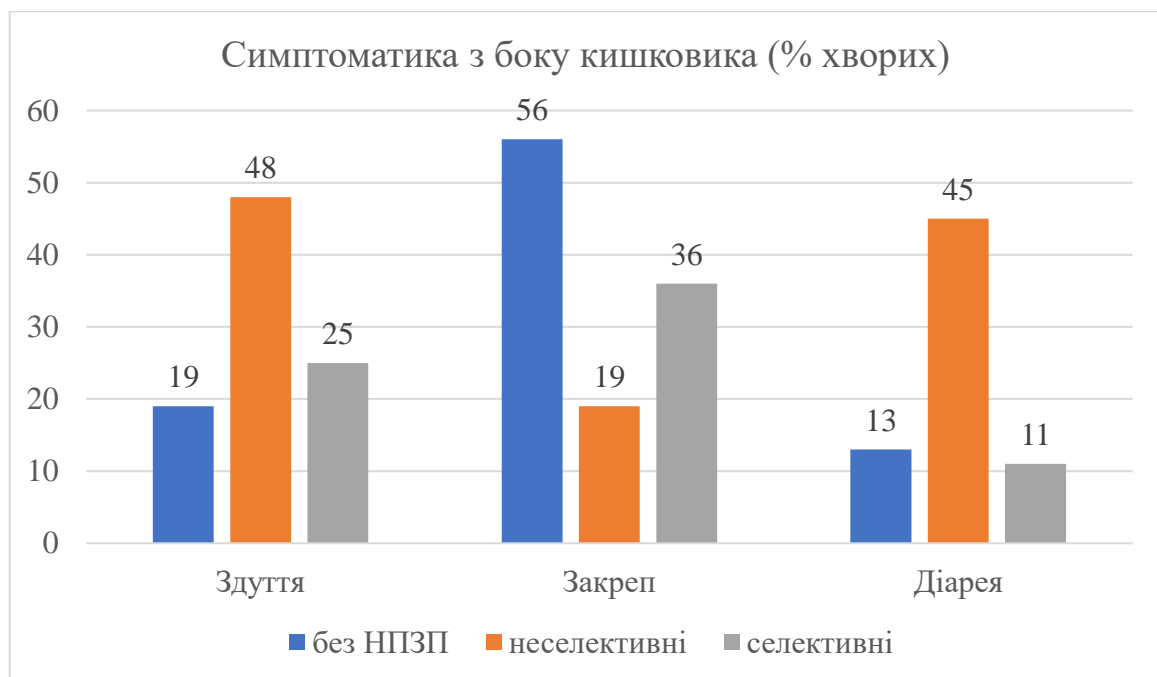


Рис. 2.15. Частота розвитку симптоматики з боку нижніх відділів шлунково-кишкового тракту в підгрупах хворих на ОА, (n=91)

Примітки: # – $p<0,05$ у порівнянні з підгрупою 1; * – $p<0,05$ у порівнянні з підгрупами 1 та 3

Загальна статистика щодо симптоматики з боку ШКТ у досліджених пацієнтів представлена у табл. 2.6.

Гастроентерологічна симптоматика в підгрупах хворих

Симптом	без НПЗП (n=32)		неселективні (n=31)		селективні (n=28)		Всього (n=91)	
	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%
Біль/дискомфорт	9	28,1	17	54,8	7	25	33	36,3
Нудота	5	15,6	12	38,7	8	31	25	27,5
Печія	3	9,4	19	61,3	2	8	24	26,4
Здуття	6	18,8	15	48,4	7	25	28	30,8
Закреп	18	56,3	6	19,4	13	46,4	37	40,7
Діарея	4	12,5	14	45,2	3	10,7	21	23,1

Висновок підрозділу 2.2.2

Як видно з наведених даних, підгрупи хворих на ОА, розділені на підставі прийому НПЗП, були порівняні за віком, статевою приналежністю, локалізацією та кількістю уражених суглобів. Також, між ними були відсутні достовірні відмінності за частотою виявлення таких факторів ризику ОА, як надлишкова маса тіла чи ожиріння, травматизація суглобів, спадкова схильність. Розподіл за фенотипами ОА (маса тіла, вираженість болю, кількість залучених груп суглобів, максимальна тривалість болю) між підгрупами теж виявився досить рівномірним, без достовірних відмінностей. Несподіваним для нас виявилася відсутність достовірних відмінностей за інтенсивністю суглобових болів у пацієнтів, які приймають і які не приймають НПЗП, а також за індексом Лекена, хоча в другій підгрупі (неселективних НПЗП) недостовірно частіше зустрічалася 3-я і 4-та рентгенологічні стадії ураження суглобів. Також в першій підгрупі пацієнтів недостовірно частіше, ніж у хворих, що приймали НПЗП, зустрічалися ранкові болі ($p > 0,05$). Об'єктивні ознаки артриту (біль, хрускіт і крепітація при русі) в підгрупах достовірно не розрізнялися ($p > 0,05$).

Інша картина знайдена нами при аналізі проявів ураження шлунково-кишкового тракту. Так, в 2-й підгрупі пацієнтів, (які приймали неселективні

НПЗП) достовірно частіше, ніж в першій підгрупі (які не приймали препаратів) відзначалися біль чи дискомфорт в епігастрії (OR=3,103, p=0,042), печія (OR=15,306, p=0,00002), нудота (OR=3,411, p=0,0499), здуття кишкового OR=4,063, p=0,0169), діарея (OR=5,765, p=0,0054), в той же час закреп в цій підгрупі зустрічався достовірно рідше (OR=0,187, p=0,004). При порівнянні третьої підгрупи хворих (які приймали селективні НПЗП) і першої (які не приймали НПЗП) не знайдено достовірних відмінностей за частотою розвитку симптоматики з боку верхніх і нижніх відділів ШКТ, хоча й відзначалася тенденція до більшої частоти виявлення нудоти і здуття живота. При порівнянні другої і третьої підгрупи хворих, у другій підгрупі нами знайдена достовірно більша частота виникнення болю чи дискомфорту в епігастрії (OR=3,643, p=0,033), нудоти (OR=13,194, p=0,0001) і менша частота розвитку закрепу (OR=0,277, p=0,0494).

2.3. Методи спеціального обстеження хворих

2.3.1 Методика збору аналізу калу

Кал для аналізу збирався пацієнтом одночасно зранку, після акту дефекації, самостійно, відповідно до завчасно виданої йому інструкції, у контейнери для збору калу. За інструкцією, перед дефекацією пацієнт мав помочитися, для уникнення попадання сечі у аналіз калу. Після дефекації, пацієнт, за допомогою вмонтованої у кришечку контейнера палички, збирав проби з 5-7 різних ділянок у кожен з 2-х контейнерів, після чого, протягом 2-х годин, контейнери доставлялися до морозильної камери, де зберігалися до моменту лабораторного аналізу за температури -23°C . Контейнери з пробами доставлялися до лабораторій у термоконтейнерах з акумуляторами холоду, під контролем температурного режиму.

2.3.2 Методика визначення концентрації кальпротектину, секреторного імуноглобуліну А та комплексу «гемоглобін/гаптоглобін»

Визначення концентрації ФК, sIgA та Hb/Нр проводилося методом ІФА у лабораторії Науково-дослідного інституту експериментальної та клінічної медицини Національного медичного університету імені О.О. Богомольця. Використовувалися комплекти мікропланшетів та реактивів RIDASCREEN® Calprotectin (для визначення ФК), RIDASCREEN® sIgA (для визначення sIgA), та RIDASCREEN® Haemo-/Haptoglobin Complex (для визначення Hb/Нр комплексу) виробництва R-Biopharm AG (Німеччина), а також зчитувач мікропланшетів Rayto RT-2100С виробництва Rayto Life and Analytical Sciences Co., Ltd. (Китай) та планшетний промивач MINILAB® WASHER PW40 виробництва Bio-Rad Laboratories, Inc. (США) та програмне забезпечення RIDASOFT Win.NET Version 1.106.0.0240, надане у комплекті до реактивів.

Постановка лабораторного дослідження виконувалася відповідно до інструкцій виробника реактивів. Після розморожування контейнера виконувалося навішування необхідної маси (100 ± 25 мг) калу у пробірку ємністю 10 мл, яка розбавлялася відповідним масі калу об'ємом буфера для екстракції, після чого суміш гомогенізували на вортекс-міксері та центрифугували при 3000 g протягом 10 хвилин; після чого розводили відповідну кількість отриманого супернатанту відповідною кількістю ділюенту у пробірках Еппендорфа відповідно до інструкції. Для визначення sIgA розведення проводилося двічі, згідно інструкції; для визначення Hb/Нр комплексу екстракція проводилася за допомогою одноразових контейнерів RIDA®TUBE Haemoglobin, попередньо заповнених екстракційним буфером, з подальшим розведенням отриманого супернатанту у пробірках Еппендорфа згідно інструкції виробника реактиву.

Отриману таким чином суспензію стула, піпетували до лунок відповідних мікропланшетів в об'ємі 100 мкл. ІФА проводили за методом 4-х точок, використовуючи калібратор у 2-х дублях, ділюент у якості негативного контролю та високопозитивний і низькопозитивний контролю, закапані в об'ємі

100 мкл, у відповідні лунки, у якості позитивних контролів. Лунки з розчином інкубувалися впродовж 1 години при температурі 22-23°C, промивалися промивочним буфером, потім, після внесення 100 мкл кон'югату до кожної лунки проводилася повторна інкубація за тих же умов. Всі промивки виконувалися у режимі, який відповідав рекомендованому в інструкції виробника реактивів. Далі, виконувалася друга промивка, після чого до кожної лунки вносилося 100 мкл субстрату, планшет інкубувався в умовах повної темряви протягом 15-ти хвилин, з подальшим внесенням до кожної лунки 50 мкл стоп-реагента. Одразу після цього планшет поміщався до планшетоприймача зчитувача планшетів і виконувалося зчитування оптичної щільності на довжині хвиль 450 та 620 нм, з наступним автоматичним вирахуванням зчитувачем оптичної щільності розчину. Вирахування концентрації досліджуваного біомаркера проводилося за допомогою програмного забезпечення RIDASOFT Win.NET, з використанням 4-параметрового алгоритму за даними стандартних точок, номінального значення контролю та його діапазону, вказаних на супровідному листку до відповідного реактиву.

2.3.3 Методика визначення вмісту типів і родів бактерій та *Akkermansia muciniphila*

Нами проведено аналіз вмісту основних типів КМ: *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *γ-proteobacteria* та інших представників КМ (показник «інші», який відображає загальний відсоток всієї бактеріальної ДНК, крім представників, наведених вище), а, також, визначення співвідношення *Firmicutes/Bacteroidetes* (далі – *F/B*) та вмісту бактерії виду *Akkermansia muciniphila*. Визначення їх вмісту проводилося методом ПЛР у реальному часі генетичною лабораторією Діаген (м. Київ), на термоциклері Rotor-Gene 6000 (QIAGEN, Німеччина) з використанням 16S rRNA-праймерів, які вказані на табл. 2.7.

**Праймери, які було використано для визначення вмісту основних типів
кишкової мікрофлори**

Тип мікроорганізмів	Напрямок	Нуклеотидна послідовність (праймер)
<i>Bacteroidetes</i>	F	5'-CRAACAGGATTAGATACCCT-3'
	R	5'-GGTAAGGTTCCCTCGCGTAT-3'
<i>Firmicutes</i>	F	5'-TGAAACTYAAAGGAATTGACG-3'
	R	5'-ACCATGCACCACCTGTC-3'
<i>Actinobacteria</i>	F	5'-TACGGCCGCAAGGCTA-3'
	R	5'-TCRTCCCCACCTTCCTCCG-3'
<i>γ-proteobacteria</i>	F	5'-TCGTCAGCTCGTGTGTGA-3'
	R	5'-CGTAAGGGCCATGATG-3'
<i>16S rRNA</i>	F	5'-AAACTCAAAGKAATTGACGG-3'
	R	5'-CCCCGTCAATTCCTTTGAGTT-3'

Вміст бактерії виду *Akkermansia muciniphila* визначався за допомогою наступних праймерів: F- 5'-CAGCACGTGAAGGTGGGGAC-3', R- 5'-CCTTGCGGTTGGCTTCAGAT-3'.

ДНК екстрагували з 1,5-2 г аліквотів замороженого стулу методом фенол-хлороформ за протоколом [133]. Потім ДНК елюювали елюційним буфером об'ємом 200 мкл. Кількість та якість ДНК вимірювали за допомогою реактивів NanoDrop ND-8000 (Thermo Scientific, США). Зразки з концентрацією ДНК менше 20 нг піддавали осаджуванню етанолом для концентрування або додатково очищували відповідно до стандартів якості. Процедура визначення ДНК методом ПЛР більш детально описана у статті [134].

2.3.4 Методика статистичної обробки даних

Статистична обробка проводилася на персональному комп'ютері за допомогою програмного забезпечення EZR v. 1,38 (Медичний центр Сайтама, Медичний університет Jichi, Сайтама, Японія), який є графічним інтерфейсом

для R (The R Foundation for Statistical Computing, Відень, Австрія) [135], а також, для побудови діаграм, Office Excel 2016 (Корпорація Microsoft, Редмонд, Вашингтон, США). Для параметричного аналізу використовувався дисперсійний тест (ANOVA), з поправкою Тьюкі у разі порівняння більш ніж 3 груп, чи t-критерій Стьюдента для порівняння 2-х груп; для аналізу непараметричних даних використовувалися тест Крускала-Уолліса з поправкою Стілла-Двасса у разі порівняння більш ніж 3 груп чи U-тест Манна-Уїтні для порівняння 2-х груп; для виявлення залежності між показниками використовувався ранговий тест кореляції Спірмена (двобічна критична область). Для порівняння якісних даних використовувався точний тест Фішера та критерій χ^2 , з поправкою Бонфероні. Для виконання регресійного аналізу нами використовувався метод побудови логістичної регресійної моделі, використано метод покрокового відкидання/включення змінних (інформаційний критерій Акаїке) з подальшою побудовою та аналізом кривої операційних характеристик отриманої моделі.

РОЗДІЛ 3.

ЧАСТОТА ТА СТРУКТУРА ЗМІН ФЕКАЛЬНИХ БІОМАРКЕРІВ ЗАПАЛЕННЯ У ПАЦІЄНТІВ, ЯКІ ХВОРІЮТЬ НА ОСТЕОАРТРИТ

3.1. Фекальний кальпротектин

Як ми вже згадували, одним з найбільш використовуваних маркерів для оцінки запального ураження нижніх відділів ШКТ є фекальний кальпротектин (ФКП). Відомо, що його рівень є підвищеним у хворих з запальними захворюваннями суглобів, а, також, асоціюється з прийомом НПЗП [19,136]. Відмічається, що його рівень більшою мірою відображає вираженість НПЗП-асоційованого ураження товстої, ніж тонкої кишки [137]. Ми вивчили його вміст у калі обстежених нами хворих та порівняли з контрольною групою, яка складалася з осіб без ознак ОА(рис. 3.1).

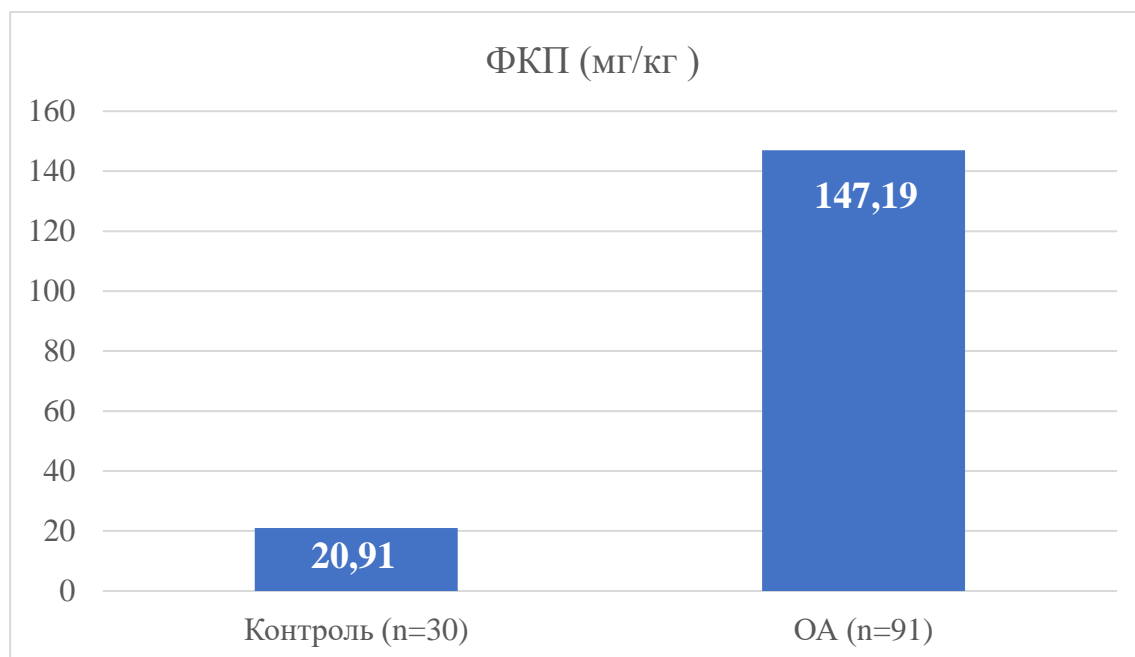


Рис. 3.1. Рівень ФКП (мг/кг) у хворих на ОА та осіб групи контролю ($p < 0,001$).

Рівень ФКП у групі з 30 осіб групи контролю склав 20,91 (IQR 19,5-32,53) мг/кг, що відповідає діапазону нормальних значень (менше за 50 мг/кг), встановленим для даного методу його визначення. У 91-го пацієнта з ОА нами

виявлено більш високий рівень ФКП, який склав 147,19 (IQR 132,76-161,8) мг/кг ($p < 0,001$).

Ми вивчили кореляцію рівня ФКП з кількома значними клінічними показниками наших пацієнтів. Знайдено позитивну кореляцію помірної сили між рівнем ФКП та віком (коефіцієнт кореляції Спірмена $\rho = 0,504$, $p < 0,0025$), між рівнем ФКП та вираженістю болю за ЧРШ ($\rho = 0,541$, $p < 0,001$), між рівнем ФКП та рентгенологічною стадією ОА ($\rho = 0,584$, $p < 0,01$), між рівнем ФКП та ФНС ($\rho = 0,623$, $p < 0,01$) між рівнем ФКП та тривалістю прийому НПЗП ($\rho = 0,455$, $p < 0,003$). Також, знайдено сильний позитивний зв'язок між рівнем ФКП та індексом Лекена ($\rho = 0,722$, $p < 0,0001$). Ми не знайшли достовірної кореляції між рівнем ФКП та такими показниками, як ІМТ, Бристольська шкала калу, чи наявність симптомів з боку ШКТ ($p > 0,05$). Ми не знайшли зв'язку між рівнем ФКП та ендоскопічними ураженнями верхніх відділів ШКТ ($p > 0,05$). Слід уточнити, що між групами хворих не було достовірної різниці за віком, а між групами хворих на ОА – ще й вираженістю болю та індексом Лекена ($p > 0,05$).

Виходячи з наведених даних, хворі на ОА характеризуються достовірно більш високим рівнем ФКП у порівнянні з особами контрольної групи.

Для перевірки НПЗП-індукованого ураження СО як причини підвищення ФКП, після узгодження з лікуючими лікарями ми запропонували пацієнтам, у яких ФКП був підвищеним, припинити прийом НПЗП на 2 тижні, а у разі виникнення такої потреби приймати парацетамол у дозі 0,5-1 г 1-3 рази на добу, який, як відомо, не викликає ураження кишковика. По закінченні двотижневого терміну ми знов виміряли рівень ФКП цим пацієнтам. Виявилось що у 91-го пацієнта (83,49%) рівень ФКП нормалізувався, а у 18-ти (16,51%) – залишився підвищеним. Останніх ми направили на ФКС для виключення органічної патології кишковика, відмінної від НПЗП-індукованого ураження, та виключили з дослідження. До числа хворих, описаних у даному дослідженні, вони не увійшли.

3.2. Комплекс «гемоглобін/гаптоглобін»

Ще одним біомаркером ушкодження кишковика є фекальний комплекс «гемоглобін/гаптоглобін» (Hb/Hp комплекс). Він дозволяє оцінити крововтрату через ушкоджену слизову оболонку кишковика. Традиційно в пострадянських країнах з даною метою використовувався тест на виділення з калом гемоглобіну (тест Грегерсена). Недоліками цієї методики були можливість руйнування гемоглобіну у просвіті кишковика під дією кишкових протеаз та панкреатичних протеаз, вплив чужорідної крові, яка могла потрапляти до ШКТ, наприклад, з м'ясом, на результат, складна підготовка перед здаванням аналізу, та велика кількість хибнопозитивних результатів і невисока точність. Натомість, Hb/Hp комплекс є значно більш стабільним та специфічним для людської крові, тому він все ширше входить у сучасну клінічну практику діагностики прихованих кишкових кровотеч, особливо тих, які походять з верхніх відділів кишковика [138]. Також, наразі нерідко використовується тест на приховану кров у калі (FOB-тест), який є також специфічним до людської крові. Але, за результатами знайдених нами досліджень, визначення Hb/Hp комплексу характеризується достовірно вищою чутливістю (до 93,2-100% проти 46,2-65,5%) при дещо меншій специфічності (92,4-95,3% проти 100%) до товстокишкових кровотеч [139]. Наразі, визначення Hb/Hp комплексу використовується здебільшого для діагностики пухлин ШКТ, які кровоточать [140]. Останнім часом було запропоновано застосовувати його в якості скринінгового методу діагностики уражень тонкої кишки [138,141]. Нажаль, ми не знайшли даних щодо застосування даної методики для діагностики НПЗП-індукованих уражень ШКТ. Також не досліджено фекальний вміст Hb/Hp комплексу у хворих на ОА. Тому ми *поставили за мету* вивчити показники вмісту Hb/Hp комплексу у калі хворих на ОА та порівняти його з таким у осіб групи контролю (рис. 3.2).

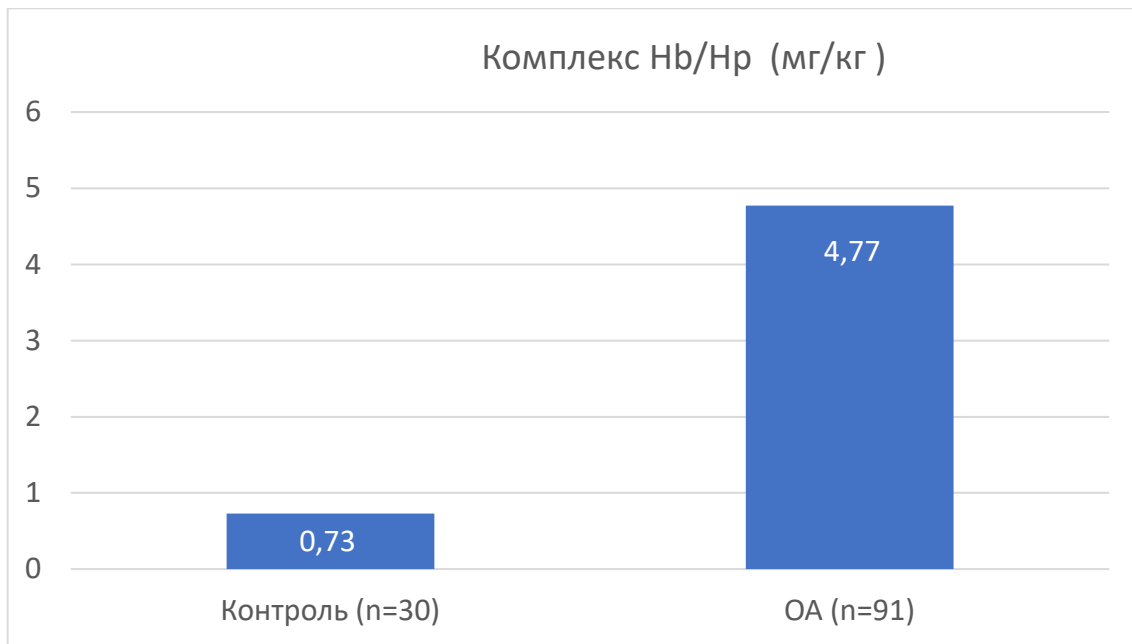


Рис. 3.2. Рівень фекального Hb/Hp комплексу (мг/кг) у хворих на ОА та осіб контрольної групи ($p=0,00361$).

У контрольній групі рівень Hb/Hp комплексу складав 0,73 (IQR 0,65-0,79) мг/кг. Серед хворих на ОА рівень Hb/Hp комплексу склав 4,77 (IQR 3,41-6,81) мг/кг. Як видно з рис. 3.2, у пацієнтів з ОА рівень фекального Hb/Hp комплексу виявився вищим за такий у групи контролю у 6,5 разів ($p=0,00361$).

При проведенні кореляційного аналізу нами виявлено зв'язок рівня фекального Hb/Hp комплексу з наступними показниками: помірний позитивних зв'язок цього показника з індексом Лекена ($p=0,497$, $p=0,00582$) та з тривалістю прийому НПЗП ($p=0,463$, $p=0,0148$). Ми не знайшли достовірної кореляції даного показника з віком хворих, ІМТ, вираженістю болю за ЧРШ, рентгенологічною стадією ОА, ФНС, симптоматикою з боку ШКТ (болем в епігастрії, печією, здуттям живота, значенням Бристольської шкали калу) чи ендоскопічними ознаками ураження верхніх відділів ШКТ ($p>0,05$).

3.3. Секреторний імуноглобулін А

Ще одним, не зовсім «традиційним» потенційним біомаркером ушкодження СО кишковика є секреторний імуноглобулін А (sIgA). Він входить у склад преепітеліального бар'єра та відіграє провідну роль у захисті СО

кишкови́ка від патогенних мікроорганізмів. Маючи протизапальні властивості, він забезпечує не лише захист СО від токсинів та мікроорганізмів, але й фіксацію непатогенних мешканців кишкови́ка [142]. На теперішній час sIgA відносять до протизапальних маркерів СО та показників загального здоров'я кишкови́ка, хоча розглядають і у якості маркера запалення [143]. Рівень фекального sIgA підвищується при кишкових інфекціях та знижується при алергічних захворюваннях, а пробіотики здатні його нормалізувати [144,145]. Було запропоновано визначати фекальний sIgA разом з ФКП для скринінгу колоректального раку [140]. Показано, що при спондилоартриті підвищується рівень фекального sIgA, а лікування сульфасалазином нормалізує його, хоча особливо тяжкі випадки спондилоартритів, навпаки, асоційовані з зниженими рівнями фекального sIgA [146,147]. В експерименті встановлено, що аспірин знижує вміст sIgA у СО шлунка, а пробіотики, підвищуючи його рівень, профілактують такі ушкодження [148]. Нам не вдалося знайти досліджень, присвячених вивченню вмісту фекального sIgA при ОА та впливу НПЗП на рівень цього показника як маркера ураження кишкови́ка. В зв'язку з цим ми дослідили рівень фекального sIgA у хворих на ОА та порівняли його з контрольною групою осіб без ознак ОА (рис. 3.3).

У контрольній групі рівень фекального sIgA складав 593.57 (IQR 549.0-761.91) мг/кг, що відповідає нормальному рівню. У групі пацієнтів з ОА вміст даного біомаркера виявився більш як на 80% вищим, ніж у групі контролю, і досяг 1088,83 (IQR 986,0-1,291,25), різниця достовірна ($p=0,0059$).

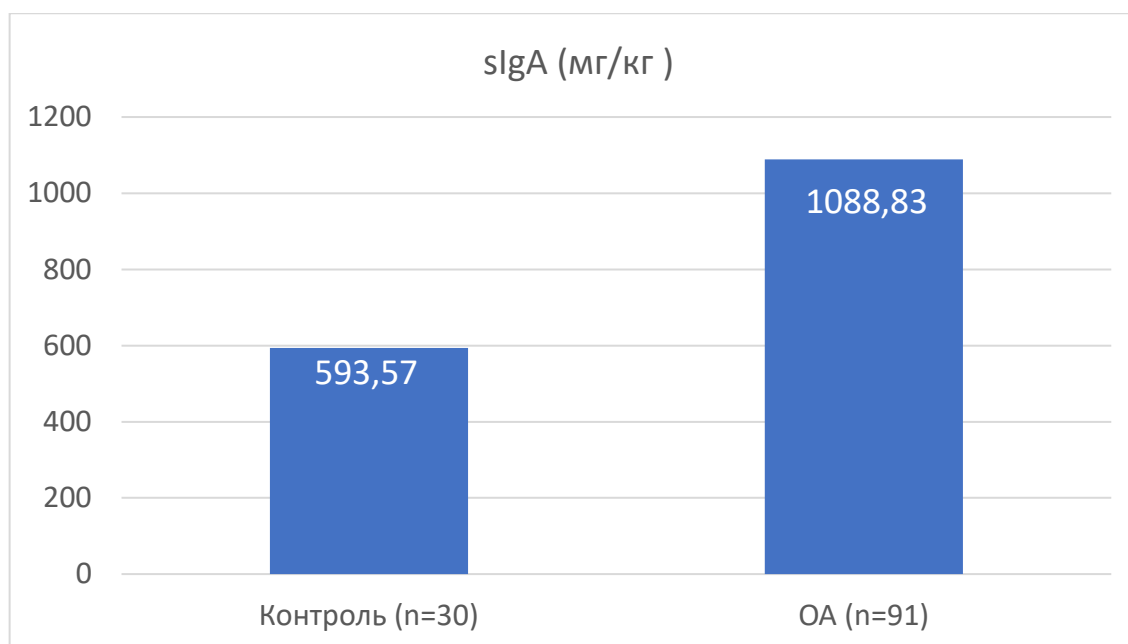


Рис. 3.3. Рівень фекального sIgA (мг/кг) у хворих на ОА та осіб контрольної групи ($p=0,0059$).

Таким чином, у хворих на ОА ми знайшли достовірне підвищення рівня фекального sIgA у порівнянні зі групою контролю більш ніж на 80%.

На відміну від двох описаних нами раніше біомаркерів ураження кишковика, рівень фекального sIgA не показав достовірного кореляційного зв'язку з віком хворого, ІМТ, вираженістю болю за ЧРШ, рентгенологічною стадією ОА, ФНС, індексом Лекена, тривалістю прийому НПЗП чи симптоматикою з боку ШКТ чи іншими проаналізованими клінічними показниками хворих ($p>0,05$).

РОЗДІЛ 4.

ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН ПОКАЗНИКІВ СКЛАДУ ФЕКАЛЬНОГО МІКРОБІОМУ ЯК НЕІНВАЗИВНОГО МАРКЕРА УРАЖЕНЬ КИШКОВИКА У ХВОРИХ НА ОСТЕОАРТРИТ

Враховуючи можливий зв'язок між складом кишкової мікрофлори та ОА, ми вивчили кількісно вміст основних груп КМ у 91-го пацієнта з ОА. Методом ПЛР ми визначили 16S rRNA-праймери 3-х основних типів (phylum) КМ – *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, а, також, «інших» представників – загальну масу бактеріальної 16S rRNA, крім типів, зазначених вище. З четвертого основного типу кишкових мікроорганізмів – *Proteobacteria* – ми вирішили визначити вміст класу *Gamma-proteobacteria*. Такий вибір обумовлений тим, що до класу *Gamma-proteobacteria* входять такі клінічно значимі сімейства грамнегативних мікроорганізмів, як *Pseudomonadaceae* та *Enterobacteriaceae*, які можуть відігравати роль і у патогенезі ОА та НПЗП-обумовленого ураження кишечника. Окремо визначалася муцин-деградуюча бактерія *Akkermansia muciniphila*. Відомо, що вона здатна підвищувати стійкість СО кишечника до ушкоджуючих факторів, а також вона є асоційованою з більш низьким ризиком запальних захворювань кишечника, ожиріння, цукрового діабету та метаболічного синдрому. Ця бактерія, розщеплюючи муцин, постачає додаткові вуглеводи для інших кишкових бактерій; одночасно, вона стимулює синтез муцину клітинами СО кишечника. Завдяки підвищенню синтезу коротколанцюгових жирних кислот, цей мікроорганізм справляє пребіотичну дію, збільшуючи кількість сапрофітної флори [149–151]. Також, *Akkermansia muciniphila* зменшує проникність СО кишечника шляхом підвищення вмісту оклюдинів та клаудинів у щільних контактах епітелію. Не менше позитивне значення має здатність даної бактерії зменшувати синтез прозапальних цитокінів та матриксних металопротеїназ [24,26,152,153].

4.1. *Firmicutes*

У дослідженій нами популяції як серед осіб контрольної групи, так і серед хворих на ОА переважаючим типом мікроорганізмів були представники *Firmicutes*. У осіб європейської популяції їх вміст складає 60-80% від усіх фекальних мікроорганізмів, хоча у наукових джерелах відмічається, що у кожній популяції необхідно визначати нормативи окремо [154,155]. На рис. 4.1 представлено вміст *Firmicutes* у калі хворих на ОА та у контрольній групі.

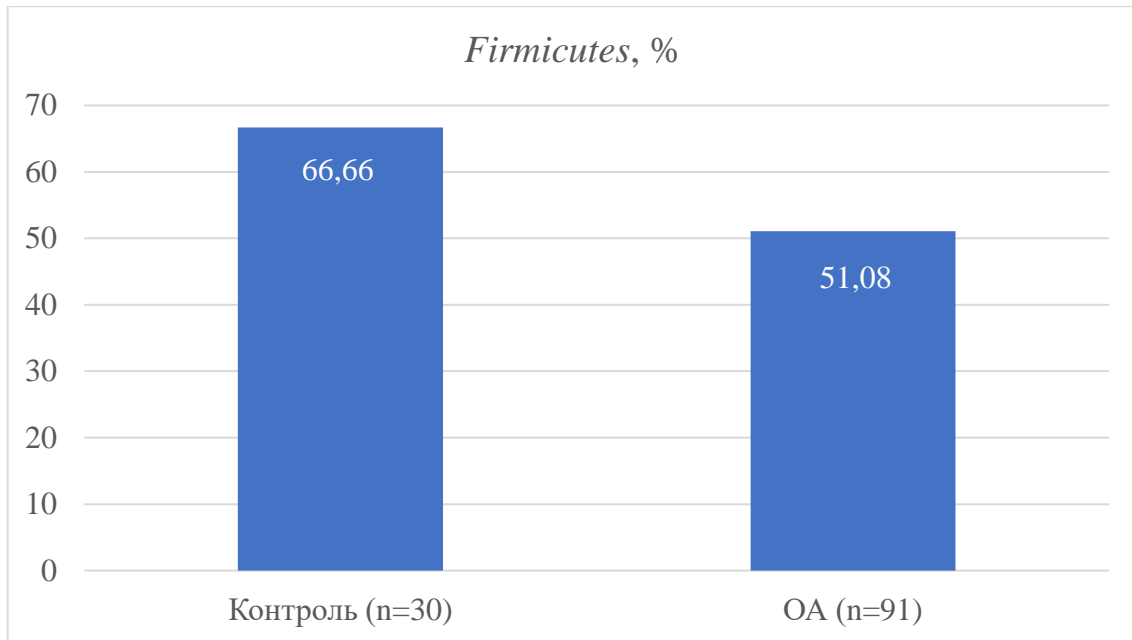


Рис. 4.1. Вміст *Firmicutes* у калі хворих на ОА та у контрольній групі ($p < 0,0001$).

Як видно з наведених даних, у контрольній групі медіана складу *Firmicutes* склала 66,66% (IQR 58,57-73,66), а у хворих на ОА майже на чверть менше – 51,80% (IQR 45,37-58,64), різниця достовірна ($p < 0,0001$). Варто відмітити, що навіть у контрольній групі більш ніж у 72% осіб вміст *Firmicutes* виявився достовірно нижчим за нижню межу референсних значень, наданих лабораторією, що може бути пов'язано з відносно високими віком та масою тіла у представників контрольної групи.

При проведенні кореляційного аналізу нами знайдено негативну кореляцію між фекальним вмістом *Firmicutes* та рентгенологічною стадією ОА (коефіцієнт кореляції Спірмена $\rho = -0,521$) та позитивну – з рівнем фекального

Нв-Нр комплексу ($\rho=0,371$), $p<0,05$. Нами не знайдено кореляції між фекальним вмістом *Firmicutes* та рівнем ФКП, SIgA, віком, ІМТ, вираженістю болю за ВАШ, з індексом Лекена, ступенем ФНС та тривалістю прийому НПЗП ($p>0,05$).

4.2. *Bacteroidetes*

Другим за вмістом у калі типом мікроорганізмів у хворих на ОА та третім у осіб контрольної групи виявився *Bacteroidetes*. У контрольній групі вміст цього типу мікроорганізмів склав 6,06% (IQR 3,23-8,57), а у хворих на ОА він виявився у 2,7 рази вищим – 15,86% (IQR 8,25-20,54) $p<0,0001$ (рис. 4.2). Варто підкреслити, що у контрольній групі вміст *Bacteroidetes* виявився значно нижчим за лабораторні нормативи, про можливу причину цього ми згадували вище. Як відомо, зниження вмісту цього типу мікроорганізмів є характерним для таких метаболічних порушень, як ожиріння, цукровий діабет 2-го типу, метаболічний синдром, атеросклероз.

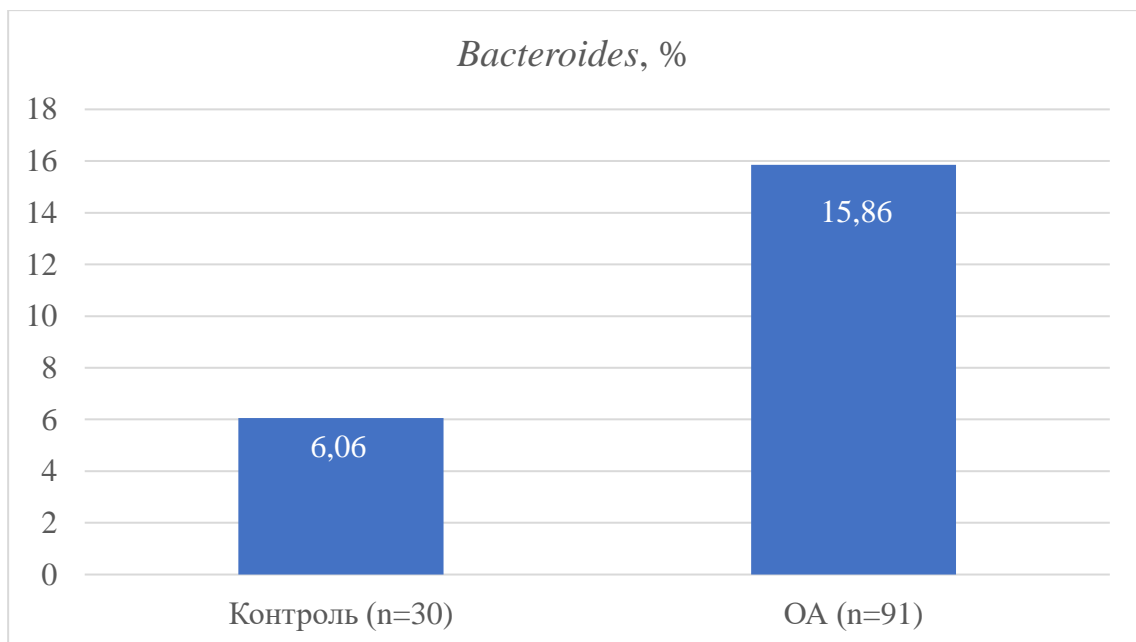


Рис. 4.2. Фекальний вміст *Bacteroidetes* у хворих на ОА та у контрольній групі ($p<0,0001$).

Кореляційний аналіз показав наявність негативного зв'язку між фекальним вмістом *Bacteroidetes* та Нв/Нр-комплексу ($\rho=-0,462$; $p<0,05$), зв'язку з іншими вивченими нами показниками (рівнем ФКП, SIgA, віком, ІМТ,

вираженістю болю за ВАШ, з індексом Лекена, рентгенологічною стадією ОА, ступенем ФНС та тривалістю прийому НПЗП ми не знайшли ($p>0,05$).

4.3. Співвідношення F/B

Не менше значення ніж абсолютний вміст *Firmicutes* та *Bacteroidetes* має їх співвідношення – коефіцієнт F/B . У систематичному огляді 32-х досліджень було показано, що це співвідношення є вищим у осіб з ожирінням [156]. Аналогічні дані отримані і в українській популяції, причому, це співвідношення більш тісно корелює з ІМТ ніж вміст кожного з цих типів мікроорганізмів [134]. Запропоновано користуватися цим індексом для оцінки вікового складу КМ [157]. Зниження співвідношення F/B є характерним для аутоімунних захворювань, а підвищення – для артеріальної гіпертензії [158,159].

За нашими даними (рис 4.3), співвідношення F/B у осіб групи контролю складало 11,60 (IQR 6,56-20,76), що є близьким до даних, отриманих у голландському дослідженні – 7,86 [154]; у той же час, у вітчизняному дослідженні були отримані значно нижчі значення – близько 1 [134]. У групі хворих на ОА показник співвідношення F/B у калі був майже у 3,5 разів нижчим та складав 3,32 (IQR 2,18-5,47) $p<0,0001$.

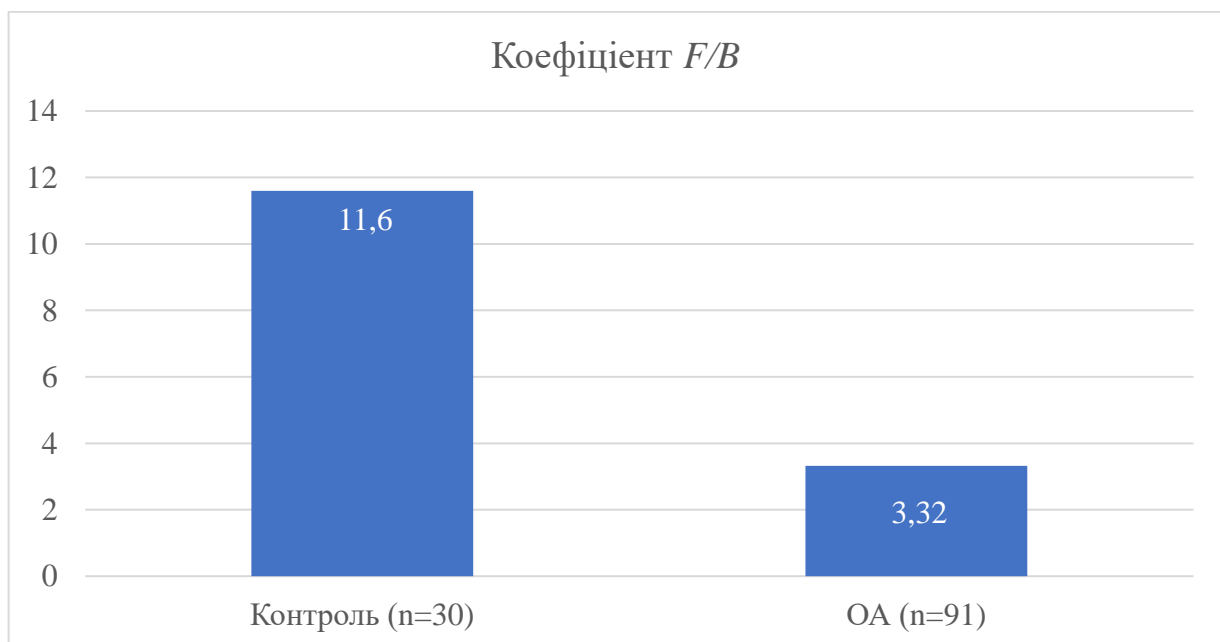


Рис. 4.3. Співвідношення F/B у хворих на ОА та у контрольній групі ($p<0,0001$).

Отримані нами дані співпадають з результатами невеликого корейського дослідження, де у хворих на ОА у калі було знайдено зниження вмісту Firmicutes, підвищення Bacteroidetes та, відповідно, зниження співвідношення F/B [160].

При кореляційному аналізі нами було знайдено позитивний зв'язок між співвідношенням F/B та рівнем фекального Нв/Нр-комплексу ($\rho=0,463$; $p<0,05$), з ІМТ ($\rho=0,455$; $p<0,05$), а також з віком хворих ($\rho=0,562$; $p<0,05$). Із іншими вивченими нами показниками кореляційного зв'язку знайдено не було ($p>0,05$).

4.4. Actinobacteria

Другими за вмістом у калі осіб групи контролю та третіми у хворих на ОА були мікроорганізми типу *Actinobacteria*. У нідерландському дослідженні у європейців вони були на другому місці за вмістом у калі, а в українському – на третьому [134,154]. Найбільше значення у протекції суглобів при ОА відіграють представники роду *Bifidobacterium*, який відноситься до цього типу; вони мають протизапальні властивості. Так, застосування пробіотику на основі *Bifidobacterium* знижувало запалення синовіальної оболонки у експериментальній моделі ОА при ожирінні [96].

У осіб контрольної групи вміст у калі *Actinobacteria* склав 12,16% (ІQR 8,09-16,54). У хворих на ОА їх вміст складав 9,99 (ІQR 6,55-13,61) і був майже у 1,2 рази нижчим за такий у осіб групи контролю ($p=0,017$) (рис. 4.4).

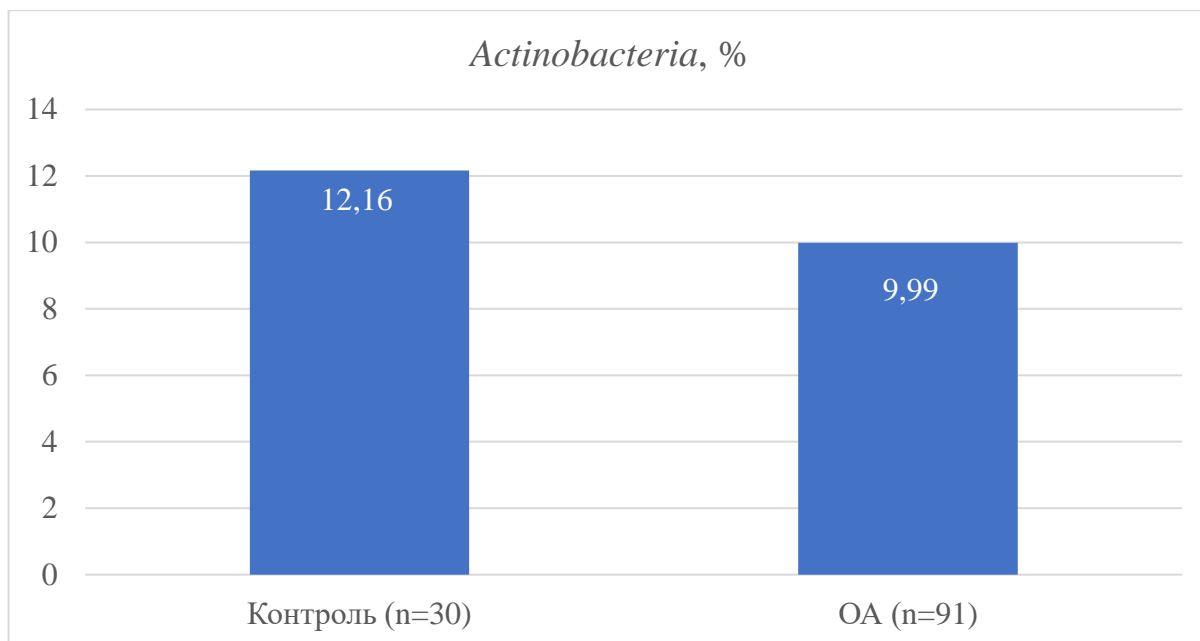


Рис. 4.4. Фекальний вміст *Actinobacteria* (%) у хворих на ОА і у контрольній групі ($p=0,017$).

Кореляційний аналіз показав, що між фекальним вмістом *Actinobacteria* та віком хворих існує негативний зв'язок ($\rho=-0,300$; $p<0,05$). З іншими вивченими показниками достовірний зв'язок відсутній ($p>0,05$).

4.5. Інші

Як вже вказувалося вище, залишок бактеріальної ДНК оцінювався як «інша» мікробіота, до складу якої входили мікроорганізми інших типів без їх більш детального диференціювання. Порівняння цього узагальненого показника є досить неоднозначним, оскільки до нього увійшли представники як потенційно патогенних мікроорганізмів, наприклад, типу *Proteobacteria*, так і мікроорганізми, які мають протективний та протизапальний вплив. Тим не менш, ми порівняли вміст «інших» мікроорганізмів у групах пацієнтів з ОА та контролю (рис. 4.5).

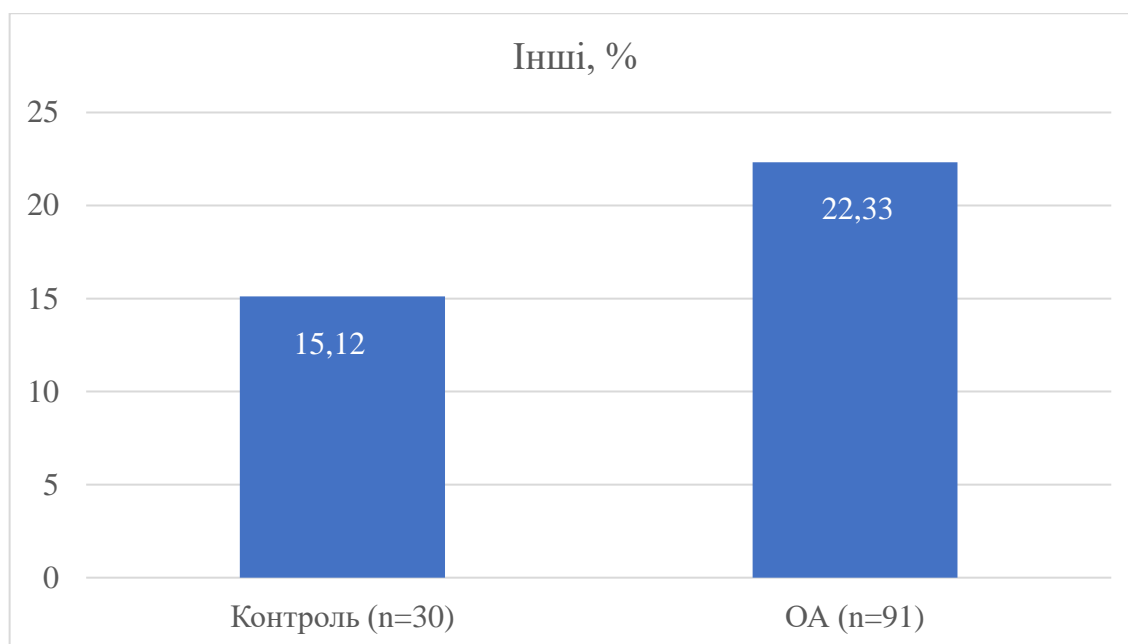


Рис. 4.5. Фекальний вміст «інших» мікроорганізмів (у %) у хворих на ОА та у контрольній групі ($p=0,002$).

Як видно з наведеної діаграми, у контрольній групі вміст «інших» мікроорганізмів складав 15,12% (IQR 12,10-19,57), а у хворих на ОА він був у 1,6 рази вищим – 22,33% (IQR 13,39-33,95), $p=0,002$.

При кореляційному аналізі знайдено позитивний зв'язок фекального вмісту «інших» мікроорганізмів з рентгенологічною стадією ОА ($\rho=0,562$; $p<0,05$) та з ІМТ ($\rho=0,316$; $p<0,05$). З іншими дослідженими нами показниками зв'язку не знайдено ($p>0,05$).

4.6. Порівняння вмісту представників КМ за біохімічними показниками

Як уже було вказано вище, зміна вмісту кишкових мікроорганізмів може бути фактором, який сприяє розвитку НПЗП-асоційованого ураження нижніх відділів ШКТ. Тому ми вирішили проаналізувати фекальний вміст бактерій залежно від наявності маркерів ушкодження кишковика у хворих на ОА. Так, у пацієнтів, які мали рівень ФКП вище за 50 мг/кг, мали на 3 порядки нижчий вміст *Akkermansia muciniphila* ніж ті у котрих він був нормальним (0,0021% (IQR 0-0,5407) проти 3,4127% (IQR 0,0337-4,3502), $p=0,031$) (рис. 4.6). Вміст

інших вивчених нами мікроорганізмів між цими підгрупами достовірно не відрізнявся ($p > 0,05$).

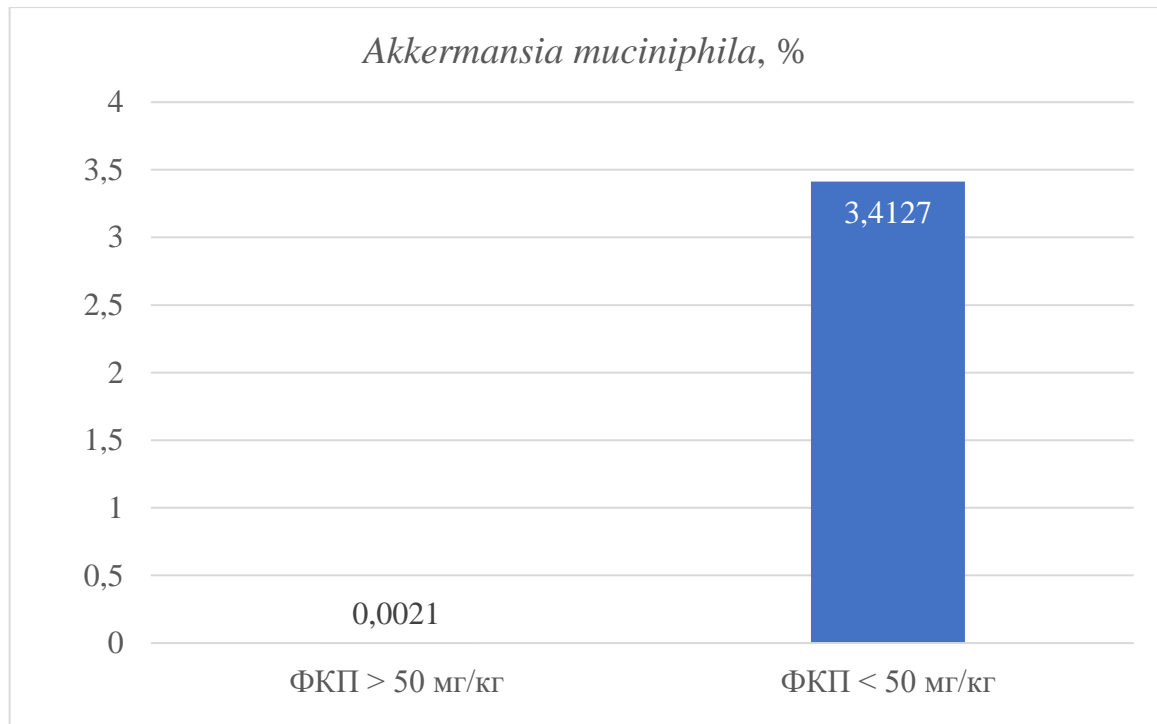


Рис. 4.6. Фекальний вміст *Akkermansia muciniphila* (у %) у підгруп хворих залежно від рівня ФКП ($p = 0,031$).

Дана різниця вказує на зв'язок вмісту *Akkermansia muciniphila* у калі з інтенсивністю кишкового запалення.

У хворих на ОА з підвищеним (> 2 мг/кг) рівнем фекального Нв/Нр-комплексу спостерігався в 2,4 рази нижчий вміст *Bacteroidetes* (8,03 (IQR 7,36-12,86) проти 18,95 (IQR 11,63-25,27), $p = 0,007$) та в 2,5 рази вище співвідношення *F/B* (7,69 (IQR 5,47-9,33) проти 3,13 (IQR 1,79-5,16), $p = 0,009$), ніж у хворих з нормальним його рівнем. У таких хворих спостерігалася тенденція до підвищення вмісту *Firmicutes* та зниження *Akkermansia muciniphila*, однак відмінність цих показників не досягла статистично значущого рівня ($p = 0,111$ і $p = 0,0586$ відповідно).

При одночасному підвищенні рівня ФКП вище за 50 мг/кг та фекального Нв/Нр-комплексу вищим за 2 мг/кг, у пацієнтів достовірно, більш ніж вдвічі, було знижено вміст *Bacteroidetes* – 8,06 (IQR 7,36-12,97) проти 18,95 (IQR

13,96-23,14), $p=0,004$ та достовірно, у 2,3 рази, підвищено співвідношення F/B – 7,1 (IQR 5,396-10,02) проти 3,13 (IQR 1,99-4,56), $p=0,007$ (рис. 4.7) у порівнянні з тими, у кого обидва показника були нормальними. Знайдено, також, тенденцію до підвищення вмісту *Firmicutes*, *Gamma-proteobacteria* та зниженню *Akkermansia muciniphila*, але відмінності виявилися недостовірними (відповідно, $p= 0,063$; $p= 0,183$ и $p= 0,137$).

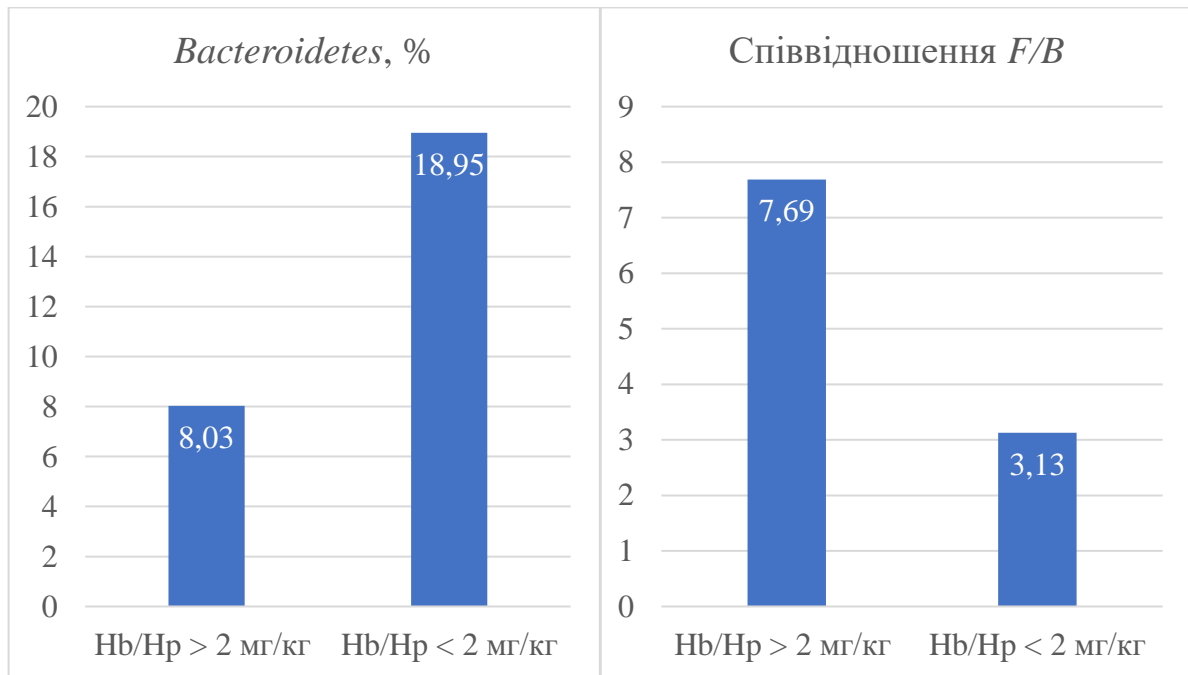


Рис. 4.7. Відмінності вмісту *Bacteroidetes* (%) та співвідношення F/B залежно від рівня Hb/Hp комплексу за ФКП>50 мг/кг, ($p=0,007$).

При використанні більш суворого критерію відбору – підвищення рівня ФКП більш за 200 мг/кг при підвищеному рівні фекального Hb/Hp-комплексу більш за 2 мг/кг, зберігалися ті ж тенденції: достовірне зниження (у 2,5 рази) вмісту *Bacteroidetes* – 8,28 (IQR 7,89-13,96) проти 20,57 (IQR 16,99-23,07), $p=0,012$, та підвищення у 2,4 рази співвідношення F/B – 7,10 (IQR 4,55-9,29) проти 2,93 (IQR 2,14-3,65), $p=0,033$.

РОЗДІЛ 5.

ЗВ'ЯЗОК МІЖ ПРИЙОМОМ НПЗП РІЗНОГО СТУПЕНЯ СЕЛЕКТИВНОСТІ ТА НЕІНВАЗИВНИМИ ПОКАЗНИКАМИ УРАЖЕННЯ КИШКОВИКА

Слід враховувати, що обстежена нами група хворих на ОА була неоднорідною та включала як тих, хто приймав НПЗП, так і тих, хто не приймав їх. Тому, ми проаналізували рівні фекальних маркерів запалення та фекальний вміст мікроорганізмів залежно від того, приймали чи не приймали наші пацієнти НПЗП та від селективності цих НПЗП.

5.1. Фекальний кальпротектин

Першим кроком, ми порівняли рівні ФКП у осіб групи контролю та у хворих на ОА залежно від прийому пацієнтами НПЗП та їх селективності (рис. 5.1).

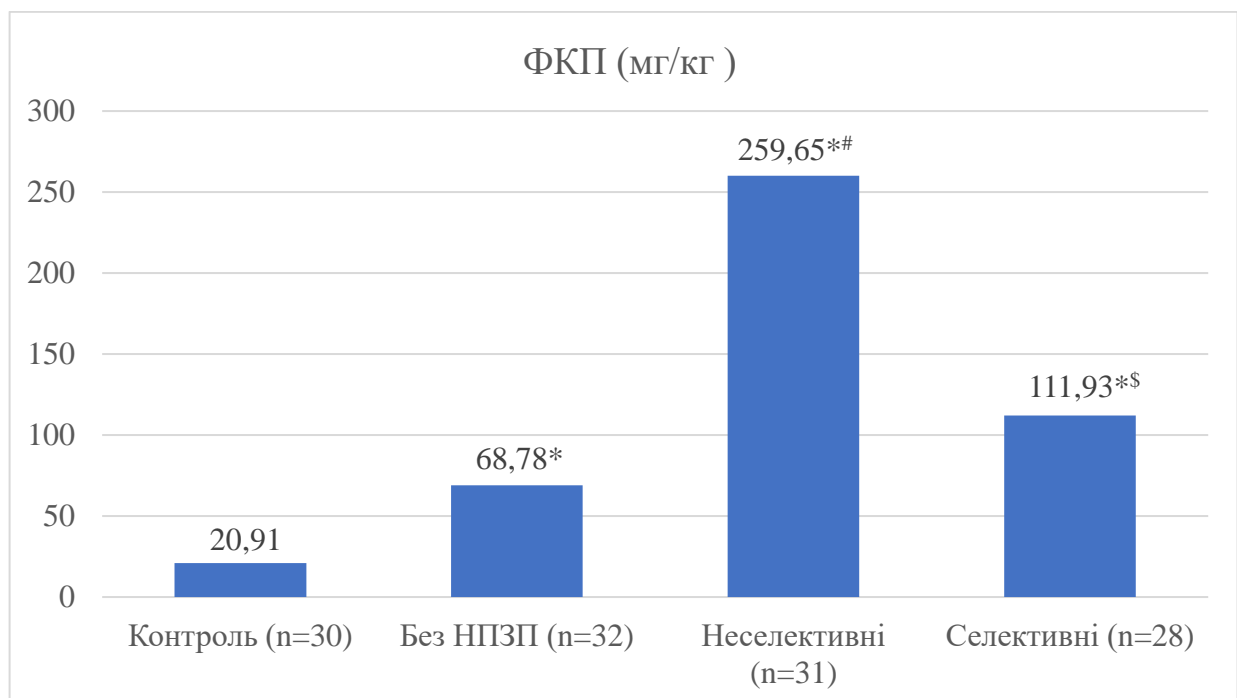


Рис. 5.1. Рівень ФКП (мг/кг) у підгрупах хворих на ОА залежно від типу НПЗП, які вони приймають та осіб контрольної групи.

*Примітки: * – $p < 0,01$ у порівнянні з контролем; # – $p < 0,01$ у порівнянні з підгрупою «Без НПЗП»; \$ – $p < 0,01$ у порівнянні з підгрупою неселективних.*

В першій підгрупі 32 обстежених пацієнтів з ОА, які не приймали НПЗП. У них рівень ФКП склав 68,78 (IQR 61,48-90,295) мг/кг, що є достовірно, у 2,3 рази, вищим за такий у групі контролю ($p=0,00815$).

У другій підгрупі, 31 пацієнт приймав неселективні НПЗП. Рівень ФКП у них склав 259,65 (IQR 234,669-294,989) мг/кг, в 10 разів перевищивши такий у групи контролю ($p<0,001$) та у 3,77 рази перевищивши такий у тих, хто не приймав НПЗП ($p<0,001$).

У третій підгрупі були 28 пацієнтів, які приймали селективні НПЗП. У них рівень ФКП виявився проміжним між 1-ю та 2-ю підгрупами, і склав 111,93 (IQR 105,31-149,63) мг/кг, достовірно, у 4,1 рази перевищуючи рівень у осіб групи контролю ($p<0,01$) та більш ніж вдвічі нижчим за таких у хворих, які приймали неселективні НПЗП ($p<0,01$). В той же час, він не відрізнявся достовірно від рівня ФКП у хворих на ОА, які не приймали НПЗП ($p=0,056682$).

При аналізі пацієнтів з ОА залежно від прийому та типу НПЗП, які вони вживали, виявилось, що найбільш значне підвищення рівня ФКП знайдено у підгрупі хворих, які приймали неселективні НПЗП, тобто, ті, які найбільшим чином викликають ураження ШКТ. У той же час, у хворих на ОА, які не приймали НПЗП, рівень ФК виявився у 2,5 рази нижчим, хоча також достовірно перевищував такий у контрольній групі. Таке підвищення рівня ФКП у хворих на ОА може бути пов'язаним з змінами кишкової мікробіоти, як це виявлено при серонегативних спондилоартритах [161]. У хворих, які приймали селективні НПЗП, ступінь підвищення рівня ФКП був меншим, і займав проміжне положення між групою контролю та підгрупою тих, хто приймав неселективні НПЗП. Він достовірно не відрізнявся від такого у підгрупі хворих, які не приймали НПЗП.

Для кращого розуміння зв'язку підвищеного рівня ФКП та лікування НПЗП ми розділили пацієнтів кожної підгрупи у відповідності до рівня ФКП згідно референсних значень, наданих виробником реактиву – на нормальний – до 49,9 мг/кг, проміжний – 50-199,9 мг/кг, та підвищений – вище ніж 200 мг/кг. Результати наведені на рис. 5.2.

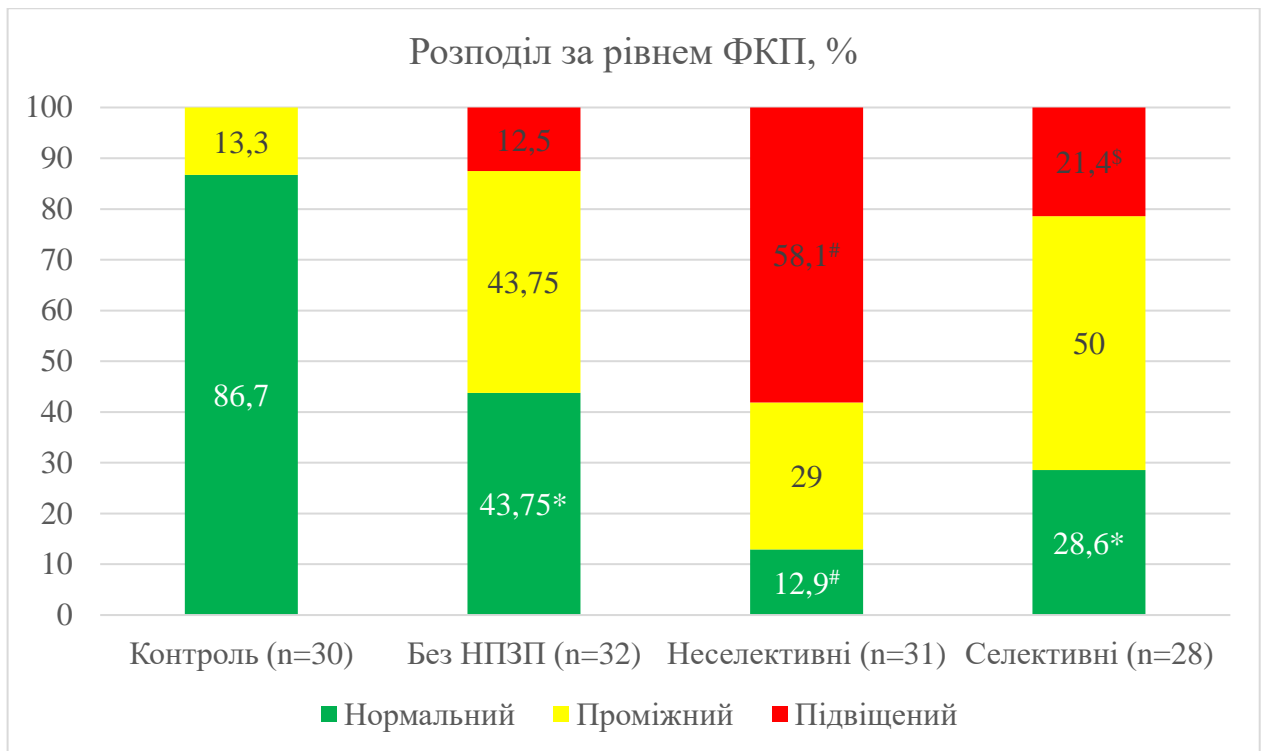


Рис. 5.2. Розподіл підгруп хворих (у %) за ступенем підвищення рівня ФКП.

Примітки: * – $p < 0,01$ у порівнянні з контролем; # – $p < 0,01$ у порівнянні з підгрупою «Без НПЗП»; \$ – $p < 0,01$ у порівнянні підгрупою неселективних НПЗП.

Як бачимо на рис. 5.2, лише у 4 (13,3%) учасників контрольної групи ми знайшли проміжний рівень ФКП, у інших його рівень відповідав нормальному. В той же час, у хворих на ОА, які не приймали НПЗП, проміжний рівень ФКП знаходили вже у 14 (43,75%), а підвищений – у 4 (12,5%). У пацієнтів, які приймали неселективні НПЗП такі значення спостерігалися, відповідно, у 9 (29%) та 18 (58,1%), а серед тих, хто приймав селективні – у 14 (50%) та 6 (21,4%) відповідно. При оцінці значущості змін рівня ФКП між підгрупами було знайдено статистично значущу відмінність ($p < 0,01$).

Ми встановили, що у хворих на ОА, в порівнянні зі учасниками контрольної групи, достовірно вища частота виявлення проміжного рівня ФКП (OR=9,692; 95%ДІ 2,363-29,560; $p < 0,001$). Серед пацієнтів, які не приймали НПЗП, достовірно частіше зустрічався проміжний рівень ФКП (OR=4,92; 95%ДІ 1,273-23,965; $p = 0,0012$), і рідше нормальний (OR=0,12; 95%ДІ 0,026-

0,475; $p=0,0012$), ніж серед групи контролю. У пацієнтів, які приймали неселективні НПЗП, у порівнянні з тими, хто не приймав ці препарати, достовірно вища частота виявлення підвищеного рівня ФКП ($OR=9,3$; $95\%DI$ 2,427-45,569; $p=0,0019$), проте рідше виявляється нормальний рівень ($OR=0,196$; $95\%DI$ 0,04-0,75; $p<0,001$). Серед тих, хто приймав селективні НПЗП, достовірно частіше, ніж серед тих, хто приймав неселективні, виявлялися підвищені рівні ФКП ($OR=0,2$; $95\%DI$ 0,052-0,703; $p=0,007$). В той же час, ми не знайшли значущої різниці між частотами виявлення різних рівнів ФКП у пацієнтів, які приймали селективні НПЗП та тих, хто не приймав НПЗП ($p>0,1$).

5.2. Нв/Нр комплекс

Наступним кроком, ми порівняли рівні Нв/Нр комплексу залежно від прийому НПЗП хворими на ОА та селективності цих препаратів (рис. 5.3).

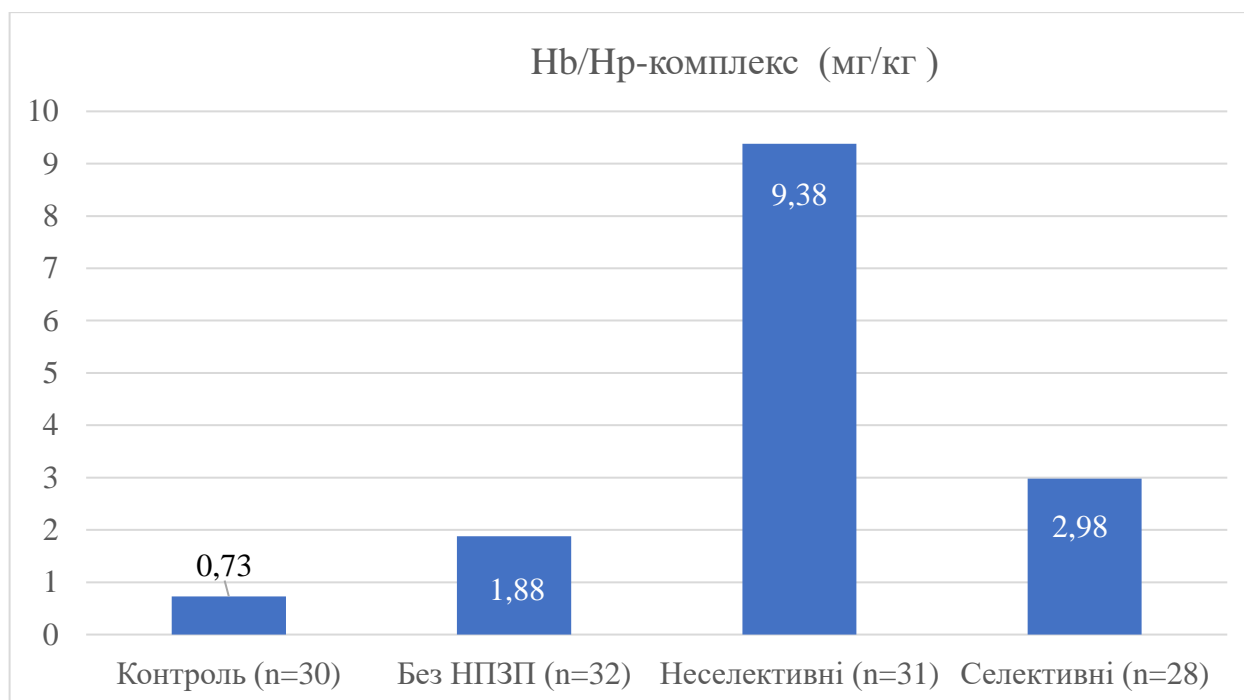


Рис. 5.3. Рівень фекального Нв/Нр комплексу (мг/кг) у досліджених осіб залежно від прийому ними НПЗП та його селективності.

Примітки: * – $p<0,01$ у порівнянні з контролем; & – $p<0,05$ у порівнянні з контролем; # – $p<0,05$ у порівнянні з підгрупою «Без НПЗП»; \$ – $p<0,05$ у порівнянні з підгрупою неселективних.

Як бачимо з наведених даних, у підгрупі тих, хто не приймав НПЗП, рівень фекального Нв/Нр комплексу склав 1,88 (IQR 1,23-2,6) мг/кг. Незважаючи на те, що він перевищив показники контрольної групи майже в 2,5 рази, ця різниця виявилася статистично недостовірною ($p=0,12$).

У другій підгрупі хворих на ОА, які приймали неселективні НПЗП, рівень фекального Нв/Нр комплексу склав 9,38 (IQR 7,47-13,29) мг/кг. Спостерігається достовірно більша його концентрація як у порівнянні з особами контрольної групи (більш ніж у 12 разів, $p=0,0043$), так і з пацієнтами, які не приймали НПЗП (майже у 5 разів, $p=0,043$).

Як і у випадку з ФКП, у хворих, які приймали селективні НПЗП, рівень фекального Нв/Нр комплексу займав проміжне положення між значеннями тих, хто не приймав НПЗП та тих, хто приймав селективні НПЗП. Він склав 2,98 (1,34-4,62) мг/кг. Це значення майже в 4 рази перевищує таке у контрольній групі ($p=0,035$), але у 3 рази нижче за таке у тих, хто приймав неселективні НПЗП ($p=0,043$). Достовірної різниці у порівнянні з значеннями у тих, хто не приймав НПЗП, не виявлено ($p>0,1$).

Наступним кроком, ми проаналізували частоту виявлення підвищеного рівня фекального Нв/Нр комплексу у підгрупах хворих. Пороговим рівнем ми вважали 2 мг/кг, що є оптимальним для виявлення прихованої крововтрати [162], і співпадає з референсними значеннями, наданими виробником реактиву. Результати подані на рис. 5.4.

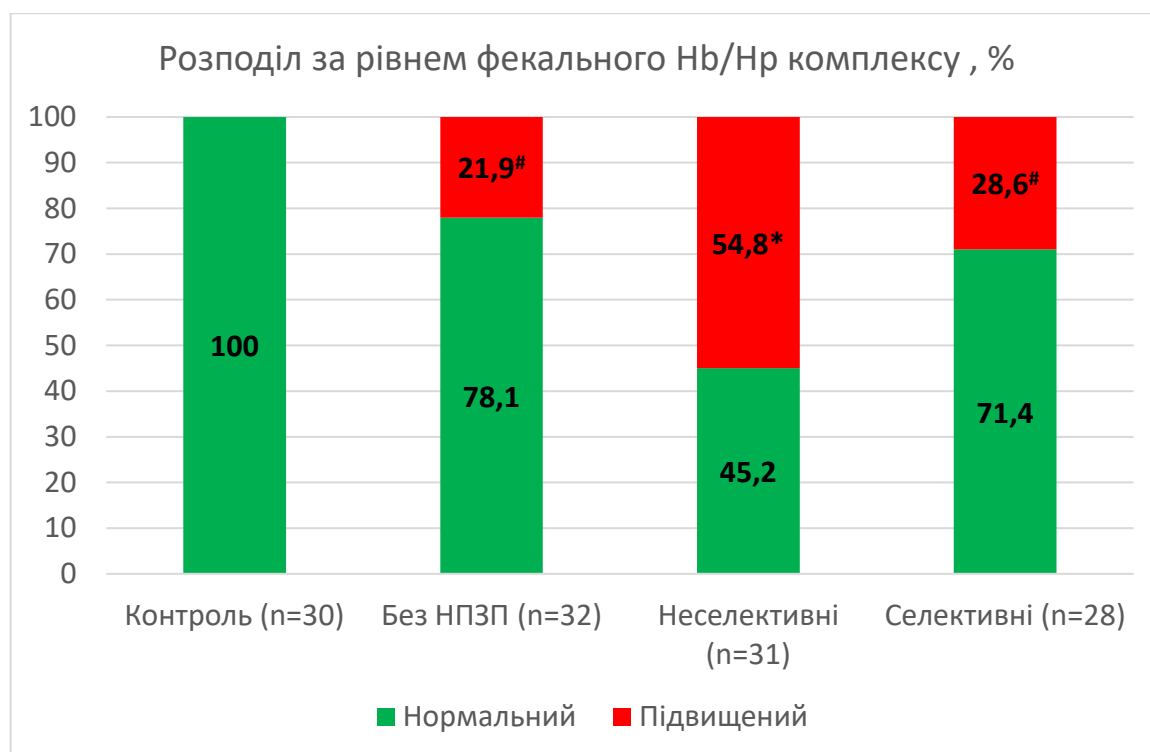


Рис. 5.4. Розподіл значень фекального Нв/Нр комплексу (%) за підвищенням відносно порогового у підгрупах хворих.

Примітки: * – $p < 0,01$ у порівнянні з контролем та з підгрупою «Без НПЗП»; # – $p < 0,05$ у порівнянні з контролем.

Як бачимо з наведених даних, лише у хворих на ОА відмічається підвищення рівня фекального Нв/Нр комплексу. У групі контролю його значення не перевищують поріг у 100% учасників. У тих, хто приймає неселективні НПЗП, частота виявлення підвищеного рівня фекального Нв/Нр комплексу достовірно вища, ніж у групі контролю ($p < 0,001$) та ніж у підгрупі тих, хто не приймає НПЗП (OR=4,229; 95% CI 1,288-15,289; $p = 0,0097$). Різниця ж між значеннями у підгрупі тих, хто приймав селективні НПЗП і тими, хто не приймав НПЗП, була статистично незначущою ($p > 0,05$).

5.3. sIgA

При аналізі вмісту фекального sIgA по підгрупах обстежених нами було отримано наступні результати (рис. 5.5).

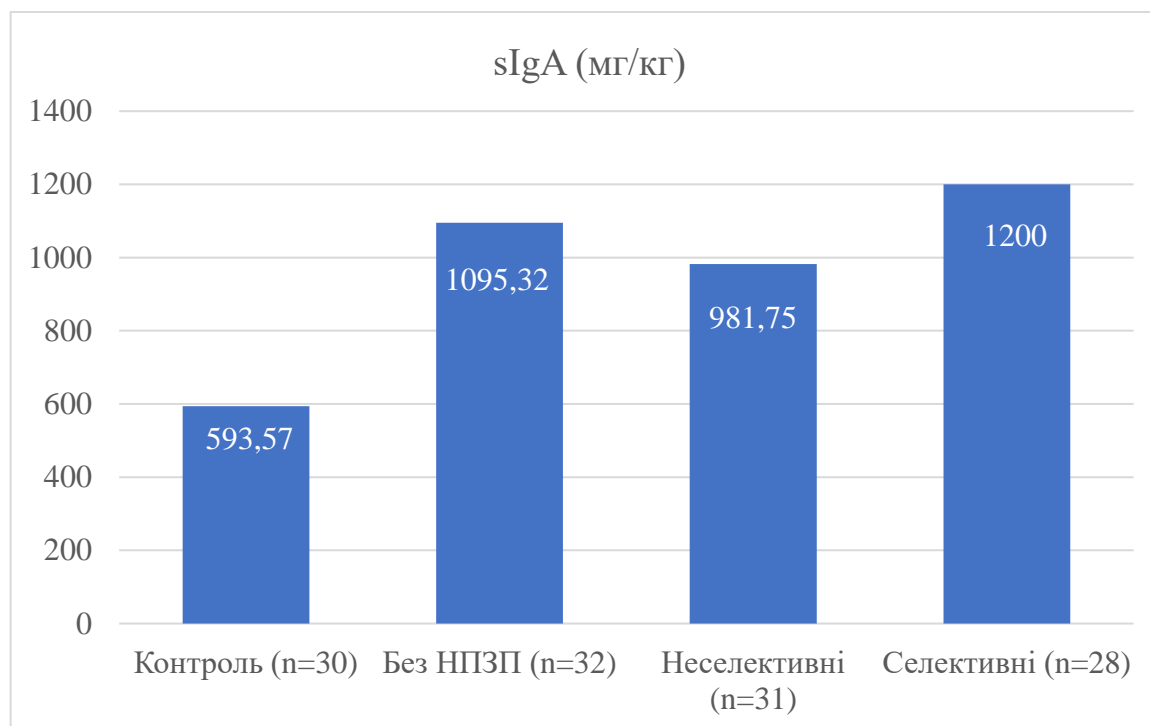


Рис. 5.5. Рівень фекального sIgA (мг/кг) у підгрупах хворих на ОА залежно від прийому НПЗП та осіб контрольної групи ($p>0,05$).

У пацієнтів з ОА, які не приймали НПЗП, рівень фекального sIgA склав 1095,32 (IQR 870,61-1360,03) мг/кг, у тих, хто приймав неселективні НПЗП – 981,75 (IQR 930,36-1498,51) мг/кг, а у тих, хто приймав селективні – 1200,28 (IQR 952,58-1549,32), але у жодній підгрупі різниця не досягла рівня статистичної значущості з групою контролю ($p>0,05$). Між собою підгрупи також не відрізнялися за цим показником ($p>0,1$).

Також, ми проаналізували частоту виявлення зміненого рівня фекального sIgA у підгрупах хворих. Згідно рекомендацій виробника реактивів, рівень менший за 100 мг/кг вважався зниженим, вищий за 1200 мг/кг – підвищеним. Отримані результати представлені на рис. 5.6.

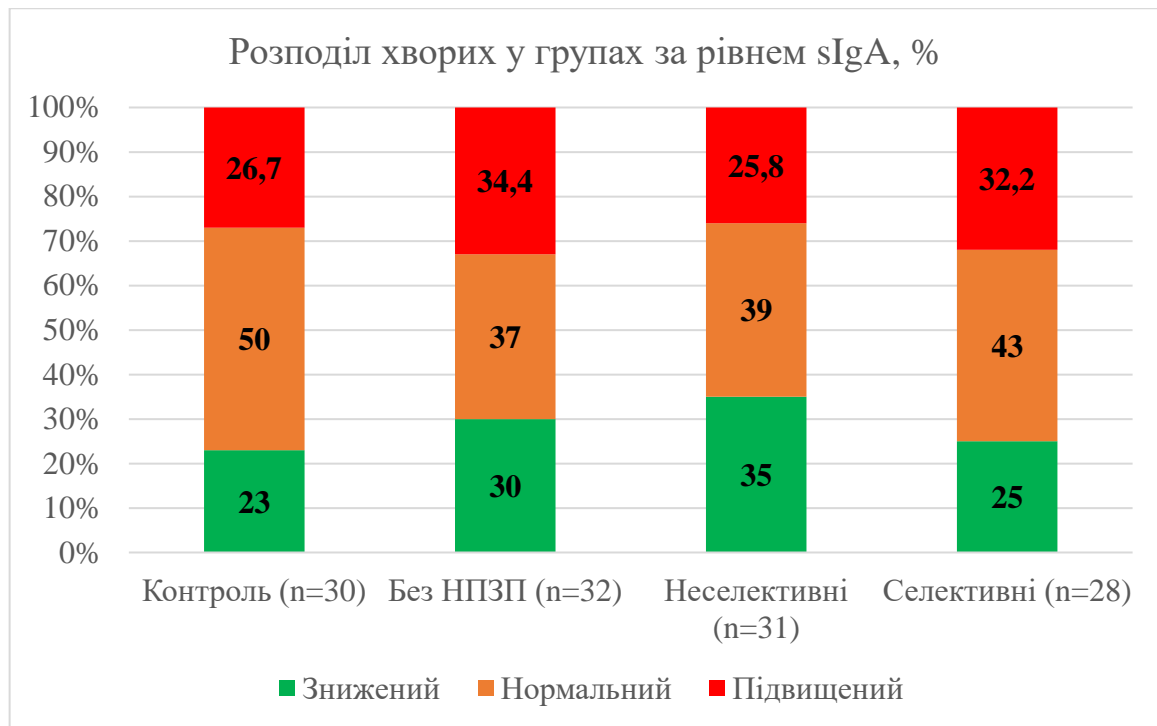


Рис. 5.6. Розподіл хворих у підгрупах (%) за рівнем фекального sIgA ($p > 0,05$).

Як видно з наведених на рисунку даних, різниця між підгрупами пацієнтів з ОА та контрольною групою відсутня. Також, нами не знайдено різниці між підгрупами за НПВП (всюди $p > 0,1$).

РОЗДІЛ 6.

ЗВ'ЯЗОК МІЖ ПРИЙОМОМ НПЗП РІЗНОГО СТУПЕНЯ
СЕЛЕКТИВНОСТІ ТА СКЛАДОМ ФЕКАЛЬНОГО МІКРОБІОМУ6.1. *Firmicutes*

Як і при порівнянні хворих на ОА та осіб групи контролю, спершу ми проаналізували фекальний вміст типу *Firmicutes* у підгрупах тих, хто не приймав НПЗП, тих, хто приймав неселективні НПЗП та тих, хто приймав селективні НПЗП. Результати наведені на рис. 6.1.

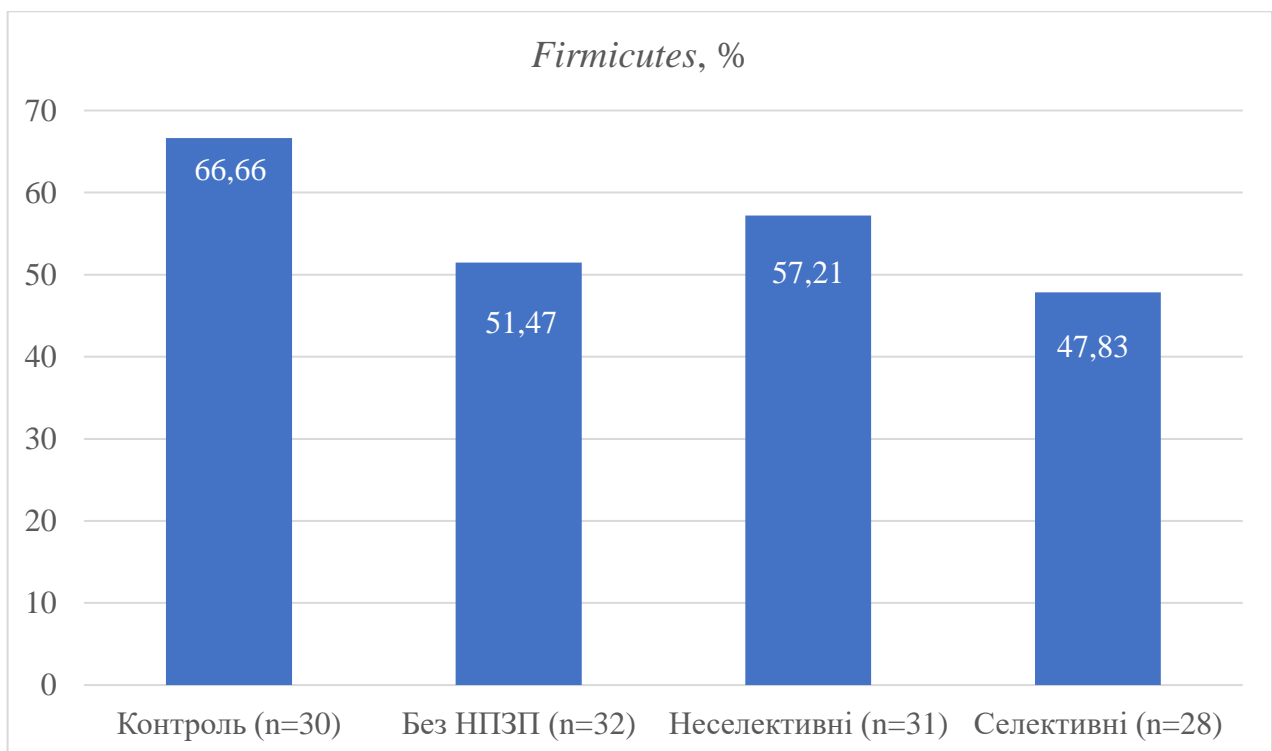


Рис. 6.1. Фекальний вміст *Firmicutes* у підгруп хворих на ОА та у контрольній групі.

Примітки: * – $p < 0,0001$ у порівнянні з контролем; # – $p < 0,05$ у порівнянні з контролем; \$ – $p < 0,0001$ у порівнянні з підгрупою неселективних НПЗП.

Як бачимо з рисунку, у хворих, які не приймали НПЗП, фекальний вміст *Firmicutes* був достовірно ($p < 0,0001$), майже на третину нижчим за такий у контрольній групі, і складав 51,47% (IQR 48,11-56,21).

У підгрупі пацієнтів, які приймали неселективні НПЗП, фекальний вміст *Firmicutes* склав 57,21% (IQR 49,98-69,05), що достовірно, у 1,17 рази нижче за такий у контрольній групі ($p=0,03$), але не відрізняється від їх вмісту у підгрупі хворих, які не приймали НПЗП ($p>0,05$).

У третій підгрупі пацієнтів, які приймали неселективні НПЗП, фекальний вміст *Firmicutes* склав 47,83% (IQR 32,24-52,92), і був достовірно ($p<0,0001$) в 1,4 рази нижчим за такий у контрольній групі, а, також, майже в 1,2 рази нижчим за такий у підгрупі неселективних НПЗП ($p=0,002$). Ми не знайшли достовірної різниці даної підгрупи з підгрупою «без НПЗП» за цим показником ($p>0,05$).

При проведенні кореляційного аналізу нами знайдено негативну кореляцію між фекальним вмістом *Firmicutes* та рентгенологічною стадією ОА (коефіцієнт кореляції Спірмена $\rho=-0,521$) та позитивну – з рівнем фекального Нв-Нр комплексу ($\rho=0,371$), $p<0,05$. Нами не знайдено кореляції між фекальним вмістом *Firmicutes* та рівнем ФКП, SIgA, віком, ІМТ, вираженістю болю за ВАШ, з індексом Лекена, ступенем ФНС та тривалістю прийому НПЗП ($p>0,05$).

6.2. *Bacteroidetes*

Фекальний вміст *Bacteroidetes* у хворих на ОА залежно від прийому ними НПЗП представлено на наступному рис. (6.2). Як бачимо, у хворих, які не приймали НПЗП, вміст цього типу мікроорганізму склав 15,08% (8,03-29,21), що у 2,5 рази перевищувало рівень в контрольній групі ($p<0,0001$).

Серед тих, хто приймав неселективні НПЗП, вміст у калі *Bacteroidetes* складав 18,04% (IQR 9,36-17,75), достовірно, втричі, перевищуючи вміст цього типу бактерій у контрольній групі ($p<0,0001$), і не відрізняючись достовірно від його вмісту у першій підгрупі хворих на ОА ($p>0,05$).

У підгрупі хворих, які приймали селективні НПЗП, вміст *Bacteroidetes* склав 13,50% (IQR 9,24-17,75), що достовірно, вдвічі, перевищував їх вміст у

контрольній групі ($p < 0,0001$), і достовірно не відрізнялося від такого в інших підгрупах хворих на ОА ($p > 0,05$).

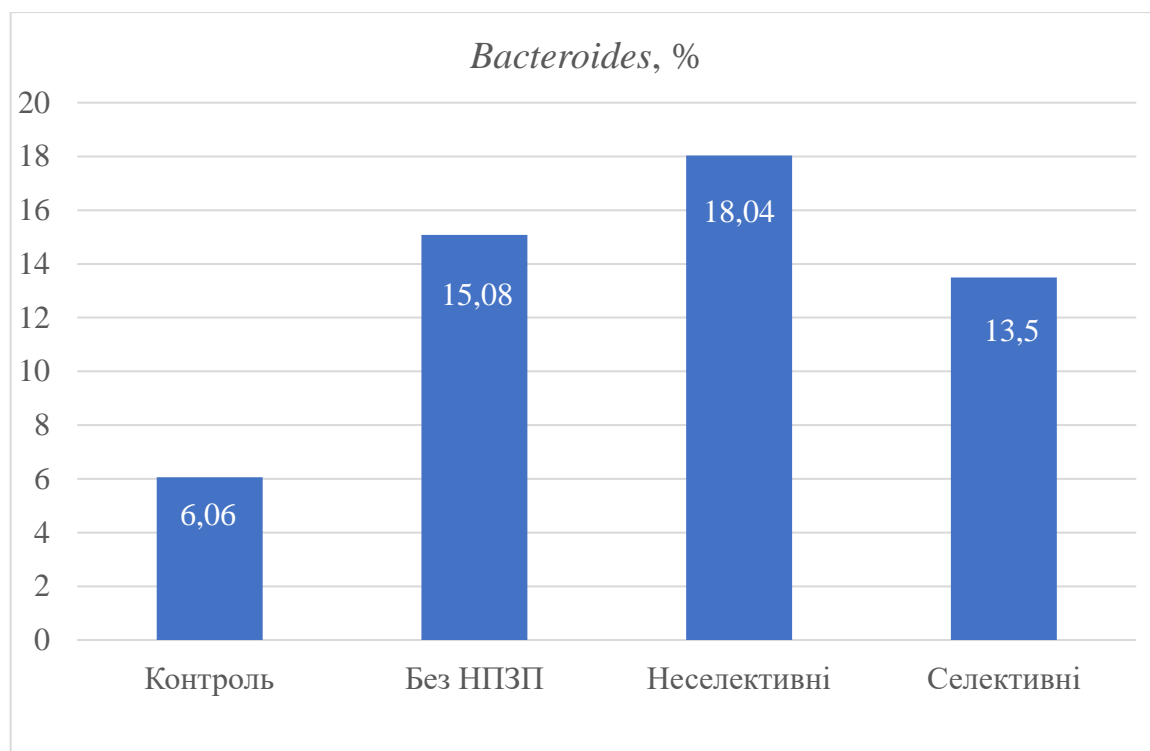


Рис. 6.2. Фекальний вміст *Bacteroidetes* у підгрупах хворих на ОА та у контрольній групі.

Примітка. * – $p < 0,0001$ у порівнянні з контролем.

Кореляційний аналіз показав наявність негативного зв'язку між фекальним вмістом *Bacteroidetes* та Нв/Нр-комплексу ($\rho = -0,462$; $p < 0,05$). зв'язку з іншими вивченими нами показниками (рівнем ФКП, SIgA, віком, ІМТ, вираженістю болю за ВАШ, з індексом Лекена, рентгенологічною стадією ОА, ступенем ФНС та тривалістю прийому НПЗП ми не знайшли ($p > 0,05$).

6.3. Співвідношення *F/B*

При аналізі підгруп хворих на ОА, нами були отримані наступні значення співвідношення *F/B* (рис. 6.3).

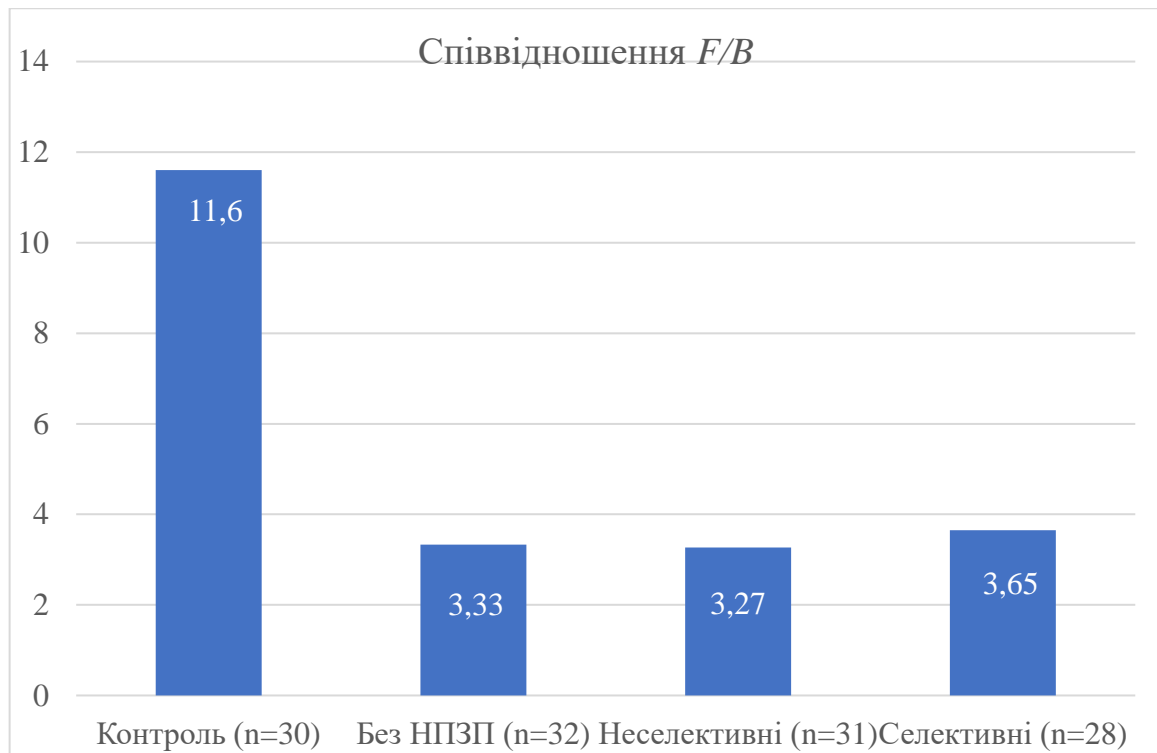


Рис. 6.3. Фекальне співвідношення F/B у підгрупах хворих на ОА та у контрольній групі.

Примітка. * – $p < 0,0001$ у порівнянні з контролем.

Як видно з рисунку, у підгрупі хворих на ОА, які не приймали НПЗП, фекальне співвідношення F/B складало 3,33 (IQR 1,79-6,74), що є майже у 3,5 рази нижчим за таке у контрольній групі ($p < 0,0001$).

В другій підгрупі хворих, які приймали неселективні НПЗП, фекальне співвідношення F/B склало 3,27 (IQR 2,65-5,25), що є в 3,5 рази нижчим за таке у контрольній групі ($p < 0,0001$) і не відрізняється достовірно від такого у підгрупі тих, хто не приймали НПЗП ($p > 0,05$).

У третій підгрупі пацієнтів з ОА, які приймали селективні НПЗП, фекальне співвідношення F/B склало 3,65 (IQR 1,63-4,84), що також є достовірно нижчим за це співвідношення у контрольній групі ($p < 0,0001$), але не відрізняється від нього у підгрупах хворих, які не приймали НПЗП та тих, які приймали неселективні НПЗП ($p > 0,05$).

При кореляційному аналізі нами було знайдено позитивний зв'язок між співвідношенням F/B та рівнем фекального Нв/Нр-компексу ($\rho = 0,463$; $p < 0,05$),

з ІМТ ($\rho=0,455$; $p<0,05$), а також з віком хворих ($\rho=0,562$; $p<0,05$), з іншими вивченими нами показниками кореляційного зв'язку знайдено не було ($p>0,05$).

6.4. *Actinobacteria*

При порівнянні фекального вмісту *Actinobacteria* у хворих на ОА залежно від прийому НПЗП ми отримали наступні результати (рис. 6.4).

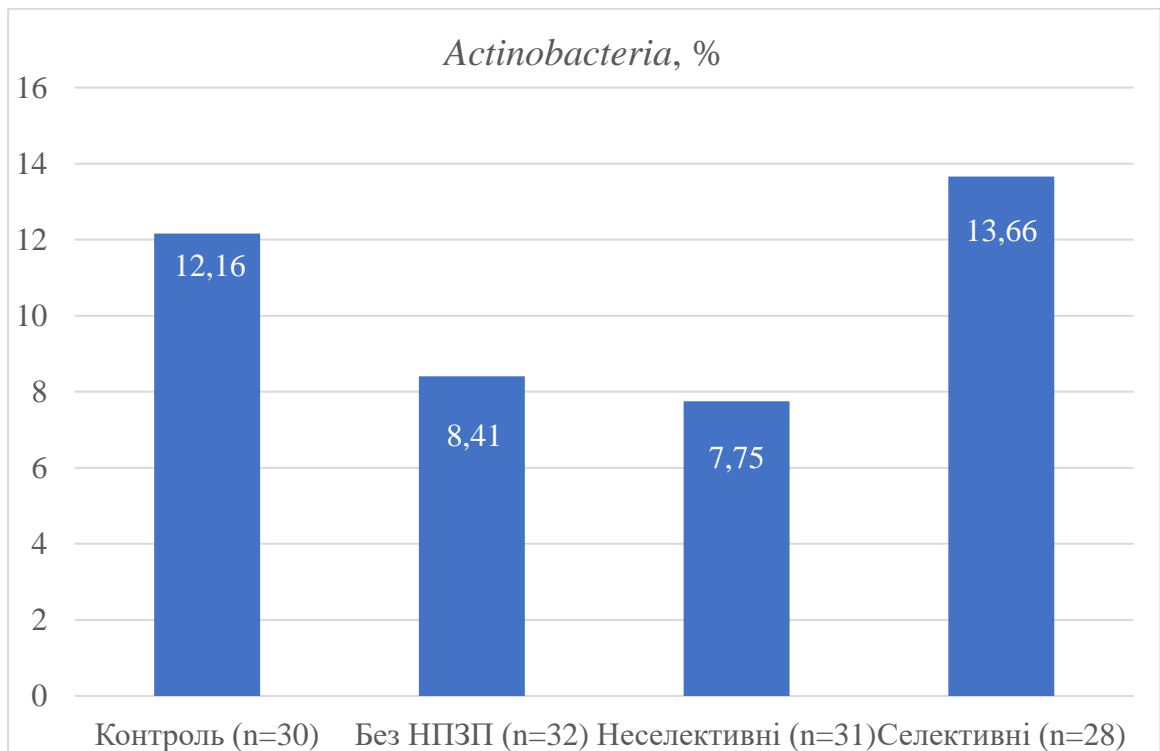


Рис. 6.4. Фекальний вміст *Actinobacteria* у підгрупах хворих на ОА і у контрольній групі.

Примітки: * – $p<0,01$ у порівнянні з контролем; # – $p<0,0001$ у порівнянні з підгрупами без НПЗП та неселективних НПЗП.

У хворих на ОА, які не приймали НПЗП, фекальний вміст *Actinobacteria* складав 8,41% (IQR 5,59-10,02), що достовірно, майже на третину, нижче, ніж у контрольній групі ($p=0,008$).

Хворі, які приймали неселективні НПЗП, мали нижчий у 1,4 рази фекальний вміст *Actinobacteria* – 7,75% (IQR 5,51-10,56) – ніж представники контрольної групи ($p=0,003$), хоча достовірно не відрізнявся від такого у підгрупі без НПЗП ($p>0,05$).

У третій підгрупі – тих, хто приймав селективні НПЗП – фекальний вміст *Actinobacteria* складав 13,66% (IQR 13,26-14,56), що виявилось достовірно, в 1,4 рази, вищим за рівень у хворих на ОА, які не приймали НПЗП та які приймали неселективні НПЗП ($p < 0,0001$).

Кореляційний аналіз показав, що між фекальним вмістом *Actinobacteria* та віком хворих існує негативний зв'язок ($\rho = -0,300$; $p < 0,05$). З іншими вивченими показниками достовірний зв'язок відсутній ($p > 0,05$).

6.5. «Інші»

Залежно від прийому НПЗП вміст «інших» мікроорганізмів у калі хворих на ОА розділився наступним чином (рис. 6.5).

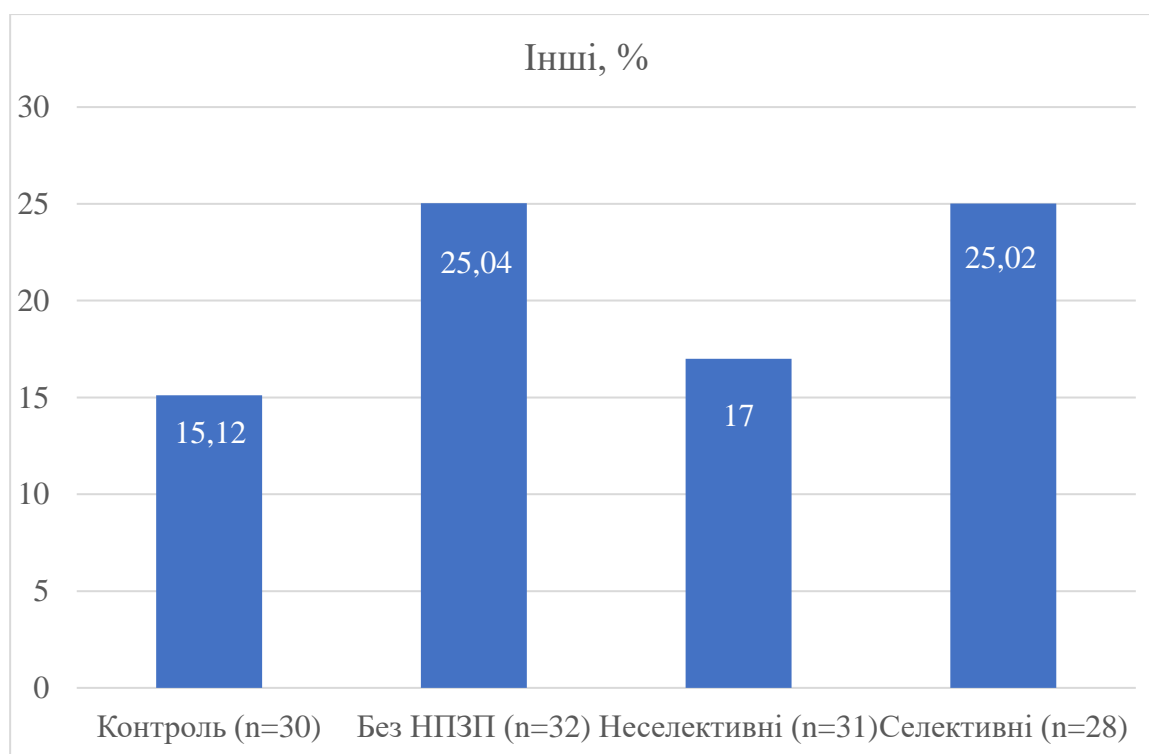


Рис. 6.5. Фекальний вміст «інших» мікроорганізмів у підгруп хворих на ОА та у контрольній групі.

Примітки: * – $p < 0,001$ у порівнянні з контролем; # – $p < 0,005$ у порівнянні з підгрупою без НПЗП.

У хворих на ОА, які не приймали НПЗП, вміст «інших» мікроорганізмів склав 25,04% (IQR 19,51-34,48), що достовірно, у 1,7 рази, перевищило такий у контрольній групі ($p < 0,0001$).

У хворих, які приймали неселективні НПЗП, фекальний вміст «інших» мікроорганізмів склав 17,00% (IQR 12,54-25,69), що достовірно, у 1,5 рази, було нижчим за такий у підгрупі тих, хто не приймав НПЗП ($p = 0,03$) та не відрізнялося від такого у контрольній підгрупі ($p > 0,05$).

У хворих на ОА, які приймали селективні НПЗП, фекальний вміст «інших» мікроорганізмів склав 25,02% (IQR 12,85-36,16), що достовірно, у 1,7 рази, перевищило такий у контрольній групі ($p = 0,009$) і не відрізнялося від такого у підгрупах тих, хто не приймав НПЗП та тих, хто приймав неселективні НПЗП ($p > 0,05$).

При кореляційному аналізі знайдено позитивний зв'язок фекального вмісту «інших» мікроорганізмів з рентгенологічною стадією ОА ($\rho = 0,562$; $p < 0,05$) та з ІМТ ($\rho = 0,316$; $p < 0,05$). З іншими дослідженими нами показниками зв'язку не знайдено ($p > 0,05$).

6.6. *Gamma-proteobacteria*

Як уже зазначалося вище, до групи «інших» мікроорганізмів потрапили як переважно патогенні або умовно-патогенні бактерії типу *Proteobacteria*, у тому числі *Gamma-proteobacteria*, так і мікроорганізми з ентеропротективними властивостями, типу *Verrucomicrobia*– виду *Akkermansia muciniphila*.

При вивченні фекального вмісту бактерій класу *Gamma-proteobacteria* у хворих на ОА, які приймають НПЗП різного ступеня селективності, і у тих, хто не приймає НПЗП, нами отримано наступні результати (рис. 6.6).

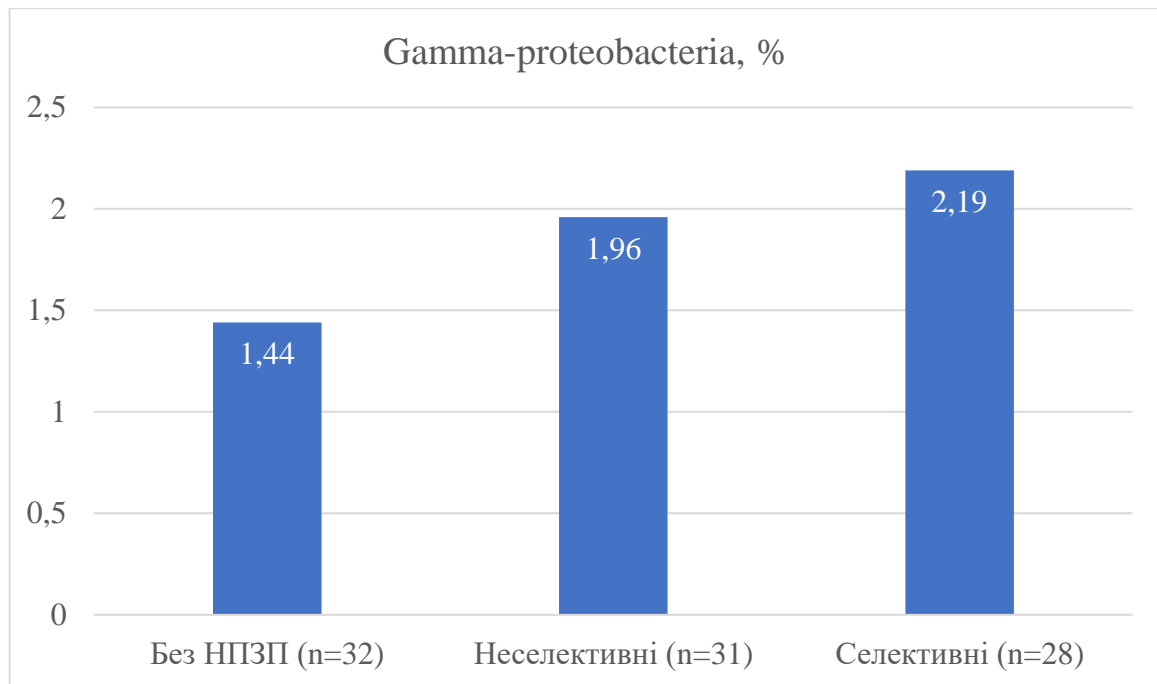


Рис. 6.6. Фекальний вміст *Gamma-proteobacteria* (у %) у підгрупах хворих на ОА.

Примітка. * – $p < 0,01$ у порівнянні з контролем.

Нами встановлено, що у хворих на ОА, які не приймають НПЗП, вміст *Gamma-proteobacteria* у калі склав 1,44% (IQR 0,81-2,03). У хворих, які отримували неселективні НПЗП, цей показник склав 1,96% (IQR 1,52-2,57), що у 1,36 рази вище, ніж у тих, хто не приймав НПЗП ($p=0,008$). У підгрупі тих, хто приймав селективні НПЗП, вміст цього класу мікроорганізмів досягав 2,19% (IQR 1,08-2,51), але достовірно не відрізнявся від такого у інших підгрупах ($p > 0,05$).

При проведенні кореляційного аналізу знайдено позитивний зв'язок між фекальним вмістом *Gamma-proteobacteria* та рентгенологічною стадією ОА ($\rho=0,526$; $p < 0,05$), а, також, з ІМТ ($\rho=0,356$; $p < 0,05$). Відомо, що протеобактерії є одним з найдинамічніших типів КМ, вміст яких змінюється протягом життя, а, також, залежить від маси тіла та характеру харчування [163].

6.7. *Akkermansia muciniphila*

На наступній діаграмі (рис. 6.7) наведено вміст одного з найважливіших протекторних видів кишкових мікроорганізмів – *Akkermansia muciniphila* – у підгрупах хворих на ОА.

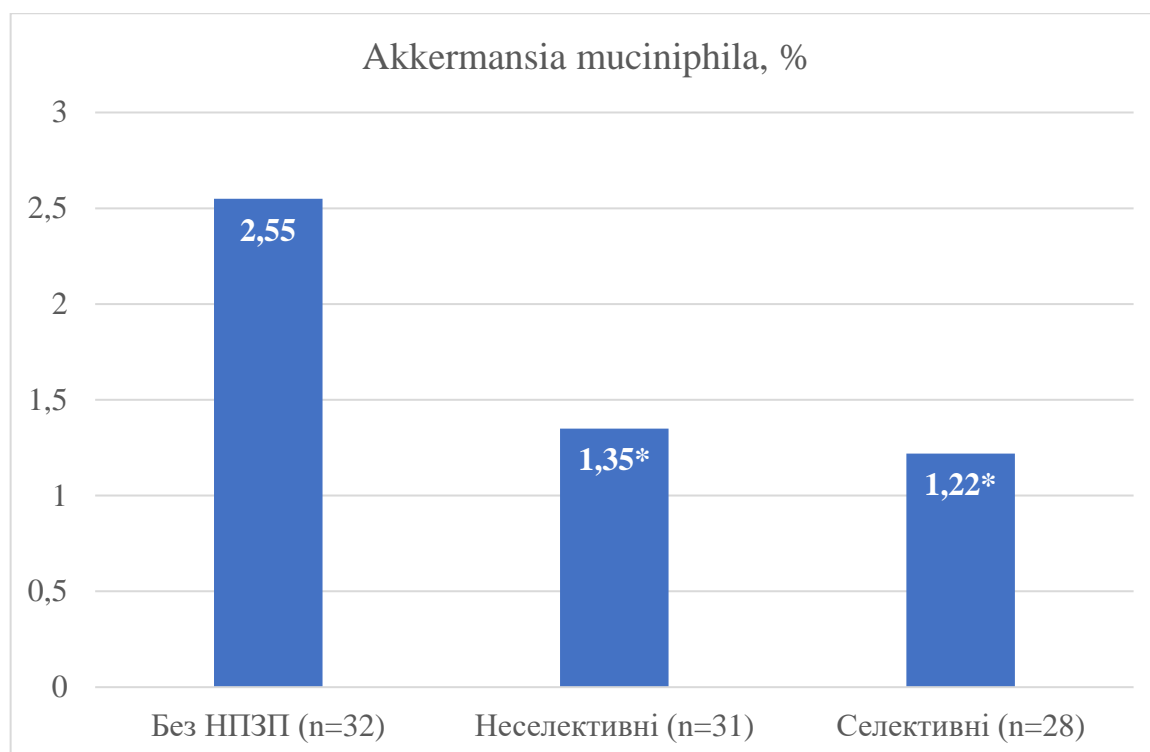


Рис. 6.7. Фекальний вміст *Akkermansia muciniphila* (у %) у підгруп хворих на ОА.

Примітка. * – $p < 0,001$ у порівнянні з контролем.

У підгрупі хворих на ОА, які не приймали НПЗП, фекальний вміст *Akkermansia muciniphila* складав 2,55% (IQR 1,63-4,30), у пацієнтів, які приймали неселективні НПЗП – 1,35% (IQR 1,20-1,64), що у 1,89 рази менше, ніж у першій підгрупі. У тих, хто приймав селективні НПЗП, цей показник склав 1,22% (IQR 0,99-1,50), що є достовірно, вдвічі, нижчим за такий у першій підгрупі ($p < 0,0001$) та не відрізняється від даного показника у підгрупі неселективних НПЗП ($p > 0,05$).

При кореляційному аналізі нами знайдено негативний зв'язок між фекальним вмістом *Akkermansia muciniphila* та рівнем ФКП ($\rho = -0,426$; $p < 0,05$), що, як вже зазначалося вище, відображає зв'язок між вмістом цієї бактерії та інтенсивністю запалення СО кишковика.

РОЗДІЛ 7. СТАТИСТИЧНА МОДЕЛЬ

Наостанок, ми вирішили перевірити можливість прогнозувати НПЗП-індуковане ураження кишковика у хворих на ОА на основі вивчених нами біомаркерів. Для цього ми використали метод логістичної регресії, проаналізувавши зв'язок даного ураження з рівнями ФКП, sIgA, фекального Нб/Нр-комплексу та вмістом *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, «інших» типів, а також з вмістом *Gamma-proteobacteria*, *Akkermansia muciniphila*, і, окремо, з співвідношенням *F/B*. Для відбору мінімального набору факторних ознак, пов'язаних з вихідною змінною було використано метод покрокового відкидання/включення змінних (інформаційний критерій Акаїке). Було виділено дві факторні ознаки, пов'язані з ризиком летального випадку: «ФКП» та «фекальний Нб/Нр-комплекс». На виділених факторних ознаках була побудована логістична модель прогнозування $AUC=0,872$ (95% ДІ 0,773 – 0,97), $p<0,05$, що є свідченням адекватності побудованої моделі. У таблиці 7.1 наведені результати оцінки коефіцієнтів моделі.

Таблиця 7.1

Коефіцієнти двофакторної моделі прогнозування ризику НПЗП-індукованого ураження кишковика у хворих на ОА

Показник	Значення коефіцієнту моделі, $b \pm m_b$	Рівень значимості відмінності коефіцієнту від 0, p	Показник ВШ (95% ДІ)
Const.	-2,1683±0,58	0,0002*	0,114 (0,037-0,354)
Нб/Нр-комплекс	0,2986±0,17	0,049*	1,350 (1,000-1,870)
ФКП	0,0083±0,003	0,003*	1,010 (1,000-1,010)

Примітка. * – $p<0,05$.

Отримана математична модель прогнозування ризику НПЗП-індукованого ураження кишковика може бути виражена формулою:

$$\ln\left(\frac{P}{1-P}\right) = -2,168 + 0,2986 \times (\text{Hb/Hp комплекс}) + 0,0083 \times \text{ФКП},$$

де P – ризик НПЗП-індукованого ураження кишковика.

Для визначення граничного значення $P_{\text{гр}}$ запропонованого тесту прогнозування ризику НПЗП-індукованого ураження кишковика у хворих на ОА та оцінки його прогностичних характеристик було використано метод побудови та аналізу кривої операційних характеристик.

На рис. 7.1 наведено ROC-криву моделі з визначенням оптимальної границі прийняття рішення.

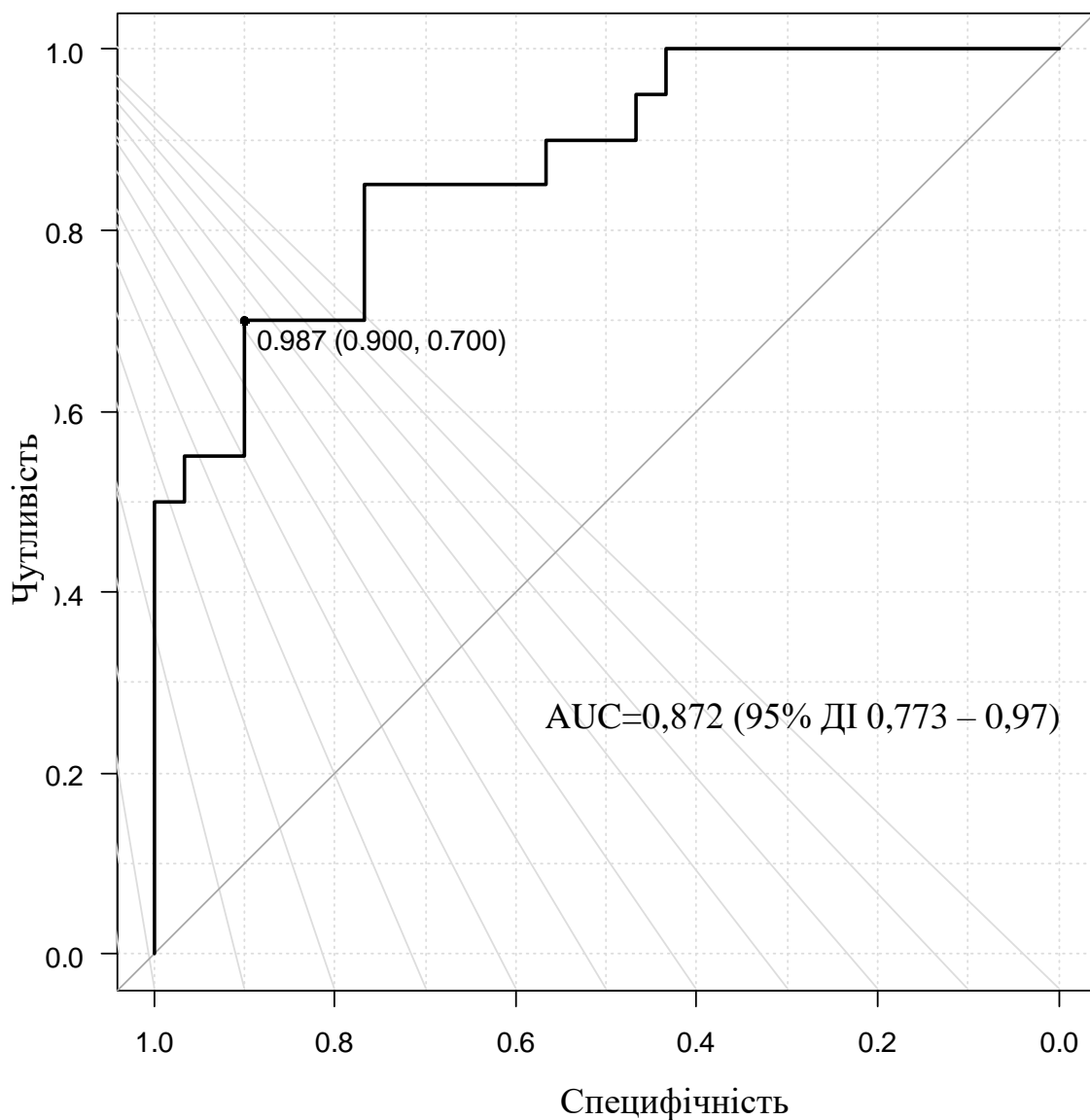


Рис. 7.1. ROC-крива тесту прогнозування ризику НПЗП-індукованого ураження кишковика у хворих на ОА.

Запропонований тест дозволяє прогнозувати ризик НПЗП-індукованого ураження кишковика $AUC=0,872$ (95% ДІ 0,773 – 0,97), статистично значимо ($p<0,05$) відрізняється від 0,5.

Оптимальна границя прийняття рішення склала $P_{гр.}=0,987$: для $P(\text{пацієнта}) \geq P_{гр.}$ – прогнозується ураження, для $P(\text{пацієнта}) < P_{гр.}$ – прогнозується відсутність ураження. При обраному порозі прийняття рішення чутливість тесту складає 65% (95% ДІ 40,8-84,6), специфічність тесту – 90% (95% ДІ 73,5-97,9), прогностичність позитивного результату тесту $PPV= 81,2\%$ (95% ДІ 54,4-96), прогностичність негативного результату тесту $NPV = 79,4\%$ (95% ДІ 62,1-91,3).

РОЗДІЛ 8.

АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

У зв'язку з частим застосуванням НПЗП у хворих на найпоширеніше захворювання опорно-рухового апарату – ОА, і частим розвитком ускладнень з боку нижніх відділів травного тракту як наслідок такого лікування, ми провели дослідження 91 пацієнта цієї категорії з використанням клінічних та лабораторних методів дослідження кишковика.

Ми набирали пацієнтів, які вже мали попереднє обстеження уражених суглобів тривалістю не більше як 1 рік та ендоскопічні обстеження травного тракту давністю не більше як 6 років. Діагностика ОА ґрунтувалася на діагностичних критеріях American College of Rheumatology [5–7] з урахуванням подальшої модифікації [8]. Об'єм діагностичних досліджень включав визначення вмісту фекального кальпротектину, секреторного імуноглобуліну А, а також основних типів кишкового мікробіому, класу *Gamma-proteobacteria* та бактерії виду *Akkermansia muciniphila* у калі. Ми визначили, що пацієнти, які вживали неселективні НПЗП, достовірно частіше вживали ІПП, ніж пацієнти інших підгруп (46,88% проти 25,8%, $p=0,026$). Нажаль, з етичних міркувань нам не вдалося позбутися цього конфаундера, оскільки ІПП призначаються хворим, які приймають неселективні НПЗП з метою профілактики серйозних ускладнень з боку верхніх відділів ШКТ. Однак, враховуючи відсутність достовірної різниці між частотою вживання ІПП між підгрупою селективних НПЗП та двома іншими підгрупами ($p>0,05$), і особливості змін КМ, знайдені у інших дослідженнях [164,165], ми вважаємо, що цей конфаундер не вплинув на кінцевий результат нашого дослідження. Варто зазначити, що результати, отримані на тваринних моделях, не можна механічно переносити на людину, у той час як значна частина досліджень з даної теми була проведена на лабораторних тваринах [166,167]. Навіть у пацієнтів, які не приймали НПЗП, ми іноді знаходили рівні ФКП дещо вищі за 50 мг/кг. Це незначне підвищення

може бути обумовлене тим, що рівень ФКП дещо змінюється з віком, і деякі дослідники навіть рекомендували для осіб, старших за 60 років, використовувати рівень у 112 мг/кг як пороговий [168]. Проте, через відсутність офіційних рекомендацій щодо використання різних порогових значень ФКП у різних вікових груп, ми при аналізі отриманих даних використовували рівень 50 мг/кг як пороговий для усіх пацієнтів.

Результати нашого дослідження вказують на значну розповсюдженість уражень кишкового у хворих на ОА, особливо на фоні прийому неселективних НПЗП. При цьому, в 2-й підгрупі пацієнтів, (які приймали неселективні НПЗП) достовірно частіше, ніж в першій підгрупі (які не приймали препаратів) відзначалися біль чи дискомфорт в епігастрії (OR=3,103, p=0,042), печія (OR=15,306, p=0,00002), нудота (OR=3,411, p=0,0499), здуття кишкового OR=4,063, p=0,0169), діарея (OR=5,765, p=0,0054), в той же час закреп в цій підгрупі зустрічався достовірно рідше (OR=0,187, p=0,004). При порівнянні третьої підгрупи хворих (які приймали селективні НПЗП) і першої (які не приймали НПЗП) не знайдено достовірних відмінностей за частотою розвитку симптоматики з боку верхніх і нижніх відділів ШКТ, хоча й відзначалася тенденція до більшої частоти виявлення нудоти і здуття живота. При порівнянні другої і третьої підгруп хворих, у другій підгрупі нами знайдена достовірно більша частота виникнення болю чи дискомфорту в епігастрії (OR=3,643, p=0,033), нудоти (OR=13,194, p=0,0001) і менша частота розвитку закрепу (OR=0,277, p=0,0494). Підгрупи хворих на ОА, розділені на підставі прийому НПЗП, були порівняні за віком, статевою приналежністю, локалізацією та кількістю уражених суглобів. Також, між ними були відсутні достовірні відмінності за частотою виявлення таких факторів ризику ОА, як надлишкова маса тіла чи ожиріння, травматизація суглобів, спадкова схильність. Розподіл за фенотипами ОА (маса тіла, вираженість болю, кількість залучених груп суглобів, максимальна тривалість болю) між групами теж виявився досить рівномірним, без достовірних відмінностей. Несподіваним для

нас виявилася відсутність достовірних відмінностей за інтенсивністю суглобових болів у пацієнтів, які приймають і які не приймають НПЗП, а також за індексом Лекена, хоча в другій підгрупі (неселективних НПЗП) недостовірно частіше зустрічалася 3-я і 4-та рентгенологічні стадії ураження суглобів. Також в першій підгрупі пацієнтів недостовірно частіше, ніж у хворих що приймали НПЗП, зустрічалися ранкові болі ($p > 0,05$). Об'єктивні ознаки артриту (біль, хрускіт і крепітація при русі) в підгрупах достовірно не розрізнялися ($p > 0,05$).

Нами виявлено, що у хворих на ОА достовірно більш часто відмічаються підвищені рівні ФКП, порівняно з учасниками контрольної групи. Серед них у пацієнтів, які не приймають НПЗП, більш часто було виявлено проміжний рівень його підвищення. Підгрупа тих, хто приймав селективні НПЗП, недостовірно частіше мала проміжні чи підвищені рівні ФКП ніж ті, хто не приймав НПЗП. Ми робимо висновок, що неселективні НПЗП значною мірою підвищують рівні ФКП; знайдений зв'язок такого підвищення з тривалістю прийому НПЗП, а також наявна асоціація з прийомом НПЗП та їх селективністю, вочевидь, відображає НПЗП-асоційоване ушкодження нижніх відділів ШКТ.

У хворих на ОА відмічається достовірно вищий рівень фекального Нв/Нр комплексу порівняно з особами контрольної групи, здебільшого за рахунок тих, хто приймав неселективні НПЗП. У той же час, нами знайдена позитивна кореляція даного показника з тривалістю прийому НПЗП та відсутність кореляції з віком. Отримані дані, з найбільшою ймовірністю, відображають частоту ушкодження СО кишковика внаслідок впливу НПЗП з розвитком мікроскопічних крововтрат. Що стосується підвищення даного біомаркера у хворих, які не приймали НПЗП, ми можемо припустити, що у даної категорії хворих, з наростанням тяжкості ураження суглобів частіше зустрічаються ушкодження кишковика, і Нв/Нр комплекс є маркером цього процесу. На користь цієї здогадки свідчить позитивна кореляція даного біомаркера з

індексом Лекена. Іншим потенційним поясненням може бути епізодичний, можливо, однократний, прийом цими хворими НПЗП, про який вони не згадали під час опитування.

Ми знайшли у хворих на ОА достовірне підвищення рівня фекального sIgA порівняно зі учасниками контрольної групи більш ніж на 80%. У той же час, нами не знайдено достовірної різниці у його рівні між підгрупами хворих, як тих, хто приймає, так і тих, хто не приймає НПЗП різного ступеня селективності, порівняно з обстеженими групи контролю. Хоча у хворих, які приймають селективні НПЗП, рівень фекального sIgA перевищував такий у осіб контрольної групи майже вдвічі, проте, різниця навіть між ними не досягла рівня статистичної значущості. Найбільш вірогідно, це може бути пов'язано як з недостатньою кількістю хворих, так і з різнонаправленим характером змін цього показника у різних хворих.

Додатково ми провели кореляційний аналіз між всіма трьома біомаркерами ураження кишковика. Знайдено позитивний кореляційний зв'язок між рівнями ФКП та фекального Hb/Hp комплексу ($r=0,446$, $p<0,05$). Ми не знайшли достовірної кореляції між рівнями фекального sIgA та рівнями ФКП чи фекального Hb/Hp комплексу ($p>0,05$).

Нами встановлено, що у хворих на ОА, порівняно з особами контрольної групи, виявилися підвищеними всі 3 з досліджених нами біомаркерів ушкодження кишковика: рівень ФКП у 7 разів перевищив такий у контрольній групі ($p<0,001$), рівень фекального Hb/Hp комплексу перевищив такий у 6,5 рази ($p=0,004$), а рівень фекального sIgA перевищив такий у обстеженими контрольної групи на 80% ($p=0,006$).

У хворих на ОА, які не приймали НПЗП, виявлено достовірне, у 2,3 рази, підвищення рівня ФКП ($p=0,008$), порівняно з контролем. За двома іншими

дослідженими нами показниками в цій підгрупі пацієнтів не відрізнялися достовірно від таких у групі контролю ($p > 0,05$). Також, нами показано, що у цій підгрупі хворих достовірно підвищується частота виявлення проміжного рівня ФКП (OR=4,92; 95%ДІ 1,273-23,965; $p = 0,0012$). У 21,9% хворих першої підгрупи нами знайдено підвищення рівня фекального Нб/Нр комплексу вище за пороговий, що не спостерігалось у групі контролю. В той же час, частота виявлення підвищеного чи зниженого рівня фекального sIgA у даній підгрупі достовірно не відрізнялася від контролю.

Найбільш виражені зміни були знайдені нами у підгрупі пацієнтів з ОА, які приймали НПЗП. Так, у них був визначений достовірно вищий рівень ФКП, більш як в 10 разів, ($p < 0,001$) порівняно з контрольною групою та в 3,7 рази ($p < 0,001$) порівняно з підгрупою тих, хто не приймав НПЗП. Рівень фекального Нб/Нр комплексу був достовірно підвищений як порівняно з учасниками контрольної групи, у 12 разів ($p = 0,0043$), так і з пацієнтами, які не приймали НПЗП, майже у 5 разів ($p = 0,043$). Проте, рівень фекального sIgA достовірно не відрізнявся у цій підгрупі від осіб групи контролю та тих, хто не приймав НПЗП ($p > 0,05$). У хворих, які приймали неселективні НПЗП, достовірно підвищувався ризик виявлення підвищеного рівня ФКП порівняно з тими, хто не приймав ці препарати (OR=9,3; 95%ДІ 2,427-45,569; $p = 0,0019$), проте рідше виявляється нормальний рівень (OR=0,196; 95%ДІ 0,04-0,75; $p < 0,001$); у цій же підгрупі порівняно з контролем підвищені значення ФКП спостерігалися достовірно частіше ($p < 0,0001$). Аналогічні зміни ми спостерігали і щодо частоти виявлення фекального Нб/Нр комплексу: у підгрупі тих, хто приймав неселективні НПЗП, підвищені значення цього показника зустрічалися достовірно частіше, ніж у групі контролю ($p < 0,001$) та ніж у підгрупі тих, хто не приймав НПЗП (OR=4,229; CI 1,288-15,289; $p = 0,0097$). При цьому, частота виявлення зміненого фекального sIgA у підгрупі тих, хто не приймав НПЗП, не продемонструвала статистичної значущості порівняно з попередніми підгрупами ($p > 0,05$).

Прийом селективних НПЗП супроводжувався значно менш вираженими змінами показників біохімічних маркерів ураження кишкового, ніж прийом неселективних препаратів. Так, рівень ФКП у підгрупі селективних НПЗП був вищим за такий у учасників контрольної групи у 4,1 рази ($p < 0,01$) та достовірно не відрізнявся від такого у підгрупі тих, хто не приймав НПЗП ($p > 0,05$); при цьому він виявився майже вдвічі нижчим за такий у підгрупі неселективних НПЗП ($p < 0,01$). У хворих підгрупі селективних НПЗП майже в 4 рази вищим за такий у контрольній групі виявився і рівень Нв/Нр комплексу ($p = 0,035$). Його рівень у підгрупі селективних НПЗП, на подоби до ФКП, достовірно не відрізнявся від такого у підгрупі тих, хто не приймав НПЗП ($p > 0,1$), та був у 3 рази нижче за такий у тих, хто приймав неселективні НПЗП ($p = 0,043$). Рівень фекального sIgA у підгрупі селективних НПЗП достовірно не відрізнявся від такого у групі контролю та інших підгрупах ОА ($p > 0,05$). У підгрупі хворих, які приймали селективні НПЗП, у 21,4% знаходили підвищений рівень ФКП, який не зустрічався у осіб контрольної групи, у той час як частота його виявлення не відрізнялася достовірно від такої у підгрупі хворих, що не приймали НПЗП ($p > 0,1$). У 28,6% хворих підгрупі селективних НПЗП ми знайшли підвищений рівень фекального Нв/Нр комплексу; такий рівень не виявлявся у групі контролю. У той же час, достовірна різниця між частотою його виявлення порівняно з іншими підгрупами хворих на ОА була відсутня. Ми також не знайшли відмінності між даною підгрупою та іншими підгрупами хворих на ОА або контрольною групою за частотою виявлення змін у вмісті фекального sIgA ($p > 0,1$). Таким чином, підвищені рівня sIgA у хворих на ОА порівняно з групою контролю, все одно не досягає порогових значень, і тому не впливає на частоту підвищення його рівнів.

Аналізуючи отримані результати, можна зробити висновок про те, що хворі на ОА мають ушкодження СО кишкової стінки, яке супроводжується підвищенням рівнів ФКП, Нв/Нр комплексу та sIgA. Однак, лише рівень ФКП є достовірно підвищеним у хворих на ОА, які не приймають НПЗП, порівняно з

рівнем у осіб контрольної групи, і має достовірну кореляцію з такими ознаками ОА, як суглобовий біль, рентгенологічні зміни суглобів, ФНС та індекс Лекена. Підвищення рівня фекального Нв/Нр комплексу у хворих на ОА, які не приймали НПЗП, порівняно з контролем виявилися недостовірними, хоча й виявлена кореляція цього показника з індексом Лекена; достовірним виявилось підвищення Нв/Нр комплексу у тих, хто приймав неселективні НПЗП, над тими, хто не приймав їх. Виходить, фекальний Нв/Нр комплекс є чутливим до прийому НПЗП, проте не до захворювання на ОА. Таким чином, лише рівень ФКП може служити додатковим діагностичним маркером щодо ОА. Що стосується НПЗП-індукованого ураження, ФКП та фекальний Нв/Нр комплекс є маркерами такого ураження і корелюють між собою та з тривалістю прийому НПЗП, і залежать від селективності НПЗП, а, отже, можуть бути додатковим діагностичним маркером щодо діагностики даних станів. Нв/Нр комплекс може ефективно доповнювати ФКП, разом з ним означаючи більш глибоке ураження СО. В той же час, sIgA більшою мірою відображає рівень захищеності СО кишкового та потребує вивчення його зв'язку з КМ. Він виявився непридатним для діагностики НПЗП індукованих уражень кишкового.

Виявлено, що у хворих на ОА по відношенню до групи контролю спостерігаються достовірні зміни КМ: зниження вмісту *Firmicutes* 51,80% (IQR 45,37-58,64) порівняно з 66,66% (IQR 58,57-73,66), $p < 0,0001$, підвищення вмісту *Bacteroidetes* з 15,08% (8,03-29,21) порівняно з 6,06% (IQR 3,23-8,57), $p < 0,0001$, та, відповідно, майже 3-кратне зниження співвідношення *F/B*: 3,32 (IQR 2,18-5,47) порівняно з 11,60 (IQR 6,56-20,76), $p < 0,0001$. Отримані нами дані співпадають з результатами невеликого корейського дослідження, де у хворих на ОА у калі було знайдено зниження вмісту *Firmicutes*, підвищення *Bacteroidetes* та, відповідно, зниження співвідношення *F/B* [160].

Також, нами знайдено менш виражене зниження вмісту *Actinobacteria* (9,99 (IQR 6,55-13,61) порівняно з 12,16% (IQR 8,09-16,54), $p = 0,017$) та

підвищення вмісту «інших» мікроорганізмів (22,33% (IQR 13,39-33,95) порівняно з 15,12% (IQR 12,10-19,57), $p=0,002$). Підсумовуючи отримані результати, можна сказати, що у хворих на ОА у калі спостерігається достовірно нижчий вміст представників *Firmicutes* та *Actinobacteria*, а представників *Bacteroidetes*, та «інших» мікроорганізмів – достовірно вищий; найбільша різниця знайдена за співвідношенням *F/B*. Однак такі зміни КМ можуть бути викликані прийомом НПЗП, тому ми порівняли підгрупу хворих, які не приймали НПЗП із контрольною групою. У цих пацієнтів також достовірно нижчим є фекальний вміст *Firmicutes* та *Actinobacteria* (майже на третину, $p<0,0001$ та $p<0,01$ відповідно), а *Bacteroidetes* та «інших» мікроорганізмів – достовірно вищим (у 2,5 рази та 1,7 рази, $p<0,0001$, відповідно), ніж у контрольній групі. Відповідно, фекальне співвідношення *F/B* у цій підгрупі виявилося у 3,5 рази нижчим за таке у контрольній групі, $p<0,0001$.

Прийом НПЗП може призводити до змін КМ, тому ми співставили його склад у підгрупах хворих за прийомом ними НПЗП та його селективністю. Виявилося, що у підгрупі тих, хто приймав неселективні НПЗП вміст *Firmicutes*, *Bacteroidetes* та їх співвідношення, вміст *Actinobacteria* не відрізнявся достовірно від такого у підгрупі хворих, які не приймали НПЗП, $p>0,05$. Проте, вміст «іншої» флори у хворих підгрупи неселективних НПЗП виявився у 1,5 рази нижчим, ніж у підгрупі без НПЗП ($p=0,03$) та не відрізнявся від такого у групі контролю ($p>0,05$). Також, ця підгрупа відзначалася від підгрупи без НПЗП у 1,36 рази вищим вмістом *Gamma-proteobacteria* ($p<0,01$) та у 1,89 рази нижчим вмістом *Akkermansia muciniphila* ($p<0,001$). У підгрупі тих хворих, які приймали селективні НПЗП, відмічалися вміст *Firmicutes* майже в 1,2 рази нижчий за такий у хворих, які приймали неселективні НПЗП ($p=0,002$), і вміст *Actinobacteria* в 1,4 рази вищий за такий у підгруп без НПЗП та неселективних НПЗП, ($p<0,0001$). Варто зазначити, що вміст *Bacteroidetes* та співвідношення *F/B* у них не відрізнявся ані від підгрупи без НПЗП, ані від

підгрупи неселективних НПЗП ($p > 0,05$). Також, дана підгрупа відрізнялася від підгрупи без НПЗП вдвічі нижчим вмістом *Akkermansia muciniphila* ($p < 0,001$).

Таким чином, між підгрупою хворих, які приймали неселективні НПЗП і підгрупою тих, хто не приймав НПЗП, існує достовірна різниця лише за вмістом «інших» мікроорганізмів. Причому, у межах цієї категорії знайдено достовірне підвищення вмісту *Gamma-proteobacteria* та зниження *Akkermansia muciniphila*. У підгрупі тих, хто приймав селективні НПЗП, достовірна різниця з тими, хто не приймав НПЗП знайдена лише за вмістом типу *Actinobacteria* та виду *Akkermansia muciniphila*. Дані зміни можуть відображати зміщення мікробіому в бік потенційно патогенних мікроорганізмів на фоні прийому НПЗП.

Наступним кроком, ми вирішили проаналізувати різницю між КМ у пацієнтів з підвищеними та з нормальними показниками біомаркерів кишкового запалення. Виявилось, що для пацієнтів з показниками ФКП, які перевищували 50 мг/кг (проміжний та підвищений рівні) був характерним значно, на 3 порядки, нижчий вміст *Akkermansia muciniphila* 0,0021% (IQR 0-0,5407) проти 3,4127% (IQR 0,0337-4,3502), $p = 0,031$; інші представники не показали достовірної різниці ($p > 0,05$). У пацієнтів, з підвищеним (> 2 мг/кг) рівнем фекального Нв/Нр-комплексу спостерігався в 2,4 рази нижчий вміст *Bacteroidetes* (8,03 (IQR 7,36-12,86) проти 18,95 (IQR 11,63-25,27), $p = 0,007$) та в 2,5 рази вище співвідношення *F/B* (7,69 (IQR 5,47-9,33) проти 3,13 (IQR 1,79-5,16), $p = 0,009$), ніж у хворих з нормальним його рівнем; незважаючи на тенденцію до підвищення вмісту *Firmicutes* та зниження *Akkermansia muciniphila*, різниця у їх вмісті не досягла статистично значущого рівня ($p = 0,111$ і $p = 0,0586$ відповідно), найімовірніше, через недостатню для виявлення значущої різниці кількість таких пацієнтів. Також ми проаналізували різницю у мікрофлорі пацієнтами з одночасним підвищенням рівня ФКП вище за 50 мг/кг та фекального Нв/Нр-комплексу вищим за 2 мг/кг та особами, у яких обидва показника були нормальними. На фоні підвищених показників

спостерігалися достовірно, більш ніж вдвічі, знижений вміст *Bacteroidetes* – 8,06 (IQR 7,36-12,97) проти 18,95 (IQR 13,96-23,14), $p=0,004$ та достовірно, у 2,3 рази, підвищене співвідношення *F/B* – 7,1 (IQR 5,396-10,02) проти 3,13 (IQR 1,99-4,56), $p=0,007$. Також, при даному порівнянні, мали місце тенденції до підвищення вмісту *Firmicutes*, *Gamma-proteobacteria* та зниженню *Akkermansia muciniphila*, які не досягли порогу статистичної значущості (відповідно, $p=0,063$; $p=0,183$ і $p=0,137$). Ми припускаємо, що різниця виявилася недостатньо великою для виявлення на нечисленній підгрупі пацієнтів, яку ми отримали, вибравши пацієнтів з обома підвищеними біомаркерами, і, на більш численній вибірці, різниця могла б бути знайденою. Ми вирішили перевірити ці ж показники при більш суворих критеріях: підвищення рівня ФКП більш за 200 мг/кг при підвищеному рівні фекального Нб/Нр-комплексу більш за 2 мг/кг. Виявилось, що і при цьому збереглися достовірно зниження (у 2,5 рази) вмісту *Bacteroidetes* – 8,28 (IQR 7,89-13,96) проти 20,57 (IQR 16,99-23,07), $p=0,012$, та підвищення у 2,4 рази співвідношення *F/B* – 7,10 (IQR 4,55-9,29) проти 2,93 (IQR 2,14-3,65), $p=0,033$, що вказує на не випадковість і системність цих змін на фоні підвищення рівня фекальних біомаркерів запалення. Таким чином, у пацієнтів з ушкодженням кишковика на фоні прийому НПЗП знайдено зниження вмісту *Bacteroidetes* та *Akkermansia muciniphila* і підвищення співвідношення *F/B*.

Ми знайшли позитивну кореляцію середньої сили між рівнями ФКП та фекальним Нб/Нр-комплексом $r=0,446$, $p<0,05$. Це підтверджує попередні дані щодо можливих маркерів ураження кишковика внаслідок впливу НПЗП, і характеризує ушкодження СО, які, з одного боку, є ділянками місцевого запалення, з іншого – часто характеризуються хронічною крововтратою. Також, ФКП позитивно корелював з віком, що, саме по собі, також є відомим науковим фактом, з вираженістю болю, ступенем ФНС та рентгенологічною стадією ОА, індексом Лекена та з прийомом НПЗП; всі ці дані, на нашу думку, відображають залежність ФКП від прийому НПЗП. Фекальний Нб/Нр комплекс також позитивно корелював з індексом Лекена та з прийомом НПЗП.

Фекальний sIgA не корелював з жодним з показників запалення або представників КМ і виявився самостійним фекальним біомаркером, який, найвірогідніше, відображає неспецифічну імунну напруженість СО кишковика. Що стосується КМ, то тип *Firmicutes* негативно корелював з рентгенологічною стадією ОА та позитивно з – з рівнем фекального Нб-Нр комплексу, тип *Bacteroidetes* – негативно корелював з рівнем фекального Нб-Нр комплексу, відповідно, співвідношення *F/B* позитивно корелювало з рівнем фекального Нб-Нр комплексу, а також з ІМТ та віком хворих. Тип *Actinobacteria* негативно корелював з віком, а «інші» типи позитивно корелювали з рентгенологічною стадією ОА та з ІМТ, як і клас *Gamma-proteobacteria*, який в нього входив. А ось вид *Akkermansia muciniphila* проявив негативну кореляцію з рівнем ФКП (що ми вже бачили, порівнюючи вміст цього виду у хворих залежно від рівня ФКП).

Встановлено, що ризик НПЗП-індукованого ураження кишковика у хворих на ОА пов'язаний з рівнями ФКП та фекального Нб/Нр-комплексу. Встановлено, що з підвищенням рівня ФКП ризик НПЗП-індукованого ураження кишковика зростає ($p=0,003$), ВШ=1,010 (95% ДІ 1,000-1,010); з підвищенням рівня фекального Нб/Нр-комплексу ризик НПЗП-індукованого ураження кишковика зростає ($p=0,049$), ВШ=1,350 (95% ДІ 1,000-1,870). Нормалізація рівня ФКП після відміни НПЗП підтверджує природу цього ураження. При цьому, ми не виявили зв'язку ураження кишковика з рівнем фекального sIgA або з вмістом будь-якого представника КМ. Ці дані є логічним завершенням нашого дослідження. У той час, як фекальні маркери запалення дозволяють з високою ймовірністю прогнозувати наявність НПЗП-індукованого ураження кишковика, КМ може змінюватися під його впливом.

Таким чином, нами вивчено діагностичні можливості неінвазивних фекальних біомаркерів у хворих на ОА залежно від прийому ними НПЗП та селективності цих препаратів та встановлено можливість вірогідного прогнозування наявності НПЗП-індукованих уражень кишковика за показниками його неінвазивних біомаркерів.

ВИСНОВКИ

В дисертації наведено теоретичне узагальнення та набуло подальшого розвитку вирішення наукової задачі неінвазивної діагностики медикаментозних уражень кишкового у хворих на остеоартрит шляхом вивчення діагностичних можливостей фекальних біомаркерів таких ушкоджень.

1. У хворих на ОА виявлено достовірне підвищення ФКП (у 7 разів, $p < 0,001$), фекального Нб/Нр комплексу (у 6,5 разів, $p = 0,004$) та фекального sIgA (у 1,83 рази, $p = 0,006$), що свідчить про наявне запалення слизової оболонки кишкової стінки.

2. У хворих на ОА спостерігаються достовірно знижений вміст *Firmicutes* (у 1,29 разів, $p < 0,0001$) та *Actinobacteria* (у 1,2 рази, $p = 0,017$); підвищений вміст *Bacteroidetes* та «інших» мікроорганізмів (у 2,5 та 1,6 разів відповідно, $p < 0,01$); чотирикратне зниження співвідношення *F/B* ($p < 0,0001$). У хворих з підвищеним рівнем ФКП спостерігається знижений вміст *Akkermansia muciniphila*, а у хворих з підвищеним Нб/Нр комплексом – знижений вміст *Bacteroidetes* та підвищене співвідношення *F/B*.

3. Прийом неселективних НПЗП асоціюється з достовірно більш вираженим ушкодженням кишкового (що проявляється в 3,78 разів вищим рівнем ФКП та в 4,99 разів вищим рівнем фекального Нб/Нр комплексу за його значення у тих, хто не приймав НПЗП), яке зменшується після відміни НПЗП. Встановлено пряму кореляцію ФКП та Нб/Нр комплексу з тривалістю прийому НПЗП ($\rho = 0,455$ та $\rho = 0,463$, $p < 0,05$).

4. У пацієнтів, які приймали неселективні НПЗП спостерігався нижчий в 1,5 рази вміст «інших» мікроорганізмів, підвищений в 1,89 разів вміст *Gamma-proteobacteria* та знижений в 1,36 разів вміст *Akkermansia muciniphila*. У підгрупі селективних НПЗП були відсутні достовірні зміни рівнів фекальних біомаркерів у порівнянні з тими, хто не приймав НПЗП, та спостерігався підвищений вміст *Actinobacteria* (в 1,62 рази у порівнянні з таким у тих, хто не

приймав НПЗП і в 1,76 з таким у тих, хто приймав неселективні НПЗП) та виду *Akkermansia muciniphila* (в 2 рази нижче за рівень у тих, хто не приймав НПЗП).

5. Наявність ураження кишковика може бути визначена на основі рівнів ФКП та фекального комплексу Нв/Нр з прогностичністю позитивного результату 81,2% та прогностичністю негативного результату 79,4%.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Для діагностики НПЗП-індукованого ураження кишковика, всім хворим на ОА, які приймають НПЗП більш ніж 2 тижні (або при появі здуття і діареї незалежно від тривалості прийому), слід визначати рівень ФКП і фекального Нв/Нр комплексу.

2. У разі підвищення ФКП вище за 50 мг/кг та фекального Нв/Нр комплексу вище за 2 мг/кг слід замінити неселективні НПЗП на високоселективні, або на парацетамол та розглянути можливість відміни НПЗП.

3. Якщо підвищення маркерів ушкодження кишковика зберігається через 2 тижні після відміни НПЗП або переведення пацієнта на парацетамол, слід направити пацієнта на колоноскопію.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Briggs AM, Cross MJ, Hoy DG, Sánchez-Riera L, Blyth FM, Woolf AD, et al. Musculoskeletal Health Conditions Represent a Global Threat to Healthy Aging: A Report for the 2015 World Health Organization World Report on Ageing and Health. *Gerontologist*. 2016;56:S243–55.
2. EUMUSC. Musculoskeletal Health in Europe Report v5.0. *Eur Musculoskelet Heal Surveill Infomation Netw*. 2014;1–13.
3. Sostres C, Gargallo CJ, Lanás A. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and upper and lower gastrointestinal mucosal damage. *Arthritis Res Ther*. 2013;15:S3.
4. Ткач СМ, Кузенко ЮГ, Балабанцева АП. НПВП-індуцированніе поражения желудочно-кишечного тракта: прошлєе, настоящее, будущее: монография. Киев: ЧП Сердюк В.Л.; 2018. 184 р.
5. Altman R, Asch E, Bloch D, Bole G, Borenstein D, Brandt K, et al. Development of criteria for the classification and reporting of osteoarthritis: Classification of osteoarthritis of the knee. *Arthritis Rheum*. 1986;29:1039–49.
6. Altman R, Alarcon G, Appelrouth D, Bloch D, Borenstein D, Brandt K, et al. The American College of Rheumatology criteria for the classification and reporting of osteoarthritis of the hand. *Arthritis Rheum*. 1990;33:1601–10.
7. Altman R, Alarcón G, Appelrouth D, Bloch D, Borenstein D, Brandt K, et al. The American College of Rheumatology criteria for the classification and reporting of osteoarthritis of the hip. *Arthritis Rheum*. 1991;34:505–14.
8. Martel-Pelletier J, Maheu E, Pelletier J-P, Alekseeva L, Mkinsi O, Branco J, et al. A new decision tree for diagnosis of osteoarthritis in primary care: international consensus of experts. *Aging Clin Exp Res*. 2019;31:19–30.
9. Шуба НМ, Воронова ТД, Дубкова АГ, Хамбір ТС, Крилова АС, Гуленко ОІ. Сучасний погляд на патогенез остеоартрозу та вибір ефективних симптоматичних повільної дії протизапальних препаратів з погляду останніх рекомендацій. *Ліки України (Medicine Ukr)*. 2018;1:12–9.

10. Яременко ОБ, Коляденко ДІ. Остеоартроз у жінок: чи є відмінності? Огляд. *Med Sci Ukr.* 2019;15:93–100.
11. Яременко ОБ, Микитенко АМ. Мультиמודальний підхід к лечению болевого синдрома при остеоартрозе. *Український медичний часопис.* 2016;38–45.
12. Palazzo C, Ravaud J-FF, Papelard A, Ravaud P, Poiraud S. The burden of musculoskeletal conditions. *PLoS One.* 2014;9:e90633.
13. Анохіна ГА, Бондаренко ОО, Дорофєєв АЕ, Матюха ЛФ, Степанов ЮМ, Ткач СМ, et al. Рекомендації Української Гастроентерологічної Асоціації лікарям первинної та вторинної ланки охорони здоров'я з профілактики та лікування НПЗП-індукованих гастропатій. Київ; 2017.
14. Hunt R, Lazebnik LB, Marakhouski YC, Manuc M, GN R, Aye KS, et al. International Consensus on Guiding Recommendations for Management of Patients with Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs Induced Gastropathy-ICON-G. *Euroasian J hepato-gastroenterology.* 2018;8:148–60.
15. Lim YJ, Yang C-H. Non-steroidal anti-inflammatory drug-induced enteropathy. *Clin Endosc.* 2012;45:138–44.
16. Tachecí I, Bradna P, Douda T, Baštecká D, Kopáčová M, Rejchrt S, et al. Small intestinal injury in NSAID users suffering from rheumatoid arthritis or osteoarthritis. *Rheumatol Int.* 2016;36:1557–61.
17. Wallace JL. Mechanisms, prevention and clinical implications of nonsteroidal anti-inflammatory drug-enteropathy. *World J Gastroenterol.* 2013;19:1861.
18. Otani K, Tanigawa T, Watanabe T, Shimada S, Nadatani Y, Nagami Y, et al. Microbiota Plays a Key Role in Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug-Induced Small Intestinal Damage. *Digestion.* 2017;95:22–8.
19. Simioni J, Skare TL, Campos APB, Kotze L, Messias-Reason I, Ioshii SO, et al. Fecal Calprotectin, Gut Inflammation and Spondyloarthritis. *Arch Med Res.* 2019;50:41–6.
20. D'Angelo F, Felley C, Frossard JL. Calprotectin in Daily Practice: Where

Do We Stand in 2017? *Digestion*. 2017;95:293–301.

21. Alibrahim B, Aljasser MI, Salh B. Fecal calprotectin use in inflammatory bowel disease and beyond: A mini-review. *Can J Gastroenterol Hepatol*. 2015;29:157–63.

22. Salas-Cuestas F, Bautista-Molano W, Bello-Gualtero JM, Arias I, Castillo DM, Chila-Moreno L, et al. Higher levels of secretory IgA are associated with low disease activity index in patients with reactive arthritis and undifferentiated spondyloarthritis. *Front Immunol*. 2017;8:476.

23. Corthésy B. Multi-faceted functions of secretory IgA at mucosal surfaces. *Front Immunol*. 2013;4:185.

24. Derrien M, Belzer C, de Vos WM. *Akkermansia muciniphila* and its role in regulating host functions. *Microb Pathog*. 2017;106:171–81.

25. Ottman N, Reunanen J, Meijerink M, Pietilä TE, Kainulainen V, Klievink J, et al. Pili-like proteins of *Akkermansia muciniphila* modulate host immune responses and gut barrier function. Sanz Y, editor. *PLoS One*. 2017;12:e0173004.

26. Macchione IG, Lopetuso LR, Ianiro G, Napoli M, Gibiino G, Rizzatti G, et al. *Akkermansia muciniphila*: key player in metabolic and gastrointestinal disorders. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2019;23:8075–83.

27. Cani PD, de Vos WM. Next-generation beneficial microbes: The case of *Akkermansia muciniphila*. *Front Microbiol*. 2017;8:1765.

28. Wang Q, Huang S-Q, Li C-Q, Xu Q, Zeng Q-P. *Akkermansia muciniphila* May Determine Chondroitin Sulfate Ameliorating or Aggravating Osteoarthritis. *Front Microbiol*. 2017;8:1955.

29. Hernandez CJ. The Microbiome and Bone and Joint Disease. *Curr Rheumatol Rep*. 2017;19:77.

30. Huang ZY, Stabler T, Pei FX, Kraus VB. Both systemic and local lipopolysaccharide (LPS) burden are associated with knee OA severity and inflammation. *Osteoarthr Cartil*. 2016;24:1769–75.

31. Blackler RW, Gemici B, Manko A, Wallace JL. NSAID-gastroenteropathy: New aspects of pathogenesis and prevention. *Curr Opin*

Pharmacol. 2014;19:11–6.

32. Wallace JL. Polypharmacy of Osteoarthritis: The Perfect Intestinal Storm. *Dig Dis Sci*. 2013;58:3088–93.

33. Каратеев АЕ, Насонов ЕЛ, Яхно НН, Ивашкин ВТ, Чичасова НВ, Алексеева ЛИ, et al. Клинические рекомендации «Рациональное применение нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП) в клинической практике». *Современная ревматология*. 2015;4–23.

34. Лапина ТЛ. Гастропатии, индуцированные нестероидными противовоспалительными препаратами: клиническое значение, лечение, профилактика. *Cons medicum*. 2001;3:438–42.

35. Ураков АЛ, Уракова НА, Решетников АП, Ивонин ГИ. Энтероколит, гастрит, стоматит, гингивит, кариес вызывают таблетки ацетилсалициловой кислоты. *Медицинский альманах*. 2008;45–8.

36. Верткин АЛ, Наумов АВ, Шамуилова ММ, Иванов ВС, Сугаипов АА, Отпущенко АА. Дилемма выбора нестероидных противовоспалительных препаратов в терапевтической практике. *Клиницист*. 2008;46–50.

37. Wolfe MM, Lichtenstein DR, Singh G. Gastrointestinal Toxicity of Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs. *N Engl J Med*. 1999;340:1888–99.

38. Wallace JL, Syer S, Denou E, de Palma G, Vong L, McKnight W, et al. Proton pump inhibitors exacerbate NSAID-induced small intestinal injury by inducing dysbiosis. *Gastroenterology*. 2011;141:1314-1322.e5.

39. Евсеев МА. Повреждение кишечной трубки нестероидными противовоспалительными препаратами: клиническое значение, патогенез, возможности профилактики. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2013;79–87.

40. Bjarnason I, Zanelli G, Smith T, Smethurst P, Price AB, Gumpel MJ, et al. The Pathogenesis and Consequence of Non Steroidal Anti-Inflammatory Drug Induced Small Intestinal Inflammation in Man. *Scand J Rheumatol*. 1987;16:55–62.

41. Bjarnason I, Takeuchi K. Intestinal permeability in the pathogenesis of NSAID-induced enteropathy. *J Gastroenterol*. 2009;44:23–9.

42. Higuchi K, Umegaki E, Watanabe T, Yoda Y, Morita E, Murano M, et al. Present status and strategy of NSAIDs-induced small bowel injury. *J Gastroenterol.* 2009;44:879–88.
43. Hayllar J, Smith T, Macpherson A, Price AB, Gumpel M, Bjarnason I. Nonsteroidal antiinflammatory drug-induced small intestinal inflammation and blood loss. Effects of sulfasalazine and other disease-modifying antirheumatic drugs. *Arthritis Rheum.* 1994;37:1146–50.
44. Bjarnason I, Hayllar J, Smethurst P, Price A, Gumpel MJ. Metronidazole reduces intestinal inflammation and blood loss in non-steroidal anti-inflammatory drug induced enteropathy. *Gut.* 1992;33:1204–8.
45. Lanas A, García-Rodríguez LA, Polo-Tomás M, Ponce M, Alonso-Abreu I, Perez-Aisa MA, et al. Time Trends and Impact of Upper and Lower Gastrointestinal Bleeding and Perforation in Clinical Practice. *Am J Gastroenterol.* 2009;104:1633–41.
46. Goldstein JL, Eisen GM, Lewis B, Gralnek IM, Zlotnick S, Fort JG. Video capsule endoscopy to prospectively assess small bowel injury with celecoxib, naproxen plus omeprazole, and placebo. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2005;3:133–41.
47. Maiden L, Thjodleifsson B, Theodors A, Gonzalez J, Bjarnason I. A Quantitative Analysis of NSAID-Induced Small Bowel Pathology by Capsule Enteroscopy. *Gastroenterology.* 2005;128:1172–8.
48. Graham DY, Opekun AR, Willingham FF, Qureshi WA. Visible small-intestinal mucosal injury in chronic NSAID users. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2005;3:55–9.
49. Matsumoto T, Kudo T, Esaki M, Yano T, Yamamoto H, Sakamoto C, et al. Prevalence of non-steroidal anti-inflammatory drug-induced enteropathy determined by double-balloon endoscopy: a Japanese multicenter study. *Scand J Gastroenterol.* 2008;43:490–6.
50. Tanaka A, Araki H, Hase S, Komoike Y, Takeuchi K. Up-regulation of COX-2 by inhibition of COX-1 in the rat: a key to NSAID-induced gastric injury. *Aliment Pharmacol Ther.* 2002;16:90–101.

51. Wallace JL, Ferraz JGP. New pharmacologic therapies in gastrointestinal disease. *Gastroenterol Clin North Am.* 2010;39:709–20.
52. Wallace JL. NSAID gastropathy and enteropathy: Distinct pathogenesis likely necessitates distinct prevention strategies. *Br J Pharmacol.* 2012;165:67–74.
53. Lanas A, Sopeña F. Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs and Lower Gastrointestinal Complications. *Gastroenterol Clin North Am.* 2009;38:333–52.
54. Zuccaro G. Epidemiology of lower gastrointestinal bleeding. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2008;22:225–32.
55. Rahme E, Barkun A, Nedjar H, Gaugris S, Watson D. Hospitalizations for Upper and Lower GI Events Associated With Traditional NSAIDs and Acetaminophen Among the Elderly in Quebec, Canada. *Am J Gastroenterol.* 2008;103:872–82.
56. Bjarnason I, Hayllar J, Macpherson AJ, Russell AS. Side effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on the small and large intestine in humans. *Gastroenterology.* 1993;104:1832–47.
57. Somasundaram S, Rafi S, Hayllar J, Sigthorsson G, Jacob M, Price AB, et al. Mitochondrial damage: a possible mechanism of the “topical” phase of NSAID induced injury to the rat intestine. *Gut.* 1997;41:344–53.
58. Are C, Turagam M, Aucar JA, Greenberg E. Meloxicam-induced enteropathy of the small bowel. *CMAJ.* 2011;183:577–80.
59. Syer SD, Blackler RW, Martin R, de Palma G, Rossi L, Verdu E, et al. NSAID enteropathy and bacteria: a complicated relationship. *J Gastroenterol.* 2015;50:387–93.
60. Wang M-L, Miao F, Tang Y-H, Zhao X-S, Zhong J, Yuan F. Special diaphragm-like strictures of small bowel unrelated to non-steroidal anti-inflammatory drugs. *World J Gastroenterol.* 2011;17:3596–604.
61. Wu L-L, Yang Y-S, Cai F-C, Wang S-F. Gastric body diaphragm-like stricture as a rare complication of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *World J Gastroenterol.* 2013;19:3703–6.
62. Freebody J, Marripudi K, Kheir A, Markan D, Fiatarone J, Hawken G, et

al. NSAID-associated enteropathy ('diaphragm disease'): presentation of four cases and review of clinical / imaging spectrum. *J Med Imaging Radiol Oncol*. 2014;58:280.

63. Lang J, Price AB, Levi AJ, Burke M, Gumpel JM, Bjarnason I. Diaphragm disease: pathology of disease of the small intestine induced by non-steroidal anti-inflammatory drugs. *J Clin Pathol*. 1988;41:516–26.

64. Maiden L, Thjodleifsson B, Seigal A, Bjarnason II, Scott D, Birgisson S, et al. Long-Term Effects of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs and Cyclooxygenase-2 Selective Agents on the Small Bowel: A Cross-Sectional Capsule Enteroscopy Study. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007;5:1040–5.

65. Chernoleskiy A, Lanzon-Miller S, Hill F, Al-Mishlab T, Thway Y. Subacute small bowel obstruction due to diaphragm disease. *Clin Med* . 2010;10:296–8.

66. Puri A, Agarwal AK, Garg S, Tyagi P, Sakhuja P. Diaphragm disease of the ileum: a case report. *Trop Gastroenterol*. 2006;27:46—47.

67. Ammori BJ. Laparoscopic pancreas-preserving distal duodenectomy for duodenal stricture related to nonsteroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs). *Surg Endosc*. 2002;16:1362—1363.

68. Blinder GH, Hautekeete ML, Holvoet JP, Kockx MM, Hubens HKL. Duodenal diaphragmlike stricture induced by acetylsalicylic acid. *Dig Dis Sci*. 1994;39:1365–9.

69. Brar AS, Gill RS, Gill SS, Wang H. NSAID-Associated Perforation of a Meckels Diverticulum: A Case Report. *J Clin Med Res*. 2011;3:96–8.

70. Yarze JC. Gastrocolic fistula related to NSAID-induced gastric ulcer. *Gastrointest Endosc*. 2011;74:687–8.

71. Stolte M, Hartmann FO. Misinterpretation of NSAID-induced Colopathy as Crohn's Disease. *Z Gastroenterol*. 2010;48:472–5.

72. Губская ЕЮ. Новый диагноз—микроскопический энтерит: Определение, современные подходы к диагностике, дифференциальной диагностике и лечению. *Сучасна гастроентерологія*. 2016;120–6.

73. Davies NM, Saleh JY, Skjodt NM. Detection and Prevention of NSAID-Induced Enteropathy. *J Pharm Pharm Sci.* 2000;3:137–55.
74. Rendek Z, Falk M, Grodzinsky E, Wahlin K, Kechagias S, Svernlöv R, et al. Effect of oral diclofenac intake on faecal calprotectin. *Scand J Gastroenterol.* 2016;51:28–32.
75. Semrad CE. Small bowel enteroscopy: territory conquered, future horizons. *Curr Opin Gastroenterol.* 2009;25:110–5.
76. Takeuchi K, Tanaka A, Kato S, Amagase K, Satoh H. Roles of COX inhibition in pathogenesis of NSAID-induced small intestinal damage. *Clin Chim Acta.* 2010;411:459–66.
77. Maiden L. Capsule endoscopic diagnosis of nonsteroidal antiinflammatory drug-induced enteropathy. *J Gastroenterol.* 2009;44:64–71.
78. Laine L. The gastrointestinal effects of nonselective NSAIDs and COX-2-selective inhibitors. *Semin Arthritis Rheum.* 2002;32:25–32.
79. Трухан ДИ. Нестероидные противовоспалительные препараты сквозь призму коморбидности и лекарственной безопасности: в фокусе – амтолметин гуацил. *Cons Medicum.* 2015;17:27–33.
80. Povoroznyuk V, Grygorieva N, Bystrytska M, Kovtun T, Pidlisetskiy A. Comparative study of amtolmetin guacil and diclofenac sodium in patients with knee osteoarthritis. *Osteoarthr Cartil.* 2017;25:S421.
81. Arakawa T, Watanabe T, Tanigawa T, Tominaga K, Otani K, Nadatani Y, et al. Small Intestinal Injury Caused by NSAIDs/Aspirin: Finding New from Old. *Curr Med Chem.* 2012;19:77–81.
82. Keum B, Chun HJ. Capsule endoscopy and double balloon enteroscopy for obscure gastrointestinal bleeding: Which is better? *J Gastroenterol Hepatol.* 2011;26:794–5.
83. Bogas M, Afonso M do C, Araújo D. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and lower intestinal tract toxicity. *Acta Reumatol Port.* 2006;31:227–35.
84. Gotteland M, Cruchet S, Verbeke S. Effect of Lactobacillus ingestion on the gastrointestinal mucosal barrier alterations induced by indometacin in humans.

Aliment Pharmacol Ther. 2001;15:11–7.

85. Jansson EÅ, Petersson J, Reinders C, Sobko T, Björne H, Phillipson M, et al. Protection from nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID)-induced gastric ulcers by dietary nitrate. *Free Radic Biol Med*. 2007;42:510–8.

86. Yoda Y, Takeuchi K, Kato S, Amagase K, Umegaki E, Tokioka S, et al. T1310 Search for Prophylactic Drugs Against NSAID-Induced Small Intestinal Lesions in Rats. *Gastroenterology*. 2008;134:A-528.

87. Fujimori S, Takahashi Y, Gudis K, Seo T, Ehara A, Kobayashi T, et al. Rebamipide has the potential to reduce the intensity of NSAID-induced small intestinal injury: a double-blind, randomized, controlled trial evaluated by capsule endoscopy. *J Gastroenterol*. 2011;46:57–64.

88. Maruvada P, Leone V, Kaplan LM, Chang EB. The Human Microbiome and Obesity: Moving beyond Associations. *Cell Host Microbe*. 2017;22:589–99.

89. Fändriks L. Roles of the gut in the metabolic syndrome: an overview. *J Intern Med*. 2017;281:319–36.

90. Sanchez-Santos MT, Judge A, Gulati M, Spector TD, Hart DJ, Newton JL, et al. Association of metabolic syndrome with knee and hand osteoarthritis: A community-based study of women. *Semin Arthritis Rheum*. 2019;48:791–8.

91. Courties A, Sellam J, Berenbaum F. Metabolic syndrome-associated osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol*. 2017;29:214–22.

92. Гульнева МЮ, Носков СМ, Малафеева ЭВ. Микробиоценоз кишечника при сочетании ожирения и остеоартрита. *Проблемы эндокринологии*. 2012;58:12–5.

93. Picchianti-Diamanti A, Rosado MM, D’Amelio R. Infectious Agents and Inflammation: The Role of Microbiota in Autoimmune Arthritis. *Front Microbiol*. 2018;8:2696.

94. Zhong D, Wu C, Zeng X, Wang Q. The role of gut microbiota in the pathogenesis of rheumatic diseases. *Clin Rheumatol*. 2018;37:25–34.

95. Maeda Y, Takeda K. Role of Gut Microbiota in Rheumatoid Arthritis. *J Clin Med*. 2017;6:60.

96. Schott EM, Farnsworth CW, Grier A, Lillis JA, Soniwala S, Dadourian GH, et al. Targeting the gut microbiome to treat the osteoarthritis of obesity. *JCI insight*. 2018;3:e95997.
97. Ibáñez L, Rouleau M, Wakkach A, Blin-Wakkach C. Gut microbiome and bone. *Jt Bone Spine*. 2019;86:43–7.
98. Bultink IEM, Lems WF. Osteoarthritis and Osteoporosis: What Is the Overlap? *Curr Rheumatol Rep*. 2013;15:328.
99. Lorenz W, Buhrmann C, Mobasheri A, Lueders C, Shakibaei M. Bacterial lipopolysaccharides form procollagen-endotoxin complexes that trigger cartilage inflammation and degeneration: implications for the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2013;15:R111.
100. Shang Q, Yin Y, Zhu L, Li G, Yu G, Wang X. Degradation of chondroitin sulfate by the gut microbiota of Chinese individuals. *Int J Biol Macromol*. 2016;86:112–8.
101. Ахмедов ВА, Остапенко ВА, Винжегина ВА, Судакова АН, Ражева НГ. Влияние селективных и неселективных нестероидных противовоспалительных средств на кишечник и гепатобилиарную систему. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2008;3:72–4.
102. Губська ОЮ, Кузьмінець АА. НПЗП-ентеротоксичність: фокус на проблему. *Сучасна гастроентерологія*. 2018;103:50–9.
103. Губська ОЮ, Таран АІ, Лавренчук ІО, Альянова ТС. Ацетилсаліцилова кислота в кардіологічній практиці: фокус на ентеротоксичність. *Український терапевтичний журнал*. 2018;3:79–85.
104. Bjarnason I, Scarpignato C, Holmgren E, Olszewski M, Rainsford KD, Lanas A. Mechanisms of Damage to the Gastrointestinal Tract From Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Gastroenterology*. 2018;154:500–14.
105. Yoshikawa K, Kurihara C, Furuhashi H, Takajo T, Maruta K, Yasutake Y, et al. Psychological stress exacerbates NSAID-induced small bowel injury by inducing changes in intestinal microbiota and permeability via glucocorticoid receptor signaling. *J Gastroenterol*. 2017;52:61–71.

106. Edogawa S, Peters SA, Jenkins GD, Gurunathan S V., Sundt WJ, Johnson S, et al. Sex differences in NSAID-induced perturbation of human intestinal barrier function and microbiota. *FASEB J.* 2018;32:6615–25.
107. Li Y, Luo W, Deng Z, Lei G. Diet-Intestinal Microbiota Axis in Osteoarthritis: A Possible Role. *Mediators Inflamm.* 2016;2016:1–4.
108. Haro C, Rangel-Zúñiga OA, Alcalá-Díaz JF, Gómez-Delgado F, Pérez-Martínez P, Delgado-Lista J, et al. Intestinal Microbiota Is Influenced by Gender and Body Mass Index. Sanz Y, editor. *PLoS One.* 2016;11:e0154090.
109. Larsen JM. The immune response to *Prevotella* bacteria in chronic inflammatory disease. *Immunology.* 2017;151:363–74.
110. Sakkas LI, Bogdanos DP. Multiple hit infection and autoimmunity: the dysbiotic microbiota–ACPA connection in rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol.* 2018;30:403–9.
111. Muraki M, Fujiwara Y, Machida H, Okazaki H, Sogawa M, Yamagami H, et al. Role of small intestinal bacterial overgrowth in severe small intestinal damage in chronic non-steroidal anti-inflammatory drug users. *Scand J Gastroenterol.* 2014;49:267–73.
112. Scarpignato C, Dolak W, Lanas A, Matzneller P, Renzulli C, Grimaldi M, et al. Rifaximin Reduces the Number and Severity of Intestinal Lesions Associated With Use of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs in Humans. *Gastroenterology.* 2017;152:980-982.e3.
113. Montalto M, Gallo A, Curigliano V, D’Onofrio F, Santoro L, Covino M, et al. Clinical trial: The effects of a probiotic mixture on non-steroidal anti-inflammatory drug enteropathy - A randomized, double-blind, cross-over, placebo-controlled study. *Aliment Pharmacol Ther.* 2010;32:209–14.
114. Endo H, Higurashi T, Hosono K, Sakai E, Sekino Y, Iida H, et al. Efficacy of *Lactobacillus casei* treatment on small bowel injury in chronic low-dose aspirin users: a pilot randomized controlled study. *J Gastroenterol.* 2011;46:894–905.
115. Suzuki T, Masui A, Nakamura J, Shiozawa H, Aoki J, Nakae H, et al. Yogurt Containing *Lactobacillus gasseri* Mitigates Aspirin-Induced Small Bowel

Injuries: A Prospective, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. Digestion. 2017;95:49–54.

116. Вахрушев ЯМ, Загребина ЕА. Клинико-функциональные изменения тонкой кишки при лечении остеоартроза нестероидными противовоспалительными препаратами. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2010;3:18–22.

117. Rogers MAM, Aronoff DM. The influence of non-steroidal anti-inflammatory drugs on the gut microbiome. Clin Microbiol Infect. 2016;22:178.e1-178.e9.

118. Bokulich NA, Battaglia T, Aleman JO, Walker JM, Blaser MJ, Holt PR. Celecoxib does not alter intestinal microbiome in a longitudinal diet-controlled study. Clin Microbiol Infect. 2016;22:464–5.

119. Coulson S, Butt H, Vecchio P, Gramotnev H, Vitetta L. Green-lipped mussel extract (*Perna canaliculus*) and glucosamine sulphate in patients with knee osteoarthritis: therapeutic efficacy and effects on gastrointestinal microbiota profiles. Inflammopharmacology. 2013;21:79–90.

120. Lei M, Guo C, Wang D, Zhang C, Hua L. The effect of probiotic *Lactobacillus casei Shirota* on knee osteoarthritis: a randomised double-blind, placebo-controlled clinical trial. Benef Microbes. 2017;8:697–703.

121. Vina ER, Kwok CK. Epidemiology of osteoarthritis: Literature update. Curr Opin Rheumatol. 2018;30:160–7.

122. Jiang L, Xie X, Wang YY, Wang YY, Lu Y, Tian T, et al. Body mass index and hand osteoarthritis susceptibility: an updated meta-analysis. Int J Rheum Dis. 2016;19:1244–54.

123. Niu J, Clancy M, Aliabadi P, Vasani R, Felson DT. Metabolic Syndrome, Its Components, and Knee Osteoarthritis: The Framingham Osteoarthritis Study. Arthritis Rheumatol. 2017;69:1194–203.

124. Garessus EDG, de Mutsert R, Visser AW, Rosendaal FR, Kloppenburg M. No association between impaired glucose metabolism and osteoarthritis. Osteoarthr Cartil. 2016;24:1541–7.

125. Dai Z, Niu J, Zhang Y, Jacques P, Felson DT. Dietary intake of fibre and risk of knee osteoarthritis in two US prospective cohorts. *Ann Rheum Dis*. 2017;76:1411–9.
126. Veronese N, Stubbs B, Noale M, Solmi M, Luchini C, Smith TO, et al. Adherence to a Mediterranean diet is associated with lower prevalence of osteoarthritis: Data from the osteoarthritis initiative. *Clin Nutr*. 2017;36:1609–14.
127. Dai Z, Jafarzadeh SR, Niu J, Felson DT, Jacques PF, Li S, et al. Body Mass Index Mediates the Association between Dietary Fiber and Symptomatic Knee Osteoarthritis in the Osteoarthritis Initiative and the Framingham Osteoarthritis Study. *J Nutr*. 2018;148:1961–7.
128. Van Spil WE, Kubassova O, Boesen M, Bay-Jensen A-C, Mobasher A. Osteoarthritis phenotypes and novel therapeutic targets. *Biochem Pharmacol*. 2019;165:41–8.
129. Okano T, Mamoto K, Di Carlo M, Salaffi F. Clinical utility and potential of ultrasound in osteoarthritis. Vol. 124, *Radiologia Medica*. Springer-Verlag Italia s.r.l.; 2019. p. 1101–11.
130. Bruno F, Arrigoni F, Palumbo P, Natella R, Maggialetti N, Reginelli A, et al. New advances in MRI diagnosis of degenerative osteoarthropathy of the peripheral joints. *Radiol Med*. 2019;124:1121–7.
131. Ray-Yee Yap P, Goh K-L. Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs) Induced Dyspepsia. *Curr Pharm Des*. 2015;21:5073–81.
132. Lee HL, Chua SS, Mahadeva S. Dyspepsia in non-steroidal anti-inflammatory drug users and the effect of preventive measures. *J Dig Dis*. 2018;19:342–9.
133. Zhang BW, Li M, Ma LC, Wei FW. A widely applicable protocol for DNA isolation from fecal samples. *Biochem Genet*. 2006;44:494–503.
134. Koliada A, Syzenko G, Moseiko V, Budovska L, Puchkov K, Perederiy V, et al. Association between body mass index and Firmicutes/Bacteroidetes ratio in an adult Ukrainian population. *BMC Microbiol*. 2017;17:120.
135. Kanda Y. Investigation of the freely available easy-to-use software “EZR”

for medical statistics. *Bone Marrow Transplant*. 2013;48:452–8.

136. Aalto K, Lahdenne P, Kolho K-L. Fecal calprotectin in juvenile idiopathic arthritis patients related to drug use. *Pediatr Rheumatol*. 2017;15:9.

137. Балабанцева АП. НПВП-индуцированное поражение проксимальных и дистальных отделов желудочно-кишечного тракта у больных ревматическими заболеваниями. Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского»; 2019.

138. Shiotani A, Tarumi KI, Honda K, Fujita M, Matsumoto H, Manabe N, et al. Application of fecal hemoglobin-haptoglobin complex testing for small bowel lesions. *Scand J Gastroenterol*. 2014;49:539–44.

139. Vasilyev S, Smirnova E, Popov D, Semenov A, Eklund C, Hendolin P, et al. A New-Generation Fecal Immunochemical Test (FIT) Is Superior to Quaiac-based Test in Detecting Colorectal Neoplasia Among Colonoscopy Referral Patients. *Anticancer Res*. 2015;35:2873–80.

140. Chalkias A, Nikotian G, Koutsovasilis A, Bramis J, Manouras A, Mystrioti D, et al. Patients With Colorectal Cancer Are Characterized by Increased Concentration of Fecal Hb-Hp Complex, Myeloperoxidase, and Secretory IgA. *Am J Clin Oncol*. 2011;34:561–6.

141. Yung DE, Vijayan S, Avni T, Douglas S, Kopylov U, Koulaouzidis A. Fecal occult blood testing for the prediction of small-bowel pathology detected by capsule endoscopy: a systematic review and meta-analysis. *Ann Gastroenterol*. 2017;30:186–91.

142. Chang C-S, Kao C-Y. Current understanding of the gut microbiota shaping mechanisms. *J Biomed Sci*. 2019;26:59.

143. Siddiqui I, Majid H, Abid S. Update on clinical and research application of fecal biomarkers for gastrointestinal diseases. *World J Gastrointest Pharmacol Ther*. 2017;8:39.

144. Kumagai H, Maisawa S, Tanaka M, Takahashi M, Takasago Y, Nishijima A, et al. Intestinal microbiota and secretory immunoglobulin A in feces of

exclusively breast-fed infants with blood-streaked stools. *Microbiol Immunol.* 2012;56:657–63.

145. Kusumo PD, Bela B, Wibowo H, Munasir Z, Surono IS. *Lactobacillus plantarum* IS-10506 supplementation increases faecal sIgA and immune response in children younger than two years. *Benef Microbes.* 2019;10:245–52.

146. Feltelius N, Hvatum M, Brandtzaeg P, Knutson L, Hallgren R. Increased jejunal secretory IgA and IgM in ankylosing spondylitis: Normalization after treatment with sulfasalazine. *J Rheumatol.* 1994;21:2076–81.

147. Gomes MM, Herr AB. IgA and IgA-specific receptors in human disease: Structural and functional insights into pathogenesis and therapeutic potential. *Springer Semin Immunopathol.* 2006;28:383–95.

148. Şenol A, Işler M, Karahan AG, Kiliç GB, Kuleaşan H, Gören I, et al. Effect of probiotics on aspirin-induced gastric mucosal lesions. *Turkish J Gastroenterol.* 2011;22:18–26.

149. de la Cuesta-Zuluaga J, Mueller NT, Álvarez-Quintero R, Velásquez-Mejía EP, Sierra JA, Corrales-Agudelo V, et al. Higher Fecal Short-Chain Fatty Acid Levels Are Associated with Gut Microbiome Dysbiosis, Obesity, Hypertension and Cardiometabolic Disease Risk Factors. *Nutrients.* 2019;11:51.

150. Feng W, Ao H, Peng C. Gut Microbiota, Short-Chain Fatty Acids, and Herbal Medicines. *Front Pharmacol.* 2018;9:1354.

151. Parada Venegas D, De la Fuente MK, Landskron G, González MJ, Quera R, Dijkstra G, et al. Short Chain Fatty Acids (SCFAs)-Mediated Gut Epithelial and Immune Regulation and Its Relevance for Inflammatory Bowel Diseases. *Front Immunol.* 2019;10:277.

152. Xu Y, Wang N, Tan H-Y, Li S, Zhang C, Feng Y. Function of *Akkermansia muciniphila* in Obesity: Interactions With Lipid Metabolism, Immune Response and Gut Systems. *Front Microbiol.* 2020;11:219.

153. Li J, Lin S, Vanhoutte PM, Woo CW, Xu A. *Akkermansia Muciniphila* Protects Against Atherosclerosis by Preventing Metabolic Endotoxemia-Induced Inflammation in Apoe^{-/-} Mice. *Circulation.* 2016;133:2434–46.

154. Zhernakova A, Kurilshikov A, Bonder MJ, Tigchelaar EF, Schirmer M, Vatanen T, et al. Population-based metagenomics analysis reveals markers for gut microbiome composition and diversity. *Science* (80-). 2016;352:565–9.
155. Boer CG, Radjabzadeh D, Medina-Gomez C, Garmaeva S, Schiphof D, Arp P, et al. Intestinal microbiome composition and its relation to joint pain and inflammation. *Nat Commun*. 2019;10:1–9.
156. Crovesy L, Masterson D, Rosado EL. Profile of the gut microbiota of adults with obesity: a systematic review. *European Journal of Clinical Nutrition*. Springer Nature; 2020. p. 1–12.
157. Mariat D, Firmesse O, Levenez F, Guimarães VD, Sokol H, Doré J, et al. The firmicutes/bacteroidetes ratio of the human microbiota changes with age. *BMC Microbiol*. 2009;9:123.
158. Yang T, Santisteban MM, Rodriguez V, Li E, Ahmari N, Carvajal JM, et al. Gut Dysbiosis is Linked to Hypertension. *Hypertension*. 2015;65:1331–40.
159. De Luca F, Shoenfeld Y. The microbiome in autoimmune diseases. *Clin Exp Immunol*. 2019;195:74–85.
160. Lee J-Y, Manna M, Kim Y, Kim J, Kim G-T, Seo Y-S. Comparative Analysis of Fecal Microbiota Composition Between Rheumatoid Arthritis and Osteoarthritis Patients. *Genes (Basel)*. 2019;10:748.
161. Moreno Martínez MJ, Moreno Ramos MJ, Linares Ferrando LF. Relationship Between Fecal Calprotectin, Anti-Saccharomyces cerevisiae Antibodies and Other Markers of Disease Activity in Patients With Spondyloarthritis. *Reumatol Clínica (English Ed)*. 2019;15:360–2.
162. Sieg A, Thoms C, Lüthgens K, John MR, Schmidt-Gayk H. Detection of colorectal neoplasms by the highly sensitive hemoglobin-haptoglobin complex in feces. *Int J Colorectal Dis*. 1999;14:267–71.
163. Shin NR, Whon TW, Bae JW. Proteobacteria: Microbial signature of dysbiosis in gut microbiota. Vol. 33, *Trends in Biotechnology*. Elsevier Ltd; 2015. p. 496–503.
164. Takagi T, Naito Y, Inoue R, Kashiwagi S, Uchiyama K, Mizushima K, et

- al. The influence of long-term use of proton pump inhibitors on the gut microbiota: an age-sex-matched case-control study. *J Clin Biochem Nutr.* 2018;62:100–5.
165. Melgar S, Nieuwdorp M. Are Proton Pump Inhibitors Affecting Intestinal Microbiota Health? *Gastroenterology.* 2015;149:848–50.
166. Bruno G, Zaccari P, Rocco G, Scalese G, Panetta C, Porowska B, et al. Proton pump inhibitors and dysbiosis: Current knowledge and aspects to be clarified. *World J Gastroenterol.* 2019;25:2706–19.
167. Lee SM, Kim N, Nam RH, Park JH, Choi SI, Park YT, et al. Gut microbiota and butyrate level changes associated with the long-term administration of proton pump inhibitors to old rats. *Sci Rep.* 2019;9:1–11.
168. Joshi S, Lewis SJ, Creanor S, Ayling RM. Age-related faecal calprotectin, lactoferrin and tumour M2-PK concentrations in healthy volunteers. *Ann Clin Biochem.* 2010;47:259–63.

ДОДАТКИ

ДОДАТОК 1

Список публікацій здобувача за темою дисертації

1. Губська ОЮ, Кузьмінець АА, Гуцул ВМ, Лавренчук ІО. Кишковий мікробіом й остеоартрит. Гастроентерологія. 2019;53:132–7. doi:10.22141/2308-2097.53.2.2019.168988.
2. Кузьмінець АА, Панін АВ, Губська ОЮ. Склад кишкового мікробіому у пацієнтів з остеоартритом. In: Annu. Young Med. Sci. Conf. 2019. Kyiv; 2020. p. 24–5. <http://mmj.nmuofficial.com/index.php/journal/issue/view/20/114-pdf>
3. Губська ОЮ, Кузьмінець АА, Коляда ОК, Мосейко ВВ, Панін АВ. Стан кишкового мікробіому в пацієнтів з остеоартритом. Сучасна гастроентерологія. 2019;109:18–25. doi:10.30978/MG-2019-5-18.
4. Губська ОЮ, Кузьмінець АА. НПЗП-ентеротоксичність: фокус на проблему. Сучасна гастроентерологія. 2018;103:50–9. doi:10.30978/MG-2018-5-50.
5. Губська ОЮ, Кузьмінець АА, Панін АВ. Рівень фекального комплексу «гемоглобін/гаптоглобін» у пацієнтів з остеоартритом залежно від прийому нестероїдних протизапальних препаратів. Сучасна гастроентерологія. 2020;111:23–7. doi:10.30978/MG-2020-1-23.
6. Gubska O, Kuzminets A, Panin A. Comparing of faecal calprotectin levels in patients with osteoarthritis taking NSAID treatment and patients without NSAIDS therapy. EUREKA Heal Sci. 2020;17–24. doi:10.21303/2504-5679.2020.001193.

Відомості про апробацію результатів дисертації

Основні теоретичні та практичні положення дисертаційного дослідження доповідалися та обговорювалися на науково-практичних конференціях:

1. VII науковій сесії Інституту гастроентерології НАМН України «Новітні технології в теоретичній та клінічній гастроентерології» (Дніпро, 13-14.06.2019 р.);

2. Міжнародній конференції молодих науковців (AYMSConf) 2019 (Київ, 22-24.11.2019 р.).

Подяка

Ми висловлюємо вдячність компанії R-biopharm AG (Дармштадт, Німеччина) та її співробітникам, А. Вук, Т. van Stappen, А. Lennerz та L. Massold, а також ПП «Біола» і її співробітниці Предземірській Л. за надані комплекти реактивів для визначення ФКП та sIgA і за технічну підтримку у проведенні досліджень методом ІФА. Ми висловлюємо вдячність лабораторії Діаген (м. Київ) та її науковому керівнику Коляді О.К., і науковому співробітнику Мосейку В.В., за матеріальну, технічну та організаційну допомогу у проведенні досліджень методом ПЛР. Ми висловлюємо вдячність Науково-дослідному інституту експериментальної та клінічної медицини та його директору, професору Натрус Л.В., за надану технічну та організаційну допомогу у проведенні досліджень методом ІФА.