

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

Кваліфікована наукова
праця на правах рукопису

НЕВЕРОВСЬКИЙ АРТЕМ ВАЛЕРІЙОВИЧ

УДК: 616.1-084:616-008.9:577.125.8

ДИСЕРТАЦІЯ

**КОРЕКЦІЯ СЕРЦЕВО-СУДИННОГО РИЗИКУ ШЛЯХОМ
МОДИФІКАЦІЇ АКТИВНОСТІ КИШКОВОЇ БАКТЕРІАЛЬНОЇ
ГІДРОЛАЗИ ЖОВЧНИХ КИСЛОТ У ПАЦІЄНТІВ З ДИСЛІПІДЕМІЄЮ**

Галузь знань 22 – «Охорона здоров'я»

Спеціальність 222 – «Медицина»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії PhD

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

_____ Неверовський А. В.

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

Київ – 2021

АНОТАЦІЯ

Неверовський А. В. Корекція серцево-судинного ризику шляхом модифікації активності кишкової бактеріальної гідролази жовчних кислот у пацієнтів з дисліпідемією. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії PhD в галузі знань 22 “Охорона здоров’я”, за спеціальністю 222 “Медицина” – Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, МОЗ України, Київ, 2021.

Зміст анотації.

У дисертаційній роботі запропоновано удосконалення лікування дисліпідемії та корекції різних категорій серцево-судинного ризику (ССР), оціненого за валідованими шкалами, у пацієнтів з дисліпідемією на основі визначення та модифікації ферментативної активності кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот (ГСЖК) із застосуванням пробіотичних капсул на основі ГСЖК-продукуючого штаму *Lactobacillus plantarum*.

Актуальність роботи обумовлена значним вкладом порушень ліпідного обміну у розвиток та прогресування атеросклеротичних захворювань серцево-судинної системи (ЗССС) – основної причини захворюваності та смертності від неінфекційних чинників у світі. Наявність побічних ефектів, висока вартість та обмеженість доступу існуючих на сьогодні терапевтичних підходів у лікуванні дисліпідемії обумовлюють необхідність дослідження нових засобів, що потенційно матимуть гіполіпідемічний ефект з можливим подальшим використанням у клінічній практиці для модифікації ССР.

Мета дослідження. Підвищення ефективності корекції нефатального та фатального серцево-судинного ризиків на основі вивчення загальної активності кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот та її модифікації у пацієнтів з дисліпідемією.

Задачі дослідження.

1. Визначити загальну активність кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот у практично здорових осіб та у пацієнтів з дисліпідемією.
2. Визначити загальну активність бактеріальної гідролази солей жовчних кислот пробіотичних препаратів на основі ГСЖК-продукуючого штаму *Lactobacillus plantarum*.
3. Оцінити загальну активність кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот в динаміці лікування досліджуваних груп.
4. Оцінити вплив пробіотичних препаратів на основі ГСЖК-продукуючого штаму *Lactobacillus plantarum* на рівні показників ліпідограми.
5. Оцінити вплив пробіотичних препаратів на основі ГСЖК-продукуючого штаму *Lactobacillus plantarum* на рівні ризиків нефатальних та фатальних серцево-судинних подій, оцінених за валідованими шкалами.
6. Розробити практичні рекомендації щодо призначення пробіотичних препаратів на основі ГСЖК-продукуючого штаму *Lactobacillus plantarum* для корекції дисліпідемії та нефатального і фатального серцево-судинного ризиків, оцінених за валідованими шкалами.

Дисертаційне дослідження включало 2 етапи. Перший етап був виконаний за дизайном «випадок-контроль», протягом якого були відібрані практично здорові учасники та пацієнти з дисліпідемією, яким визначались базові показники, вимірювались рівні показників ліпідограми та відносна загальна активність кишкової бактеріальної ГСЖК, а також оцінка різних категорій серцево-судинного ризику за 5 валідованими шкалами. Другий етап був виконаний за дизайном відкритого порівняльного рандомізованого паралельного дослідження, протягом якого пацієнти з дисліпідемією були розподілені на дві групи порівняння та отримували лікування досліджуваними препаратами впродовж 12 тижнів. Під час проведення другого етапу через визначені часові проміжки (4, 8 та 12 тижнів) пацієнтам порівнюваних груп визначались

показники ліпідограми, відносна загальна активність кишкової бактеріальної ГСЖК та оцінювались рівні ССР за 5 валідованими шкалами.

Для вирішення поставлених задач дисертаційної роботи загалом у дослідження було включено 103 учасники віком 22-74 роки. До складу контрольної групи було включено 26 практично здорових осіб віком 22-44 роки. До складу загальної дослідної групи було включено 77 пацієнтів з дисліпідемією та без анамнезу основних серцево-судинних подій (інфаркт міокарда та гостре порушення мозкового кровообігу) віком 40-74 роки, які випадковим чином були розподілені на 2 групи: Група 1 (n=41), яким призначалась комбінована терапія (капсули з живою активною культурою *Lactobacillus plantarum* у кількості $2 \cdot 10^9$ КУО в одній капсулі – 1 капсула один раз на добу та таблетки симвастатину у дозі 20 мг – 1 таблетка один раз на добу); Група 2 (n=36), яким призначалась монотерапія (таблетки симвастатину у дозі 20 мг – 1 таблетка один раз на добу).

Загальноклінічні обстеження, біохімічні дослідження плазми крові, призначення та моніторинг лікування учасників дослідження проводились на клінічній базі кафедри внутрішньої медицини №1 Національного медичного університету імені О. О. Богомольця. Лабораторне визначення ферментативної активності бактеріальної ГСЖК виконувалось на базі лабораторії біоорганічної хімії і молекулярної візуалізації Інституту хімічних наук та інженерії (Лозанна, Швейцарія) на основі меморандуму про співробітництво із кафедрою внутрішньої медицини №1 від 14.05.2018.

Для оцінки ССР застосовувались 5 валідованих шкал, які дозволяли оцінити різні його категорії: Globorisk – ризик 10-річної смертності від серцево-судинних захворювань; Фремінгемська шкала оцінки 10-річного ССР – 10-річний ризик нефатальних та фатальних серцево-судинних подій; АСС/АНА алгоритм 2013 року – оцінка 10-річного ризику серцево-судинних захворювань та інсульту; PROCAM – 10-річний ризик гострих коронарних подій; алгоритм ВООЗ – 10-річний ризик нефатальних та фатальних серцево-судинних захворювань (інфаркт міокарда та інсульт).

У пацієнтів з дисліпідемією були виявлені значно нижчі показники ферментативної активності кишкової бактеріальної ГСЖК ($0,01 \pm 0,05$ Од/мл) порівняно з практично здоровими учасниками ($0,22 \pm 0,12$ Од/мл), $p < 0,001$. Був виявлений статистично вірогідний негативний кореляційний зв'язок помірної сили між відносною активністю кишкової бактеріальної ГСЖК та загальним холестерином (ЗХ) ($-0,38$, $p < 0,001$) і ліпопротеїнами низької щільності (ЛПНЩ) ($-0,36$, $p < 0,001$), а також негативний кореляційний зв'язок слабкої сили із коефіцієнтом атерогенності (КА) ($-0,22$, $p = 0,029$). Такі результати вказують на те, що вищі рівні активності зазначеного ферменту були асоційовані із нижчими рівнями безпосередньо атерогенних ліпопротеїнів (ЗХ та ЛПНЩ) та КА. При використанні методу побудови моделей лінійної регресії було виявлено наявність лінійного взаємозв'язку ($R < 0$, $p < 0,001$) між рівнями ЛПНЩ та відносною активністю кишкової бактеріальної ГСЖК. Однофакторний логістичний регресійний аналіз виявив, що зі збільшенням відносної активності кишкової бактеріальної ГСЖК, ризик дисліпідемії знижується, $ВШ = 1,06 * 10^{-10}$ (95% ВІ; $2,5 * 10^{-15}$ - $4,5 * 10^{-6}$). Був виявлений статистично вірогідний негативний кореляційний зв'язок помірної сили між відносною активністю кишкової бактеріальної ГСЖК та рівнями ССР, оціненого за шкалами: Globorisk ($-0,34$; $p < 0,01$), Фремінгемська шкала оцінки 10-річного ССР ($-0,34$; $p < 0,01$), АСС/АНА алгоритм 2013 року ($-0,32$; $p < 0,01$), PROCAM ($-0,35$; $p < 0,01$), алгоритм ВООЗ ($-0,34$; $p < 0,01$). Такі результати вказують на те, що вищі рівні активності зазначеного ферменту були асоційовані із нижчими рівнями різних категорій ССР, оціненого за валідованими шкалами.

Було виявлено, що капсули з досліджуваними пробіотичними бактеріями *Lactobacillus plantarum* у кількості $2 * 10^9$ КУО в одній капсулі мають відносну активність бактеріальної ГСЖК $1,0006 \pm 0,037$ Од/мл порівняно із $0,033 \pm 0,009$ Од/мл штаму *Lactobacillus plantarum* з попередньо елімінованими генами ГСЖК, $p < 0,05$.

У Групі 1, учасникам якої призначалась комбінована терапія із досліджуваними пробіотиками, та Групі 2, учасники якої отримували лише

симвастатин, по окремої було виявлено, що вихідні рівні ЗХ, ЛПНЩ та КА були вірогідно вищі порівняно з рівнями через 4, 8 та 12 тижнів лікування, $p < 0,001$ у всіх порівняннях, але без відмінностей між 4 та 8, між 4 та 12 та між 8 та 12 тижнями лікування. Це вказує на те, що ефект обох схем лікування в кожній групі по окремої спостерігався починаючи з 4 тижня і надалі зберігався до 12 тижня, але при цьому він не посилювався зі збільшенням тривалості терапії. Рівні ЛПВЩ, ТГ та ІА в кожній групі вірогідно не змінювались протягом дослідження. При порівнянні показників ліпідограми, ІА та КА між Групою 1 та Групою 2 було виявлено, що рівні ЗХ та ЛПНЩ були вірогідно нижчими в Групі 1 після 8 тижнів ($p = 0,002$ та $p = 0,016$, відповідно) та 12 тижнів ($p < 0,001$ та $p = 0,002$, відповідно) прийому досліджуваних схем лікування. В Групі 1 рівень ЗХ через 12 тижнів лікування в середньому зменшувався на $24,4 \pm 12,5\%$ порівняно з Групою 2 ($12,9 \pm 15\%$), $p < 0,001$; рівень ЛПНЩ в Групі 1 через 12 тижнів дослідження в середньому зменшувався на $28,3\%$ ($23,4\% - 38,5\%$) порівняно з Групою 2 ($18,4\%$ ($7,2\% - 27,1\%$)), $p < 0,001$. Було показано, що частота досягнення кінцевої цілі ($\geq 20\%$ зниження показника) відносно зниження рівнів ЗХ у Групі 1 складала $63,4\%$ порівняно з $27,8\%$ у Групі 2, $ВШ = 2,28$ (95% ДІ; $1,28 - 4,06$), $p = 0,004$; відносно зниження рівнів ЛПНЩ у Групі 1 складала $85,4\%$ порівняно з $41,7\%$ у Групі 2, $ВШ = 2,05$ (95% ДІ; $1,36 - 3,08$), $p < 0,001$.

На 12 тижні дослідження було показано, що в Групі 1 рівні відносної активності кишкової бактеріальної ГСЖК були вірогідно вищі порівняно з вихідними значеннями, $p < 0,001$. В Групі 2 рівні відносної активності зазначеного ферменту на 12 тижні дослідження вірогідно не відрізнялись порівняно з вихідними значеннями, $p = 0,53$. Було показано, що на 12 тижні прийому досліджуваних схем лікування значення відносної активності ГСЖК статистично вірогідно не відрізнялись між контрольною групою та Групою 1 ($p = 0,45$), але вірогідно відрізнялись між контрольною та Групою 2, а також між Групою 1 та Групою 2 ($p < 0,01$ в обох порівняннях).

Побудовані однофакторні моделі логістичної регресії показали, що зі збільшенням відносної активності кишкової бактеріальної ГСЖК, ризик

недосягнення цілі лікування відносно 20% і більше зниження ЗХ знижується, $ВШ=0,00133$ (95% ВІ; $3,28 \cdot 10^{-6}$ - $0,538$); відносно ЛПНЩ – знижується, $ВШ=5,65 \cdot 10^{-14}$ (95% ВІ; $6,38 \cdot 10^{-20}$ - $5 \cdot 10^{-8}$). Це означає, що чим більша активність даного ферменту, тим вище шанс досягти кінцевого ефекту лікування відносно зниження ЗХ та ЛПНЩ.

Вихідні рівні ССР, оціненого за всіма 5 шкалами ризику, в Групі 1 та в Групі 2 окремо були вірогідно вищі порівняно з рівнями через 4, 8 та 12 тижнів лікування, $p < 0,001$ у всіх порівняннях. У Групі 1 рівні ССР за 4 шкалами, окрім алгоритму ВООЗ, вірогідно не відрізнялись між 4 та 8, між 4 та 12 та між 8 та 12 тижнями лікування, а за алгоритмом ВООЗ після 12 тижнів ССР був вірогідно нижчий, ніж через 4 та 8 тижнів, $p < 0,001$ в обох порівняннях, однак достовірної різниці не було між 4 та 8 тижнями. У Групі 2 рівні ССР за всіма шкалами вірогідно не відрізнялись між 4 та 8, між 4 та 12 та між 8 та 12 тижнями лікування. Це свідчить про те, що в кожній з груп протягом різних часових проміжків дослідження спостерігалось зменшення рівнів ССР. При порівнянні між Групою 1 та Групою 2 протягом часових проміжків дослідження було виявлено, що абсолютний рівень ССР за шкалою PROCAM через 12 тижнів в Групі 1 був статистично вірогідно нижчим, ніж у Групі 2, $p = 0,004$. Це вказує на те, що комбіноване лікування симвастатином та пробіотиком на основі *Lactobacillus plantarum* було більш ефективним в зниженні абсолютного рівня ССР за шкалою PROCAM порівняно з монотерапією симвастатином. Однак за іншими шкалами такого не спостерігалось. В Групі 1 динаміка зменшення рівнів серцево-судинного ризику (у відсотках) по всім 5 валідованим шкалам через 12 тижнів лікування була статистично вірогідно більш вираженою порівняно з Групою 2. В середньому рівень ССР за шкалою Globorisk зменшився на $18,87 \pm 13,59$ % у першій групі порівняно із $11,35 \pm 12,04$ % у другій групі; за Фремінгемською шкалою оцінки 10-річного ССР – на 26% (17,5%-41%) та 9,8% (-2%-25%), відповідно; за АСС/АНА алгоритмом 2013 року – на 20% (5,87%-34%) та 7% (-1,85%-20,78%), відповідно; за шкалою PROCAM – на 23% (14,58%-27,7%) та 7% (0%-19%), відповідно; за алгоритмом ВООЗ – на $21,47 \pm 11,34$ % та $12,18 \pm 13,72$,

відповідно. Було виявлено, що частота досягнення кінцевої цілі відносно зниження рівнів серцево-судинного ризику на $\geq 20\%$ згідно із:

- 1) Фремінгемською шкалою оцінки 10-річного ССР у Групі 1 складала 70,7 % порівняно із 33,3% у Групі 2, ВШ=2,12 (95% ВІ; 1,28-3,51), $p=0,003$;
- 2) АСС/АНА алгоритмом 2013 року складала 51,2% у Групі 1 порівняно із 25% у Групі 2, ВШ=2,05 (95% ВІ; 1,08-3,88), $p=0,035$;
- 3) шкалою PROCAM складала 65,9% у Групі 1 порівняно із 25% у Групі 2, ВШ=2,63 (95% ВІ; 1,44-4,83), $p<0,001$;
- 4) алгоритмом ВООЗ складала 56,1% у Групі 1 порівняно із 25% у Групі 2, ВШ=2,24 (95% ВІ; 1,2-4,2), $p=0,012$.

Частота досягнення кінцевої цілі відносно зниження рівня ССР за шкалою Globorisk статистично вірогідно не відрізнялась між Групою 1 та Групою 2.

Побудовані однофакторні моделі логістичної регресії показали, що зі збільшенням відносної активності кишкової бактеріальної ГСЖК, ризик недосягнення цілі лікування відносно 20% і більше зниження рівнів ССР знижується за: Фремінгемською шкалою оцінки 10-річного ССР, ВШ= $4,09 \cdot 10^{-5}$ (95% ДІ; $4,66 \cdot 10^{-8}$ - 0,0359); за АСС/АНА алгоритмом 2013 року, ВШ= $3,8 \cdot 10^{-4}$ (95% ДІ; $7,34 \cdot 10^{-7}$ - 0,197); за шкалою PROCAM, ВШ= $8,38 \cdot 10^{-6}$ (95% ДІ; $6,93 \cdot 10^{-9}$ - 0,0101). За шкалою Globorisk та алгоритмом ВООЗ такого взаємозв'язку знайдено не було.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше в клінічному дослідженні за участі здорових учасників та пацієнтів з дисліпідемією вивчалась ферментативна активність кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот. Вперше було виявлено зв'язок між ризиком дисліпідемії та загальною активністю кишкової бактеріальної ГСЖК у клінічному дослідженні. Вперше було виявлено кореляційний зв'язок між різними категоріями ССР, оціненого за валідованими шкалами, та загальною активністю кишкової бактеріальної ГСЖК у клінічному дослідженні. Були уточнені та доповнені дані стосовно ролі бактеріальної ГСЖК у обміні холестерину, розвитку та прогресуванні

дисліпідемії; стосовно ферментативної активності ГСЖК пробіотичного штаму *Lactobacillus plantarum*; стосовно клінічної ефективності пробіотичних препаратів на основі ГСЖК-продукуючого штаму *Lactobacillus plantarum* в корекції дисліпідемії та досягненні терапевтичних цілей її корекції. Вперше було виявлено зв'язок між загальною активністю кишкової бактеріальної ГСЖК та ризиком недосягнення кінцевих точок ефективності лікування дисліпідемії. Вперше було вивчено роль пробіотичних капсул на основі ГСЖК-продукуючого штаму *Lactobacillus plantarum* в модифікації ССР, оціненого за валідованими шкалами, та досягненні терапевтичних цілей його модифікації. Вперше було виявлено зв'язок між загальною активністю бактеріальної ГСЖК та ризиком недосягнення кінцевих точок ефективності модифікації різних категорій ССР, оціненого за валідованими шкалами.

Практичне значення отриманих результатів. На основі результатів дисертаційного дослідження було науково обґрунтовано доцільність лабораторного визначення загальної активності кишкової бактеріальної ГСЖК у практично здорових людей та пацієнтів з дисліпідемією з метою:

- 1) оцінки ризику дисліпідемії;
- 2) оцінки ризику недосягнення кінцевих точок ефективності лікування дисліпідемії, а саме зниження рівнів ЗХ та ЛПНЩ;
- 3) оцінки ризику недосягнення кінцевих точок ефективності модифікації різних категорій ССР, оціненого за валідованими шкалами.

Перед призначенням пробіотичних препаратів доцільно визначати ферментативну активність бактеріальної ГСЖК даних препаратів з метою селекції потенційно найбільш ефективних штамів пробіотичних бактерій відносно корекції дисліпідемії та ССР.

Розроблено практичні рекомендації щодо застосування пробіотичних препаратів на основі ГСЖК-продукуючого штаму *Lactobacillus plantarum* як додаткової гіполіпідемічної терапії з метою корекції дисліпідемії та модифікації різних категорій ССР, оціненого за валідованими шкалами. Доцільно використовувати капсули із вмістом *Lactobacillus plantarum* $2 \cdot 10^9$ КУО в одній

капсулі (1 капсула 1 раз на добу) у комбінації із препаратами статинів протягом не менше 12 тижнів для збільшення клінічної ефективності.

Висновки.

У дисертаційній роботі було теоретично обґрунтовано та запропоновано новий практичний підхід до вирішення актуальної проблеми внутрішньої медицини – удосконалення лікування дисліпідемії та корекції серцево-судинного ризику на основі визначення ферментативної активності кишкової бактеріальної ГСЖК та її модифікації ГСЖК-експресуючими пробіотичними препаратами на основі *Lactobacillus plantarum*.

1. Відносна загальна активність кишкової бактеріальної ГСЖК була вірогідно вищою у практично здорових учасників порівняно з пацієнтами з дисліпідемією ($0,01 \pm 0,05$ Од/мл проти $0,22 \pm 0,12$ Од/мл). Відносна активність кишкової бактеріальної ГСЖК негативно корелювала із ЗХ, ЛПНЩ (із наявністю лінійного зв'язку), КА та рівнями ССР, оціненого за 5 шкалами. Була виявлена негативна асоціація між ризиком дисліпідемії та відносною активністю кишкової бактеріальної ГСЖК.
2. Капсули з досліджуваними пробіотичними бактеріями *Lactobacillus plantarum* мали більше ніж в 30 разів більшу ферментативну активність ГСЖК порівняно зі штамом даних бактерій з попередньо елімінованими генами ГСЖК ($1,0006 \pm 0,037$ Од/мл проти $0,033 \pm 0,009$ Од/мл).
3. Комбінація симвастатину та капсул із *Lactobacillus plantarum* на 12 тижні прийому призводила до вірогідного збільшення активності кишкової бактеріальної ГСЖК ($0,2 \pm 0,07$ Од/мл) порівняно з вихідними рівнями ($0,1$ ($0,06-0,14$) Од/мл) та з монотерапією симвастатином ($0,1 \pm 0,06$ Од/мл).
4. Комбінація симвастатину та капсул із *Lactobacillus plantarum* була більш ефективною в зниженні ЗХ, ЛПНЩ, починаючи з 8 і надалі до 12 тижня прийому (в середньому на $24,4 \pm 12,5\%$ та $28,3\%$ ($23,4\%-38,5\%$) через 12 тижнів, відповідно) порівняно з монотерапією симвастатином (в середньому на $12,9 \pm 15\%$ та $18,4\%$ ($7,2\%-27,1\%$) через 12 тижнів, відповідно). Комбіноване лікування було більш ніж в 2 рази ефективнішим відносно

досягнення кінцевих цілей терапії: $\geq 20\%$ зниження ЗХ та ЛПНЩ. Збільшення відносної активності кишкової бактеріальної ГСЖК було асоційоване із вищими шансами досягти кінцевих цілей терапії.

5. Комбінація симвастатину та капсул із *Lactobacillus plantarum* була вірогідно більш ефективною в зниженні рівня ССР за шкалою PROCAM через 12 тижнів дослідження порівняно із монотерапією симвастатином (37 (31-41) балів проти 45,5 (38-50,5) балів). Динаміка зменшення рівнів ССР по всім 5 шкалам через 12 тижнів була вірогідно більш вираженою у пацієнтів на комбінованому лікуванні. Комбіноване лікування було більш ніж в 2 рази ефективнішим відносно досягнення кінцевих цілей терапії: $\geq 20\%$ зниження рівнів ССР за всіма шкалами, окрім Globorisk. Збільшення відносної активності кишкової бактеріальної ГСЖК було асоційоване із вищими шансами досягти кінцевих цілей терапії відносно модифікації ССР за Фремінгемською шкалою оцінки 10-річного ССР, ACC/АНА алгоритмом 2013 року та шкалою PROCAM.
6. Додаткове до середніх доз статинів (20 мг симвастатину 1 раз на добу) призначення пробіотичних капсул із *Lactobacillus plantarum* у кількості $2 \cdot 10^9$ КУО в одній капсулі (1 капсула раз на добу) впродовж не менше 12 тижнів призводить до кращої корекції дисліпідемії, модифікації 10-річного ризику гострих коронарних подій за шкалою PROCAM, пришвидшення темпів модифікації нефатального та фатального ССР за всіма шкалами, а також досягнення визначених цілей лікування.

Результати дисертаційного дослідження впроваджені в навчальний процес (лекції та практичні заняття) Національного медичного університету імені О. О. Богомольця на кафедрі внутрішньої медицини №1 для студентів 5 та 6 курсів навчання, в лікувальну практику терапевтичного та гастроентерологічного відділень КНП «Київська міська клінічна лікарня» №18, МЦ «RCLIN UKRAINE» ТОВ «КАРДІОКОМ».

Ключові слова: дисліпідемія, серцево-судинний ризик, валідовані шкали ризику, пробіотичні бактерії, *Lactobacillus plantarum*, гідролаза солей жовчних кислот.

ANNOTATION

Neverovskiy A. V. Cardiovascular risk correction by modification of gut bacterial bile salt hydrolase activity in patients with dyslipidemia. – Qualifying scientific work as a Manuscript Copyright.

The Thesis submitted for the Doctor of Philosophy (PhD) degree, branch of knowledge – 22 “Health care”, specialty – 222 “Medicine”. – Bogomolets National Medical University, Ministry of Health of Ukraine, 2021.

Annotation content.

The results of dissertation propose to improve the treatment of dyslipidemia and correction of different categories of cardiovascular risk (CVR), evaluated using the validated scales, in patients with dyslipidemia based on the assessment and modification of the enzymatic activity of gut bacterial bile salts hydrolase (BSH) with BSH-producing probiotic strain of *Lactobacillus plantarum*.

The topicality of the thesis is due to the significant contribution of disorders of lipid metabolism to the development and progression of atherosclerotic cardiovascular diseases (CVD) - the leading cause of morbidity and mortality from non-infectious factors in the world. The presence of side effects, high cost and limited access to existing therapeutic approaches in the treatment of dyslipidemia necessitate the investigation of new drugs that may have a hypolipidemic effect with possible further use in clinical practice to modify the CVR.

The aim of the study. Improving the effectiveness of correction of non-fatal and fatal cardiovascular risks based on the assessment of the total activity of gut BSH and its modification in patients with dyslipidemia.

Objectives of the study.

1. To assess the total activity of gut bacterial BSH in almost healthy individuals and in patients with dyslipidemia.
2. To assess the total activity of bacterial BSH of probiotics with BSH-producing strain of *Lactobacillus plantarum*.

3. To assess the total activity of gut bacterial BSH in the dynamic of treatment of the trial's groups.
4. To evaluate the effect of probiotics with BSH-producing strain of *Lactobacillus plantarum* on the levels of lipid profile values.
5. Assess the impact of probiotics with BSH-producing strain of *Lactobacillus plantarum* on the levels of non-fatal and fatal CVR, assessed using validated scales.
6. Develop practical recommendations of the appointment of probiotics with BSH-producing strain of *Lactobacillus plantarum* for the correction of dyslipidemia and non-fatal and fatal CVR, assessed using validated scales.

The dissertation research included 2 stages. The first stage was performed according to a case-control design, during which almost healthy participants and patients with dyslipidemia were selected, whose baseline parameters were determined, lipid profile values and total relative activity of gut bacterial BSH were measured, as well as different cardiovascular risk categories were evaluated using 5 validated scales. The second stage was designed as an open comparative randomized parallel study in which patients with dyslipidemia were divided into two comparison groups and treated with the study drugs for 12 weeks. During the second stage, at certain study time points (4, 8 and 12 weeks), patients of the compared groups were assessed on the lipid profile values, relative total activity of gut bacterial BSH and CVR levels using 5 validated scales.

To solve the objectives of the dissertation, 103 participants aged 22-74 years were included in the study. The control group included 26 healthy individuals aged 22-44 years. The general study group included 77 patients with dyslipidemia and no history of major cardiovascular events (myocardial infarction and acute cerebrovascular accident) aged 40-74 years, who were randomly divided into 2 groups: Group 1 (n = 41) who were treated with combination therapy (capsules with live active culture of *Lactobacillus plantarum* in the amount of 2×10^9 CFU in one capsule - 1 capsule once a day and simvastatin tablets at a dose of 20 mg - 1 tablet once a day);

Group 2 (n = 36), who were treated with monotherapy (tablets of simvastatin at a dose of 20 mg - 1 tablet once a day).

General clinical examinations, biochemical studies of blood plasma, appointment and monitoring of treatment of study participants were conducted on the clinical base of the Department of Internal Medicine №1 of the Bogomolets National Medical University. Laboratory assessment of enzymatic activity of bacterial BSH was performed on the basis of the Laboratory of Bioorganic Chemistry and Molecular Imaging of the Institute of Chemical Sciences and Engineering (Lausanne, Switzerland) based on a memorandum of cooperation with the Department of Internal Medicine №1 from 14.05.2018.

For the evaluation of CVR, 5 validated scales were used, which allowed to assess its various categories: Globorisk – the risk of 10-year mortality from cardiovascular disease; Framingham scale of assessment of 10-year CVR – 10-year risk of non-fatal and fatal cardiovascular events; ACC / AHA algorithm 2013 – assessment of 10-year risk of cardiovascular disease and stroke; PROCAM – 10-year risk of acute coronary events; WHO algorithm – 10-year risk of non-fatal and fatal cardiovascular diseases (myocardial infarction and stroke).

Patients with dyslipidemia showed significantly lower enzymatic activity of gut bacterial BSH ($0,01 \pm 0,05$ U/ml) compared with almost healthy participants ($0,22 \pm 0,12$ U/ml), $p < 0,001$. There was a statistically significant negative correlation of moderate power between the relative activity of gut bacterial BSH and total cholesterol (TC) ($-0,38$, $p < 0,001$) and low-density lipoprotein (LDL) ($-0,36$, $p < 0,001$), as well as the negative correlation of weak power with the coefficient of atherogenicity (CA) ($-0,22$, $p = 0,029$). These results indicate that higher levels of activity of this enzyme were associated with lower levels of directly atherogenic lipoproteins (TC and LDL) and CA. Using the method of constructing of linear regression models, the presence of a linear relationship ($R < 0$, $p < 0,001$) between LDL levels and the relative activity of gut bacterial BSH was detected. One-way logistic regression analysis revealed that with increasing of relative activity of gut bacterial BSH, the risk of dyslipidemia decreases, $OR = 1,06 * 10^{-10}$ (95% CI; $2,5 * 10^{-15} - 4,5 * 10^{-6}$). There was a statistically significant

negative correlation of moderate power between the relative activity of gut bacterial BSH and CVR levels, estimated on the scales: Globorisk (-0,34; $p < 0,01$), Framingham scale (-0,34; $p < 0,01$), ACC/AHA algorithm 2013 (-0,32; $p < 0,01$), PROCAM (-0,35; $p < 0,01$), WHO algorithm (-0,34; $p < 0,01$). These results indicate that higher levels of activity of this enzyme were associated with lower levels of different categories of CVR, evaluated using validated scales.

It was found that the capsules with the probiotic bacteria *Lactobacillus plantarum* in the amount of $2 \cdot 10^9$ CFU in one capsule have a relative activity of bacterial BSH of $1,0006 \pm 0,037$ U/ml compared to $0,033 \pm 0,009$ U/ml of the strain of *Lactobacillus plantarum* with eliminated genes of BSH, $p < 0,05$.

In Group 1, which received combination therapy with the investigational probiotics, and in Group 2, which received only simvastatin, baseline levels of TC, LDL, and CA were found to be significantly higher than after 4, 8, and 12 weeks of treatment, $p < 0,001$ in all comparisons, but without differences between 4 and 8, between 4 and 12 and between 8 and 12 weeks of treatment. This indicates that the therapeutic effect of both treatment regimens in each group separately was observed after 4 weeks and continued until 12 weeks, but it did not increase with increasing of duration of therapy. HDL, TG, and atherogenicity index (AI) levels in each group were not significantly different during the study time points. When comparing the lipid profile values, AI and CA between Group 1 and Group 2, it was found that the levels of TC and LDL were significantly lower in Group 1 after 8 weeks ($p = 0,002$ and $p = 0,016$, respectively) and 12 weeks ($p < 0,001$ and $p = 0,002$, respectively) of investigation. In Group 1, the level of TC after 12 weeks of treatment decreased on average by $24.4 \pm 12.5\%$ compared with Group 2 ($12.9 \pm 15\%$), $p < 0,001$; the level of LDL in Group 1 after 12 weeks of the study decreased on average by 28.3% (23.4% - 38.5%) compared with Group 2 (18.4% (7.2% - 27.1%)), $p < 0,001$. It was shown that the frequency of achieving the goal of treatment ($\geq 20\%$ reduction) relative to the reduction of TC levels in Group 1 was 63,4% compared to 27,8% in Group 2, OR=2,28 (95% CI; 1,28-4,06), $p = 0,004$; relative to the decrease of LDL levels in Group 1 was 85,4% compared with 41,7% in Group 2, OR=2,05 (95% CI; 1,36-3,08), $p < 0,001$.

At week 12 of the study, it was shown that in Group 1 the levels of relative activity of gut bacterial BSH were significantly higher than baseline, $p < 0,001$. In Group 2, the levels of relative activity of this enzyme at 12 weeks of the study did not differ from baseline, $p = 0,53$. It was shown that after 12 weeks of treatment, the values of relative activity of BSH were not statistically significantly different between the control group and Group 1 ($p = 0,45$), but significantly different between the control and Group 2, and between Group 1 and Group 2 ($p < 0,01$ in both comparisons).

The constructed one-factor models of logistic regression showed that with increasing of relative activity of gut bacterial BSH, the risk of failure to achieve the treatment goal relative to 20% or more reduction of TC decreases, $OR=0,00133$ (95% CI; $3,28 \cdot 10^{-6}$ - $0,538$); relative to LDL - decreases, $OR=5,65 \cdot 10^{-14}$ (95% CI; $6,38 \cdot 10^{-20}$ - $5 \cdot 10^{-8}$). This means that the greater the activity of this enzyme, the higher the chance to achieve the final effect of treatment in terms of reducing of TC and LDL.

Baseline levels of CVR, assessed using all 5 risk scales, in Group 1 and Group 2 separately were significantly higher compared to levels after 4, 8 and 12 weeks of treatment, $p < 0,001$ in all comparisons. In Group 1, the CVR levels on 4 scales, except for the WHO algorithm, did not differ between 4 and 8, between 4 and 12 and between 8 and 12 weeks of treatment, and according to the WHO algorithm after 12 weeks the CVR level was lower than after 4 and 8 weeks, $p < 0,001$ in both comparisons, but there was no significant difference between 4 and 8 weeks. In Group 2, CVR levels on all scales did not differ between 4 and 8, between 4 and 12, and between 8 and 12 weeks of treatment. This indicates that in each group during different study time points there was a decrease in CVR levels. A comparison between Group 1 and Group 2 over the study time points showed that the absolute level of CVR on the PROCAM scale after 12 weeks in Group 1 was statistically significantly lower than in Group 2, $p = 0,004$. This indicates that the combination treatment with simvastatin and a probiotic with BSH-producing *Lactobacillus plantarum* was more effective in reducing the absolute level of CVR on the PROCAM scale compared to monotherapy with simvastatin. However, this was not observed on other CVR scales. In Group 1, the dynamics of reduction of cardiovascular risk levels (as a percentage) on all 5 validated scales after

12 weeks of treatment was statistically significantly more pronounced compared to Group 2. On average, the CVR level on the Globorisk scale decreased by $18,87 \pm 13,59\%$ in the first group compared to $11,35 \pm 12,04\%$ in the second group; according to the Framingham scale – by 26% (17,5%-41%) and 9,8% (-2%-25%), respectively; according to the ACC/AHA algorithm 2013 – by 20% (5,87% -34%) and 7% (-1,85%-20,78%), respectively; according to the PROCAM scale – by 23% (14,58% -27,7%) and 7% (0% -19%), respectively; according to the WHO algorithm - by $21,47 \pm 11,34\%$ and $12,18 \pm 13,72$, respectively. It was found that the frequency of achieving the treatment goal – reducing of cardiovascular risk levels by $\geq 20\%$ according to:

- 1) The Framingham scale in Group 1 was 70,7% compared with 33,3% in Group 2, OR=2,12 (95% CI; 1,28-3,51), $p = 0,003$;
- 2) ACC/AHA algorithm 2013 was 51,2% in Group 1 compared to 25% in Group 2, OR=2,05 (95% CI; 1,08-3,88), $p = 0,035$;
- 3) PROCAM scale was 65,9% in Group 1 compared to 25% in Group 2, OR=2,63 (95% CI; 1,44-4,83), $p < 0,001$;
- 4) WHO algorithm was 56,1% in the Group 1 compared to 25% in Group 2, OR=2,24 (95% CI; 1,2-4,2), $p = 0,012$.

The frequency of achieving the treatment goal of reducing the CVR level on the Globorisk scale did not differ statistically significantly between Group 1 and Group 2.

The constructed one-factor models of logistic regression showed that with increasing of relative activity of gut bacterial BSH, the risk of failure to achieve the treatment goal relative to 20% or more decrease in CVR levels decreases according to: Framingham scale, OR= $4,09 \cdot 10^{-5}$ (95% CI; $4,66 \cdot 10^{-8}$ - 0,0359); ACC/AHA algorithm 2013, OR= $3,8 \cdot 10^{-4}$ (95% CI; $7,34 \cdot 10^{-7}$ -0,197); PROCAM, OR= $8,38 \cdot 10^{-6}$ (95% CI; $6,93 \cdot 10^{-9}$ - 0,0101). According to the Globorisk scale and the WHO algorithm, no such relationship was found.

Scientific novelty of the obtained results. For the first time, the enzymatic activity of gut bacterial bile salt hydrolase was studied in a clinical trial with healthy participants and patients with dyslipidemia. For the first time, an association was found

between the risk of dyslipidemia and the overall activity of gut bacterial BSH in a clinical trial. For the first time, a correlation was found between different categories of CVR, evaluated using validated scales, and the overall activity of gut bacterial BSH in a clinical study. It was clarified and expanded the data regarding the role of bacterial BSH in cholesterol metabolism, development and progression of dyslipidemia; regarding the enzymatic activity of BSH of probiotic strain *Lactobacillus plantarum*; regarding the clinical efficacy of probiotics with BSH-producing strain *Lactobacillus plantarum* in the correction of dyslipidemia and achieving therapeutic goals of its correction. For the first time, an association was found between the overall activity of gut bacterial BSH and the risk of failure to achieve the efficacy endpoints of dyslipidemia treatment. The role of probiotic capsules with BSH-producing strain *Lactobacillus plantarum* in the modification of CVR, evaluated using validated scales, and the achievement of therapeutic goals of its modification was studied for the first time. For the first time, an association was found between the overall activity of gut bacterial BSH and the risk of failure to achieve the efficacy endpoints of the modification of different categories of CVR, assessed by validated scales.

The practical significance of the results. Based on the results of the dissertation research, the expediency of laboratory determination of the total activity of gut bacterial BSH in almost healthy people and patients with dyslipidemia was scientifically substantiated in order to:

- 1) risk assessment of dyslipidemia;
- 2) assessment of the risk of failure to achieve the efficacy endpoints of treatment of dyslipidemia, namely the reduction of levels of TC and LDL;
- 3) assessment of the risk of failure to achieve the efficacy endpoints of modification of different categories of the CVR, assessed using validated scales.

Before prescribing probiotic drugs, it is advisable to determine the enzymatic activity of the bacterial BSH of these drugs in order to select potentially the most effective strains of probiotic bacteria for the subsequent correction of dyslipidemia and CVR.

Practical recommendations for the use of probiotic drugs with BSH-producing strain *Lactobacillus plantarum* as an additional hypolipidemic therapy to correct dyslipidemia and various categories of CVR, evaluated using validated scales, were developed. It is advisable to use capsules containing *Lactobacillus plantarum* in the amount of 2×10^9 CFU in one capsule (1 capsule 1 time per day) in combination with statins for at least 12 weeks to increase clinical efficacy.

Conclusions.

The dissertation theoretically substantiated and proposed a new practical approach to solving the current problem of internal medicine - improving the treatment of dyslipidemia and correction of cardiovascular risk based on evaluating the enzymatic activity of intestinal bacterial BSH and its modification with BSH-expressing probiotic with *Lactobacillus plantarum*.

1. The relative total activity of gut bacterial BSH was significantly higher in almost healthy participants compared with patients with dyslipidemia ($0,01 \pm 0,05$ U/ml vs. $0,22 \pm 0,12$ U/ml). The relative activity of gut bacterial BSH was negatively correlated with TC, LDL (with a linear relationship), CA, and CVR levels estimated on 5 scales. A negative association was found between the risk of dyslipidemia and the relative activity of gut bacterial BSH.
2. Capsules with the investigated probiotic bacteria *Lactobacillus plantarum* had more than 30 times greater enzymatic activity of BSH compared to the strain of these bacteria with eliminated BSH genes ($1,0006 \pm 0,037$ U/ml vs. $0,033 \pm 0,009$ U/ml).
3. The combination of simvastatin and capsules with *Lactobacillus plantarum* after 12 weeks of treatment led to significant increase in the activity of gut bacterial BSH ($0,2 \pm 0,07$ U/ml) compared to baseline ($0,1$ ($0,06-0,14$) U/ml) and to simvastatin monotherapy ($0,1 \pm 0,06$ U/ml).
4. The combination of simvastatin and capsules with *Lactobacillus plantarum* was more effective in reducing of TC, LDL, from 8 to 12 weeks (on average by $24,4 \pm 12,5\%$ and $28,3\%$ ($23,4\% - 38,5\%$) after 12 weeks, respectively)

compared with simvastatin monotherapy (on average by $12.9 \pm 15\%$ and $18,4\%$ ($7,2\%$ - $27,1\%$) after 12 weeks, respectively). Combination treatment was more than 2 times more effective in achieving the treatment efficacy endpoints: $\geq 20\%$ reduction in TC and LDL. The increase in the relative activity of gut bacterial BSH was associated with a higher chance to achieve the goals of therapy.

5. The combination of simvastatin and capsules with *Lactobacillus plantarum* was significantly more effective in reducing the CVR level on the PROCAM scale after 12 weeks of study compared with simvastatin monotherapy (37 (31-41) points versus 45,5 (38-50,5) points). The dynamics of the decrease in CVR levels on all 5 scales after 12 weeks was significantly more pronounced in patients on combination therapy. Combination therapy was more than twice as effective in achieving the goals of therapy: $\geq 20\%$ reduction in CVR levels on all scales except Globorisk. The increase in the relative activity of gut bacterial BSH was associated with a higher chance to achieve the efficacy endpoints of therapy with respect to the modification of the CVR according to the Framingham scale, ACC/AHA algorithm 2013 and PROCAM scale.
6. In addition to the average doses of statins (20 mg of simvastatin 1 time per day) appointment of probiotic capsules with *Lactobacillus plantarum* in the amount of $2 \cdot 10^9$ CFU in one capsule (1 capsule once a day) for at least 12 weeks leads to better correction of dyslipidemia, modification of 10-year risk of acute coronary events on the PROCAM scale, accelerating the rate of modification of non-fatal and fatal CVR on all scales, as well as achieving certain treatment goals.

The results of the dissertation research are introduced into the educational process (lectures and practical classes) of Bogomolets National Medical University at the Department of Internal Medicine № 1 for students of 5th and 6th years of study, in the medical practice of therapeutic and gastroenterological departments of Kyiv City Clinical Hospital №18, MC «RCLIN UKRAINE» LLC «КАРДІОКОМ».

Key words: dyslipidemia, cardiovascular risk, validated risk scales, probiotic bacteria, *Lactobacillus plantarum*, bile salt hydrolase.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Шипулін ВП, Чернявський ВВ, Неверовський АВ, та інші. Гіполіпідемічна ефективність пробіотика *Lactobacillus plantarum* у пацієнтів з ішемічною хворобою серця. Український терапевтичний журнал. 2018;3(4):27-33. *(Автором формувались концепція та дизайн дослідження, проводилось обстеження пацієнтів, аналіз та узагальнення результатів, статистична обробка результатів, написання тексту статті).*
2. Neverovskyi A, Chernyavskyi V, Shypulin V, et al. Gut bacterial bile salt hydrolase activity correlates with cardiovascular risk: a case-control study. *Gastroenterologia*. 2020;54(4):228-223. doi: 10.22141/2308-2097.54.4.2020.216711. *(Автором формувались концепція та дизайн дослідження, проводилось обстеження пацієнтів та збір матеріалу, аналіз та інтерпретація отриманих результатів, статистична обробка результатів, написання тексту статті).*
3. Neverovskyi A, Chernyavskyi V, Shypulin V, et al. Modification of gut bacterial bile salt hydrolase activity and cardiovascular risk: a randomized study. *Ukrainian Scientific Medical Youth Journal*. 2020;3(117):36-45. doi: 10.32345/USMYJ.3(117).2020.36-45. *(Автором формувались концепція та дизайн дослідження, проводилось обстеження пацієнтів та збір матеріалу, аналіз та інтерпретація отриманих результатів, статистична обробка результатів, написання тексту статті).*
4. Neverovskyi A, Chernyavskyi V, Shypulin V, et al. Probiotic *Lactobacillus plantarum* may reduce cardiovascular risk: An experimental study. *ARYA Atheroscler* 2021; 17: 2156. doi: 10.22122/arya.v17i0.2156. *(Автором формувались концепція та дизайн дослідження, проводилось обстеження пацієнтів та збір матеріалу, аналіз та інтерпретація отриманих результатів, статистична обробка результатів, написання тексту статті).*

ОПУБЛІКОВАНІ ПРАЦІ АПРОБАЦІЙНОГО ХАРАКТЕРУ

1. Neverovskyi A. Relative activity of gut bacterial bile salt hydrolase and dyslipidemia: in vivo human study [abstract P1001]. United European Gastroenterol J. 2020;8(8S):656. doi:10.1177/2050640620927330.
2. Неверовський А. Застосування пробіотичних бактерій *L. plantarum* в корекції дисліпідемії та серцево-судинного ризику. У: Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Щорічні терапевтичні читання. Неінфекційні захворювання: профілактика та зміцнення здоров'я України»; 22-23 квітня, 2021; Харків.
3. Неверовський А. В. Ефективність пробіотичних бактерій *L. plantarum* у досягненні цілей терапії дисліпідемії та модифікації серцево-судинного ризику. *Gastroenterologia*. 2021;55(2):140-141.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	27
ВСТУП.....	29
РОЗДІЛ 1. БАКТЕРІАЛЬНА ГІДРОЛАЗА СОЛЕЙ ЖОВЧНИХ КИСЛОТ: РОЛЬ В МЕТАБОЛІЗМІ ХОЛЕСТЕРИНУ В НОРМІ, ПРИ ПАТОЛОГІЇ ТА ШЛЯХИ ЗАСТОСУВАННЯ В КЛІНІЧНІЙ ПРАКТИЦІ (огляд літератури)	37
1.1. Роль бактеріальної гідролази солей жовчних кислот в обміні холестерину.....	37
1.2. Бактеріальна гідролаза солей жовчних кислот: таксономічний профіль людського кишкового мікробіому та взаємозв'язок із захворюваннями.	40
1.3. Використання гідролази солей жовчних кислот з метою корекції дисліпідемії та ССР: <i>in vitro</i> та <i>in vivo</i> еспериментальні дослідження.	42
1.4. Роль ГСЖК-продукуючих штамів пробіотичних бактерій в корекції дисліпідемії та ССР: дані клінічних досліджень.....	46
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	52
2.1. Загальна характеристика клінічного матеріалу та програма досліджень.	52
2.2. Методи дослідження.....	60
РОЗДІЛ 3. ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ФЕРМЕНТАТИВНОЇ АКТИВНОСТІ КИШКОВОЇ БАКТЕРІАЛЬНОЇ ГІДРОЛАЗИ СОЛЕЙ ЖОВЧНИХ КИСЛОТ, ДИСЛІПІДЕМІЇ ТА СЕРЦЕВО-СУДИННОГО РИЗИКУ	65
РОЗДІЛ 4. ЕФЕКТИВНІСТЬ ПРОБІОТИКУ НА ОСНОВІ <i>LACTOBACILLUS PLANTARUM</i> У КОРЕКЦІЇ ДИСЛІПІДЕМІЇ, МОДИФІКАЦІЇ ВІДНОСНОЇ АКТИВНОСТІ КИШКОВОЇ БАКТЕРІАЛЬНОЇ ГСЖК ТА ДОСЯГНЕННЯ КІНЦЕВИХ ЗМІННИХ ЕФЕКТИВНОСТІ ТЕРАПІЇ ДИСЛІПІДЕМІЇ.....	75
4.1. Гіполіпідемічна ефективність порівнюваних схем лікування.....	78
4.2. Вплив пробіотичних бактерій <i>Lactobacillus plantarum</i> на модифікацію відносної активності кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот.	86
4.3. Досягнення кінцевих змінних ефективності корекції дисліпідемії.	90
РОЗДІЛ 5. ЕФЕКТИВНІСТЬ ПРОБІОТИКУ НА ОСНОВІ <i>LACTOBACILLUS PLANTARUM</i> У КОРЕКЦІЇ РІЗНИХ КАТЕГОРІЙ СЕРЦЕВО-СУДИННОГО РИЗИКУ ТА ДОСЯГНЕННЯ КІНЦЕВИХ ЗМІННИХ ЕФЕКТИВНОСТІ ЇХ КОРЕКЦІЇ.....	96
5.1. Ефективність порівнюваних схем лікування у модифікації різних категорій серцево-судинного ризику.....	101
5.2. Досягнення кінцевих змінних ефективності модифікації різних категорій серцево-судинного ризику.	110
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ РОБОТИ.....	119

ВИСНОВКИ	136
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	138
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	139
ДОДАТКИ.....	158

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АГ – артеріальна гіпертензія

АЛТ – аланінамінотрансфераза

АСТ – аспартатамінотрансфераза

АТ – артеріальний тиск

ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я

ВШ – відношення шансів

ГГТП – гамаглутамілтранспептидаза

ГМГ-КоА-редуктаза - 3-гідроксиметил-3-глутаріл-КоА-редуктаза

ГПМК – гостре порушення мозкового кровообігу

ГСЖК – гідролаза солей жовчних кислот

ДАТ – діастолічний артеріальний тиск

ДІ – довірчий інтервал

ЖК – жовчні кислоти

ЗССС – захворювання серцево-судинної системи

ЗХ – загальний холестерин

ІА – індекс атерогенності

ІМТ – індекс маси тіла

ІС – інсулінорезистентність

КА – коефіцієнт атерогенності

КФК – креатинфосфокіназа

ЛПВЩ – ліпопротеїни високої щільності

ЛПНЩ – ліпопротеїни низької щільності

ЛФ – лужна фосфатаза

САТ – систолічний артеріальний тиск

ССР – серцево-судинний ризик

ТГ – тригліцериди

УЕРХ-МС – ультраефективна рідинна хроматографія із масс-спектрометрією

ЦД – цукровий діабет

ШКФ – швидкість клубочкової фільтрації

CYP7A1 – холестерин 7 альфа-гідроксилаза

FXR – фарнезоїдний рецептор X

NPC1L1 - кишковий транспортер холестерину Німана-Піка С1 типу 1

PCSK9 – пропротеїнова конвертаза субтилізин-кексинового типу 9

ВСТУП

Захворювання серцево-судинної системи (ЗССС), включаючи коронарну хворобу серця, гострі порушення мозкового кровообігу, захворювання периферичних артерій та інші судинні захворювання є найбільш важливими та провідними причинами захворюваності та смертності від неінфекційних чинників у світі [1, 2]. Більше 17 мільйонів смертей щорічно спричинені ЗССС, понад 75% з яких спостерігаються у країнах, що розвиваються [3]. При цьому в Європі на їх долю припадає 45% смертей, а більш високі цифри характерні для країн Центральної та Східної Європи, включаючи Україну [4, 5].

На розвиток та прогресування атеросклеротичних серцево-судинних захворювань як головного варіанту ЗССС [6] впливає ряд чинників ризику. Дисліпідемія, ожиріння, інсулінорезистентність (ІС) та цукровий діабет (ЦД) 2 типу, артеріальна гіпертензія (АГ), куріння, стать, вік тощо мають різний вплив на серцево-судинний ризик (ССР) [7]. Дисліпідемія, особливо гіперхолестеринемія внаслідок підвищення загального холестерину (ЗХ) та ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ), є причинним та одним із найвпливовіших чинників ризику ЗССС [8, 9]. Попередні дослідження свідчать, що зниження ЛПНЩ на кожен 1 ммоль/л призводить до відповідного зменшення ризику нефатальних та фатальних серцево-судинних подій на 21% - 29,8% [10, 11]. З метою корекції ССР в клінічній практиці для прийняття рішення щодо призначення лікування дисліпідемії та моніторингу його ефективності застосовуються різноманітні шкали, що дозволяють оцінити ризики нефатальних та фатальних серцево-судинних подій [2, 12-15].

Згідно сучасних вітчизняних [16] та міжнародних клінічних рекомендацій та настанов [9, 17], існують різні варіанти лікування дисліпідемії з основною метою зниження рівня ЛПНЩ. Немедикаментозні заходи (зниження ваги тіла, відмова від паління, фізичні навантаження тощо) слід рекомендувати всім пацієнтам незалежно від рівня ССР. Але ці рекомендації можуть бути ефективними у разі низького та середнього ССР. Інші пацієнти з більш високим рівнем ССР потребують додаткового призначення медикаментів. Статини,

езетиміб та інгібітори PCSK9 – основні препарати для зниження рівня ЛПНЩ. Для досягнення цілей лікування рекомендується застосовувати високоінтенсивну терапію статинами та їх комбінації з езетимібом та інгібіторами PCSK9. Але можливі побічні ефекти статинів та інших препаратів, висока вартість представників нових класів, малодоступність на фармацевтичному ринку обмежують практичне застосування такого клінічного підходу. Отже, існує потреба у дослідженні нових засобів, що потенційно матимуть гіполіпідемічний ефект, з можливим подальшим використанням у клінічній практиці для модифікації ССР.

Останні дослідження *in vitro* [18-20], *in vivo* на тваринних моделях [21-24] та клінічні дослідження за участі людей [25, 26] виявили потенційний ліпід-знижувальний ефект різних штамів пробіотичних бактерій. Особливий інтерес представляють бактерії, що синтезують гідролазу солей жовчних кислот (ГСЖК), наприклад *Lactobacilli*, ефект яких переважно обумовлений ферментною активністю ГСЖК [27-29]. Бактеріальна ГСЖК шляхом декон'югації первинних жовчних кислот (ЖК) у кишечнику у вторинні призводить до зменшення реабсорбуючого пулу ЖК, що згодом стимулює в печінці *de novo* синтез ЖК з вільного холестерину плазми [30-32]. Таким чином забезпечується гіпохолестеринемічний ефект ГСЖК-продукуючих бактерій. До того ж, якісний та кількісний склад людського мікробіому та його корекція пробіотиками, за попередніми даними, здатні модифікувати ліпід-знижувачу ефективність статинів [33, 34].

Але літературних даних, особливо клінічних досліджень, відносно особливостей впливу ГСЖК-продукуючих бактерій на рівень ліпопротеїдів плазми крові недостатньо, та в частині випадків вони є суперечливими, що на сьогодні обмежує їх використання в клінічній практиці. Під час літературного пошуку не було знайдено жодних даних щодо зв'язку між ліпід-знижувачим ефектом пробіотичних бактерій та ССР, оціненим за допомогою валідованих шкал ризику. Це зумовлює мету та завдання дослідження.

Мета дослідження. Підвищення ефективності корекції нефатального та фатального серцево-судинного ризиків на основі вивчення загальної активності кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот та її модифікації у пацієнтів з дисліпідемією.

Задачі дослідження.

1. Визначити загальну активність кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот у практично здорових осіб та у пацієнтів з дисліпідемією.
2. Визначити загальну активність бактеріальної гідролази солей жовчних кислот пробіотичних препаратів на основі ГСЖК-продукуючого штаму *Lactobacillus plantarum*.
3. Оцінити загальну активність кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот в динаміці лікування досліджуваних груп.
4. Оцінити вплив пробіотичних препаратів на основі ГСЖК-продукуючого штаму *Lactobacillus plantarum* на рівні показників ліпідограми.
5. Оцінити вплив пробіотичних препаратів на основі ГСЖК-продукуючого штаму *Lactobacillus plantarum* на рівні ризиків нефатальних та фатальних серцево-судинних подій, оцінених за валідованими шкалами.
6. Розробити практичні рекомендації щодо призначення пробіотичних препаратів на основі ГСЖК-продукуючих штамів *Lactobacilli* для корекції дисліпідемії та нефатального та фатального серцево-судинного ризиків, оцінених за валідованими шкалами.

Об'єкт дослідження: ферментативна активність бактеріальної гідролази солей жовчних кислот у кишківнику пацієнтів з дисліпідемією та пробіотичних капсулах із *Lactobacillus plantarum*.

Предмет дослідження: взаємозв'язок загальної активності кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот, показників обміну холестерину

та рівнів чинників серцево-судинного ризику у пацієнтів з дисліпідемією в динаміці лікування.

Методи дослідження.

1. Загальноклінічні обстеження, включаючи визначення індексу маси тіла (ІМТ).
2. Лабораторні: загальний аналіз крові, біохімічний аналіз крові (АЛТ, АСТ, загальний білірубін, ГГТП, ЛФ, КФК, креатинін, показники обміну глюкози), ліпідограма (ЗХ, ЛПНЩ, ЛПВЩ, ТГ, КА, ІА).
3. Ультраефективна рідинна хроматографія із мас-спектрометрією (УЕРХ-МС) зразків калу та пробіотичних препаратів на основі ГСЖК-продукуючого штаму *Lactobacillus plantarum* на визначення загальної активності бактеріальної гідролази солей жовчних кислот.
4. Розрахунок ризиків нефатальних та фатальних серцево-судинних подій за шкалами: Globorisk [12], Фремінгемська шкала оцінки 10-річного ССР [13], ACC/АНА алгоритм оцінки 10-річного ризику серцево-судинних захворювань та інсульту [14], Шкала PROCAM [15], алгоритм ВООЗ оцінки ССР [2].
5. Статистична обробка отриманих даних в статистичному пакеті IBM SPSS Statistics Base v.22 for Windows.

Наукова новизна отриманих результатів.

Вперше в клінічному дослідженні за участі здорових учасників та пацієнтів з дисліпідемією вивчалась ферментативна активність кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот.

Вперше було виявлено зв'язок між ризиком дисліпідемії та загальною активністю кишкової бактеріальної ГСЖК у клінічному дослідженні за участі людей.

Вперше було виявлено кореляційний зв'язок між різними категоріями серцево-судинного ризику, оціненого за валідованими шкалами, та загальною активністю кишкової бактеріальної ГСЖК у клінічному дослідженні за участі людей.

Були уточнені та доповнені дані стосовно ролі бактеріальної ГСЖК у обміні холестерину, розвитку та прогресуванні дисліпідемії.

Були уточнені та доповнені дані стосовно ферментативної активності гідролази солей жовчних кислот пробіотичного штаму *Lactobacillus plantarum*.

Були доповнені дані стосовно клінічної ефективності пробіотичних препаратів на основі ГСЖК-продукуючого штаму *Lactobacillus plantarum* в корекції дисліпідемії та досягненні терапевтичних цілей її корекції.

Вперше було виявлено зв'язок між загальною активністю кишкової бактеріальної ГСЖК та ризиком недосягнення кінцевих точок ефективності лікування дисліпідемії.

Вперше було вивчено роль пробіотичних капсул на основі ГСЖК-продукуючого штаму *Lactobacillus plantarum* в модифікації серцево-судинного ризику, оціненого за валідованими шкалами ризику, та досягненні терапевтичних цілей його модифікації.

Вперше було виявлено зв'язок між загальною активністю бактеріальної ГСЖК та ризиком недосягнення кінцевих точок ефективності модифікації різних категорій серцево-судинного ризику, оціненого за валідованими шкалами.

Практичне значення отриманих результатів.

На основі результатів дисертаційного дослідження було науково обґрунтовано доцільність лабораторного визначення загальної активності кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот у практично здорових людей та пацієнтів з дисліпідемією з метою:

- 1) оцінки ризику дисліпідемії;
- 2) оцінки ризику недосягнення кінцевих точок ефективності лікування дисліпідемії, а саме зниження рівнів ліпопротеїнів низької щільності та загального холестерину;
- 3) оцінки ризику недосягнення кінцевих точок ефективності модифікації різних категорій серцево-судинного ризику, оціненого за валідованими шкалами.

Перед призначенням пробіотичних препаратів доцільно визначати ферментативну активність бактеріальної гідролази солей жовчних кислот даних препаратів з метою селекції потенційно найбільш ефективних штамів пробіотичних бактерій відносно корекції дисліпідемії та серцево-судинного ризику.

Розроблено практичні рекомендації щодо застосування пробіотичних препаратів на основі ГСЖК-продукуючого штаму *Lactobacillus plantarum* як додаткової гіполіпідемічної терапії з метою корекції дисліпідемії та модифікації різних категорій серцево-судинного ризику, оціненого за валідованими шкалами. Доцільно використовувати капсули із вмістом *Lactobacillus plantarum* $2 \cdot 10^9$ КУО в одній капсулі (1 капсула 1 раз на добу) у комбінації із препаратами статинів протягом не менше 12 тижнів для збільшення клінічної ефективності, що теоретично може бути доцільним при наявності протипоказань до високих доз статинів або відмові пацієнтів збільшувати їх дози через вірогідні побічні ефекти.

Впровадження результатів дослідження у практику.

Результати дисертаційного дослідження впроваджені в навчальний процес (лекції та практичні заняття) Національного медичного університету імені О. О. Богомольця на кафедрі внутрішньої медицини №1 для студентів 5 та 6 курсів навчання, в лікувальну практику терапевтичного та гастроентерологічного відділень КНП «Київська міська клінічна лікарня №18», МЦ «RCLIN UKRAINE» ТОВ «КАРДІОКОМ».

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

Дисертаційна робота була виконана в рамках дослідницького напрямку кафедри та є фрагментом науково-дослідної теми кафедри внутрішньої медицини №1 Національного медичного університету імені О. О. Богомольця «Оптимізація діагностики та лікування органів травної системи в умовах коморбідності» (№ держреєстрації НДР - 0119U100576).

Особистий внесок здобувача.

Дисертаційне дослідження виконано особисто автором на базі кафедри внутрішньої медицини №1 Національного медичного університету імені О. О. Богомольця. Лабораторне визначення ферментативної активності бактеріальної гідролази солей жовчних кислот виконувалось співробітниками лабораторії біоорганічної хімії і молекулярної візуалізації Інституту хімічних наук та інженерії, Лозанна, Швейцарія (меморандум про співробітництво із кафедрою внутрішньої медицини №1 від 14.05.2018). Автором спільно з науковим керівником було сформульовано тему, мету, завдання та дизайн дисертаційного дослідження. Клінічні обстеження учасників дослідження проводились як самим автором, так і співавторами опублікованих за темою дослідження наукових праць. Курація пацієнтів від моменту скринінгу, встановлення діагнозу з призначенням відповідного лікування, наступного моніторингу до закінчення клінічного дослідження здійснювалась особисто автором. Здобувачем самостійно було проведено аналіз наукової літератури, збір та наступну статистичну обробку отриманих клінічних даних учасників дослідження, аналіз та узагальнення результатів дослідження. Автором самостійно підготовлено та представлено результати дослідження в постерних презентаціях та доповідях на міжнародних та вітчизняних наукових форумах та конференціях. Автором не використовувались ідеї та розробки інших науковців без зазначення відповідних посилань. Дисертаційне дослідження є особистою працею здобувача.

Апробація результатів дисертації.

Результати дисертаційної роботи було представлено на наступних міжнародних та вітчизняних наукових форумах та конференціях: «UEG Week Virtual 2020» - онлайн, 11 жовтня 2020 р. (постерна презентація та публікація тез); «VIII наукова сесія Інституту гастроентерології НАМН України. Новітні технології в теоретичній та клінічній гастроентерології» - м. Дніпро, 26-27 листопада 2020 р. (постерна презентація); «Щорічні терапевтичні читання. Неінфекційні захворювання: профілактика та зміцнення здоров'я України» - м. Харків, 22-23 квітня 2021 р. (публікація тез); «Українська фахова on-line школа. Хронічні хвороби печінки, ентеропатії, коморбідна патологія» - онлайн, 16-17

червня 2021 р. (усна доповідь); «ІХ наукова сесія Інституту гастроентерології НАМН України. Новітні технології в теоретичній та клінічній гастроентерології» - м. Дніпро, 17-18 червня 2021 р. (публікація тез). Дисертаційну роботу було апробовано на засіданні кафедри внутрішньої медицини №1 та фаховому семінарі Національного медичного університету імені О. О. Богомольця (2021р.).

Публікації.

За матеріалами дисертаційної роботи було опубліковано 4 наукових статті: 3 у наукових фахових виданнях України, 1 у закордонному виданні, що індексується у наукометричній базі даних Scopus та віднесене до третього квартилю (Q3) відповідно до класифікації SCImago Journal and Country Rank або Journal Citation Reports. Додатково опубліковано 3 тез у збірках матеріалів конференцій та наукових форумів.

Структура та обсяг дисертації.

Дисертаційна робота представлена українською мовою на 163 сторінках друкованого тексту та складається з наступних частин: вступ, огляд літератури, матеріали та методи, три розділи з викладенням результатів власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів роботи, висновки, практичні рекомендації, список використаних джерел та додатки. В роботі представлено 37 рисунків та 30 таблиць.

РОЗДІЛ 1

БАКТЕРІАЛЬНА ГІДРОЛАЗА СОЛЕЙ ЖОВЧНИХ КИСЛОТ: РОЛЬ В МЕТАБОЛІЗМІ ХОЛЕСТЕРИНУ В НОРМІ, ПРИ ПАТОЛОГІЇ ТА ШЛЯХИ ЗАСТОСУВАННЯ В КЛІНІЧНІЙ ПРАКТИЦІ (огляд літератури).

1.1. Роль бактеріальної гідролази солей жовчних кислот в обміні холестерину.

Рівень холестерину в сироватці крові підтримується головним чином шляхом *de novo* синтезу в печінці та частково всмоктуванням харчового холестерину в кишечнику, а також шляхом біліарної екскреції із жовчними кислотами та використанням для потреб клітин [35-37]. Щойно синтезований в печінці холестерин необхідний для подальшого формування клітинних мембран, продукування стероїдних гормонів, первинних жовчних кислот та провітаміну Д [35, 37-39].

Для синтезу первинних жовчних кислот потребується велика частка сироваткового холестерину – орієнтовно 50% відсотків його денного обороту, що призводить до синтезу 500 мг первинних ЖК [35, 38, 40, 45]. Результатом класичного та альтернативного метаболічних шляхів в печінці є утворення двох первинних жовчних кислот – холієвої та хенодезоксихолієвої ЖК, які після кон'югації з гліцином та таурином у вигляді солей жовчних кислот потрапляють у дванадцятипалу кишку через жовчовивідні шляхи у складі жовчі. Надалі деяка частина первинних ЖК (до 5%) пасивно всмоктується у верхніх відділах кишечника, але більшість (до 95%) потрапляють до клубової та товстої кишок. В останніх відбувається реабсорбція первинних ЖК шляхом активного транспорту в порталний кровообіг та відповідно печінку, таким чином формуючи ентерогепатичну циркуляцію жовчних кислот. Однак в нижніх відділах кишечника, окрім реабсорбції, відбувається декон'югація (гідроліз) солей первинних ЖК у вторинні – дезоксихолеву та літохалеву ЖК, переважно внаслідок ферментативної активності бактеріальної гідролази солей жовчних

кислот (також відома як холоїлгліцин-гідролаза). Вторинні ЖК є менш розчинними і тому виводяться із калом, зменшуючи таким чином пул жовчних кислот ентерогепатичної циркуляції. [37, 40-44]. Це в свою чергу через негативний зворотній зв'язок стимулює в печінці синтез первинних ЖК з вільного холестерину плазми крові для підтримки балансу пулу жовчних кислот. Одним з механізмів даного процесу є збільшення експресії гепатоцитами рецепторів до ЛПНЩ, наслідком чого є захоплення ЛПНЩ та ЗХ із плазми крові [45]. При цьому також певне значення має вплив ЖК на розташовані на ентероцитах кишкові FXR-рецептори (фарнезоїдний рецептор X – farsenoid X receptor). Точний механізм та наслідки дії FXR до кінця не з'ясовані, однак відомо, що активація FXR веде до зниження утворення первинних ЖК в печінці шляхом зниження активності холестерин 7 альфа-гідроксилази (CYP7A1) – основного ферменту класичного шляху, необхідного для конвертування холестерину в первинні ЖК [46]. Відповідно, інактивація FXR призводить до протилежного ефекту – підвищення активності CYP7A1 та синтезу первинних ЖК. Однак відомо, що різні ЖК мають різний вплив на активацію або блокування FXR [47-49]. Крім того, декон'юговані ЖК є менш ефективними емульсифікаторами ліпідів і не формують стабільних міцел, необхідних для всмоктування холестерину з кишківника, а також додатково ко-преципітують з холестерином, що унеможлиблює його подальше всмоктування [50].

Схематично взаємозв'язок між обміном жовчних кислот, ферментативною активністю бактеріальної ГСЖК, сироватковим холестерином та відповідними рецепторами та ферментами представлено на Рис.1.1. [51] та Рис.1.2. [52].

Отже, ферментативна активність гідролази солей жовчних кислот, що синтезується представниками кишкової бактеріальної мікрофлори, шляхом зниження пулу первинних ЖК та підвищення рівня вторинних їх форм, опосередковано через негативний зворотній зв'язок, модуляцію активності рецепторів FXR, ферменту CYP7A1 та рецепторів до ліпопротеїнів низької щільності впливає на продукцію первинних жовчних кислот із вільного холестерину, який захоплюється гепатоцитами із плазми крові, а також

додатково зменшує всмоктування дієтичного холестерину з кишечника. Таким чином, існує непрямий зв'язок між активністю кишкової бактеріальної ГСЖК та рівнем сироваткового холестерину. Це обґрунтовує доцільність та перспективність подальших досліджень їх взаємозв'язку для потенційного використання в клінічній практиці.

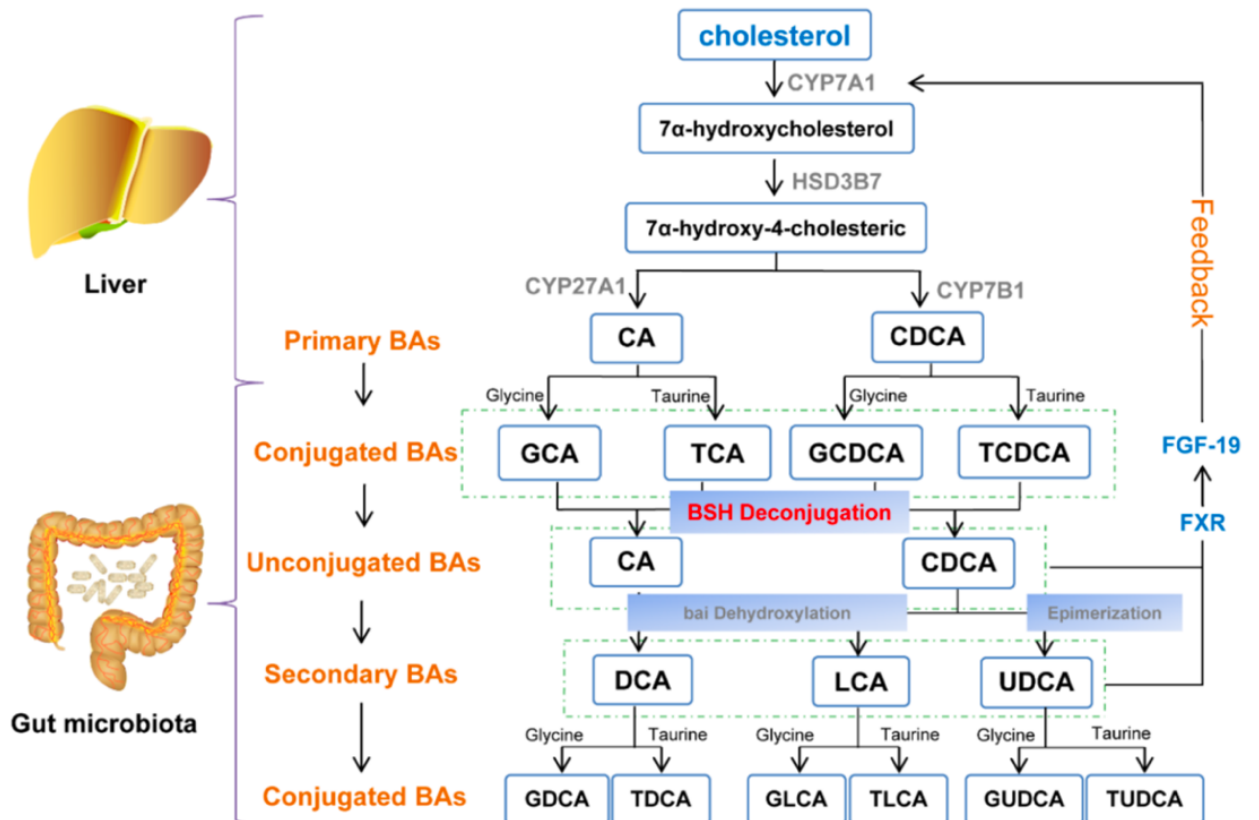


Рис.1.1. Ентерогепатична циркуляція жовчних кислот та їх вплив на рецепторні й ферментні системи.

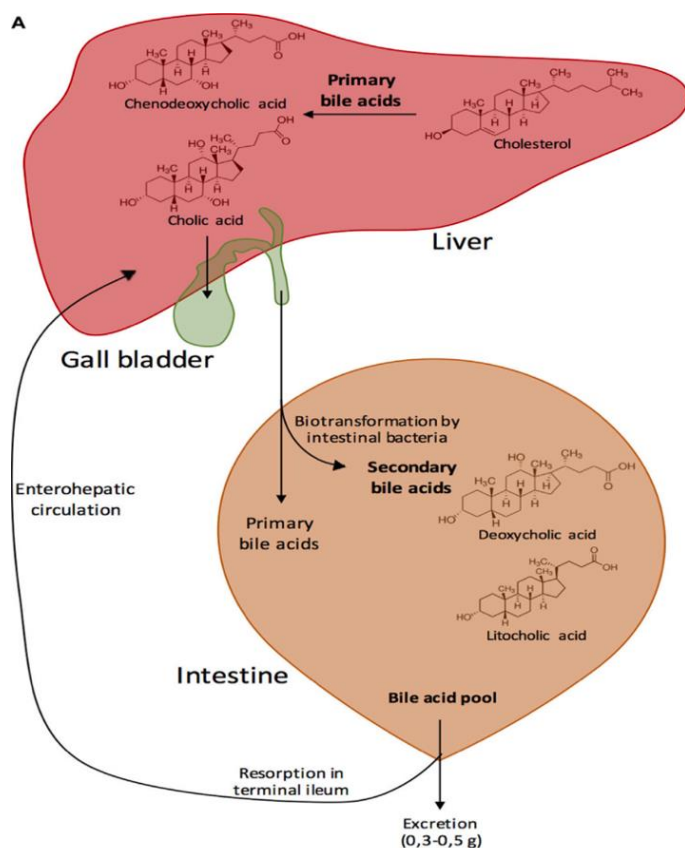


Рис.1.2. Синтез основних жовчних кислот, їх метаболізм та циркуляція в печінці, жовчних шляхах та кишківнику.

1.2. Бактеріальна гідролаза солей жовчних кислот:

таксономічний профіль людського кишкового мікробіому та взаємозв'язок із захворюваннями.

Бактеріальна гідролаза солей жовчних кислот як один з важливих механізмів регуляції обміну жовчних кислот та холестерину синтезується різними представниками кишкового мікробіому. ГСЖК експресується переважно у родів бактерій типів Firmicutes та Bacteroidetes. При цьому ферментативна активність бактеріальної ГСЖК є високою у грампозитивних родів бактерій Clostridium, Enterococcus, Bifidobacterium та Lactobacillus, а також у грамнегативних родів із типу Bacteroides [44, 51, 53, 54]. В той же час відомо, що деякі штами бактерій можуть містити різну кількість генів, які кодують варіанти ГСЖК з неоднаковою функціональною активністю [51]. До того ж, склад кишкового мікробіому та відповідно експресія бактеріальної ГСЖК

відрізняється серед різних популяцій внаслідок генетичних, середовищних та, важливо, дієтичних особливостей [55-57].

Раніше проведені метагеномні дослідження людського кишкового мікробіому популяцій із різних материків виявили існування 7 основних генетично відмінних один від одного типів (кластерів) бактеріальної ГСЖК, розподілених серед більше ніж 100 родів із 12 типів бактерій [51, 58-60]. При цьому було показано, що певні типи (кластери) бактеріальної ГСЖК експресуються певними бактеріями, але є бактеріальні штами, які можуть містити гени різних кластерів ГСЖК. Ферментативна активність різних кластерів є відмінною, в тому числі відносно різних субстратів – первинних ЖК. Було виявлено, що 3-й тип бактеріальної ГСЖК, який експресується переважно штамами *Lactobacillus spp.*, має найбільш стабільну ферментативну активність відносно більшості субстратів серед інших кластерів ГСЖК [51].

Метагеномні дослідження людського кишкового мікробіому також виявили взаємозв'язок між кількістю генів різних типів бактеріальної ГСЖК та певними захворюваннями. Було виявлено кореляцію із запальними захворюваннями кишки, коло-ректальним раком, ожирінням, цукровим діабетом 2 типу, атеросклерозом, серцево-судинною смертністю [51, 59, 61]. При цьому було показано, що різні кластери ГСЖК із різних популяцій можуть мати навіть протилежну кореляцію з тими чи іншими захворюваннями. Автори зазначають, що кількість генів певних типів ГСЖК негативно корелює з атеросклерозом та серцево-судинним ризиком, але в той же час декілька інших типів ГСЖК можуть мати позитивну кореляцію з вказаними захворюваннями. Отже, за думкою авторів дослідження, бактеріальна ГСЖК, ймовірно, має плейотропний вплив на розвиток та прогресування атеросклерозу, але подальші дослідження є необхідними для виявлення більш точного та зрозумілого взаємозв'язку [51]. У цьому ж дослідженні визначався взаємозв'язок між рівнем сироваткового холестерину та кількістю генів ГСЖК [51]. Було виявлено, що 3 тип бактеріальної ГСЖК, який експресується переважно *Lactobacillus spp.*, негативно корелює із рівнем холестерину плазми крові, проте ця кореляція була

статистично не вірогідною, отже автори не прийшли до впевненого висновку відносно цього, що також підкреслює необхідність подальших досліджень в даному напрямку.

Слід вказати, що зазначені метагеномні дослідження визначали взаємозв'язок між захворюваннями та кількістю генів ГСЖК, а не ферментативною активністю. Це є важливим, оскільки наявність генів ще не означає їх повну експресію, до того ж різні, генетично відмінні типи ГСЖК при їх експресуванні мають різну ферментативну активність. Також в цих дослідженнях автори переважно акцентували увагу на взаємозв'язку кількості генів ГСЖК із серцево-судинною смертністю, але не вивчали інші категорії ССР, які є важливими для клінічної практики з метою оцінки прогнозу, призначення лікування та його моніторингу.

Відносно дослідження функціональної активності бактеріальної гідролази солей жовчних кислот було знайдено невелику кількість літературних даних. Одне дослідження 2014 року [62] з використанням контрольованої біологічної системи *in vivo* на мишиній моделі показало, що підвищення активності ГСЖК в кишечнику було пов'язане із зниженням рівня холестерину в сироватці крові. За думкою авторів, ферментативна активність бактеріальної ГСЖК є основним механізмом, за допомогою якого кишкова мікробіота, вірогідно, може мати гіпохолестеринемічний ефект [62]. Однак аналогічних клінічних досліджень за участі людей серед даних міжнародної літератури знайдено не було.

1.3. Використання гідролази солей жовчних кислот з метою корекції дисліпідемії та ССР: *in vitro* та *in vivo* еспериментальні дослідження.

Зважаючи на вірогідний взаємозв'язок між ферментативною активністю кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот та обміном холестерину, деякими вченими були досліджені ізольовані форми бактеріальної ГСЖК від різних штамів бактерій та їх потенційний гіпохолестеринемічний ефект [63]. В дослідженнях на тваринах було показано, що введення ізольованих

від штамів *Lactobacilli* форм ГСЖК щурам з гіперхолестеринемією залежно від дози призводило до зниження рівнів загального холестерину та тригліцеридів плазми крові на 50-58% та 15-45%, відповідно [64, 65]. Однак, такі перспективні результати не призвели до подальших досліджень застосування ізольованих форм даного ферменту, переважно через технічні складнощі та високі економічні витрати на ізолювання ГСЖК від різних штамів бактерій та вироблення її біологічно доступних форм.

Більшість досліджень були та є спрямованими на вивчення гіпохолестеринемічного ефекту різних штамів пробіотичних бактерій, які експресують гідролазу солей жовчних кислот [66-69]. На моделях *in vitro* [18-20, 70-75] було показано здатність деяких штамів *Lactobacilli* та *Bifidobacterium* зменшувати вміст холестерину завдяки процесам активного захоплення, інкорпорації, асиміляції та преципітації холестерину, а також декон'югувати вторинні жовчні кислоти в клітинному середовищі. Причому, автори виявляли кореляцію між зменшенням холестерину в клітинному середовищі та ступенем декон'югації вторинних ЖК певними штамми *Lactobacilli* [70]. Крім того, було показано, що декон'юговані ЖК призводять до ко-преципітації холестерину, і відповідно холестеринові міцели стають дестабілізованими, що значно зменшує вірогідність їх подальшого всмоктування [71].

Вказані перспективні та обнадійливі результати *in vitro* досліджень дали поштовх до великої кількості робіт із вивчення гіполіпідемічного ефекту пробіотичних бактерій *in vivo* на різних тваринних моделях [21-24]. Найчастіше досліджувались різні ГСЖК-вмісні штами пробіотичних бактерій родів *Lactobacilli* та *Bifidobacterium*. Було виявлено, що введення пробіотичних бактерій вказаних родів в різних дозах тваринам з індукованою гіперхолестеринемією та здоровим тваринам призводило до статистично вірогідних змін показників ліпідограми: зниження рівнів сироваткових загального холестерину, ліпопротеїнів низької щільності, тригліцеридів [76-82], а також підвищення ліпопротеїнів високої щільності [78, 79, 82]. В цих же дослідженнях відмічалась зміна якісного та кількісного складу кишкової

мікробіоти, переважно за рахунок збільшення кількості штамів бактерій, які входили до складу пробіотиків. В деяких дослідженнях додатково вивчався вміст холестерину та тригліцеридів в печінці піддослідних тварин. Причому автори зазначали зменшення рівнів печінкових ЗХ та ТГ після введення пробіотичних бактерій тваринам, а також зменшення гістологічної активності запалення в печінці та ступеню стеатозу [21].

Окрім виявлення безпосередньо ролі пробіотичних бактерій в зниженні ЗХ, ЛПНЩ, ТГ та підвищення ЛПВЩ, авторами вивчались можливі механізми даного ефекту на тваринних моделях [69]. Рядом авторів було виявлено, що після введення пробіотичних штамів *Lactobacillus rhamnosus* щурам з індукованою гіперхолестеринемією, екскреція жовчних кислот зі стулом була вищою порівняно з контрольною групою [83]. Автори обґрунтували такі результати продукуванням даним штамом гідролази солей жовчних кислот. Іншими дослідниками, які вивчали гіпохолестеринемічний ефект лактобактерій та біфідобактерій, було показано, що тільки пробіотичні бактерії, які експресують ГСЖК, можуть призводити до зниження рівнів сироваткового холестерину завдяки ферментативній активності ГСЖК та відповідному зниженню кон'югованих ЖК [84] та збільшенню виведення вторинних жовчних кислот зі стулом [79, 85]. Крім того, на тваринних моделях [69] було виявлено, що жовчні кислоти діють як ліганди до FXR, в результаті чого модифікується активність експресії гену холестерин 7 альфа-гідроксилази (CYP7A1), необхідної для конвертації холестерину в первинні ЖК в печінці [86, 87]. Також рядом авторів досліджувався зв'язок між застосуванням пробіотичних бактерій та захопленням холестерину з плазми. Було показано, що після введення різних штамів *Lactobacilli* протягом різного часу у піддослідних тварин відзначалось збільшення експресії в печінці генів рецепторів до ліпопротеїнів низької щільності. Збільшення експресії рецепторів до ЛПНЩ збільшувало захоплення гепатоцитами з крові ЗХ та ЛПНЩ, зменшуючи таким чином їх сироваткові рівні [78, 85, 88-90]. При цьому паралельно реєструвалось збільшення екскреції жовчних кислот [85, 88]. Отже, дослідниками був знайдений зв'язок між

виведенням із калом вторинних ЖК, експресією рецепторів до ЛПНЩ та зниженням рівнів сироваткового холестерину після застосування пробіотичних бактерій, що є ймовірним наслідком дії бактеріальної гідролази солей жовчних кислот. Відносно взаємозв'язку між ферментативною активністю кишкової бактеріальної ГСЖК та гіпохолестеринемічним ефектом пробіотичних бактерій було знайдено одне дослідження [62]. Було виявлено, що колонізація мишачого кишечника ГСЖК-експресуючим штамом *E.coli* призводила до збільшення ферментативної активності ГСЖК в кишківнику тварин. При цьому автори зазначили, що завдяки збільшенню активності ГСЖК у тварин спостерігались вірогідні зниження набору ваги, сироваткового холестерину та тригліцеридів в печінці [62].

Серед інших додаткових механізмів, які були виявлені при дослідженні гіполіпідемічного ефекту пробіотиків на тваринних моделях, можна зазначити зв'язування інтестинального холестерину із клітинною поверхнею бактерій, що призводило до порушення його всмоктування та подальшого збільшення виведення із калом [79]; збільшення інтестинального вмісту коротколанцюгових жирних кислот (бутірат, ацетат, пропіонат), які зменшували синтез холестерину в печінці за рахунок блокування 3-гідроксиметил-3-глутаріл-КоА-редуктази (ГМГ-КоА-редуктази) [91-94]; блокування експресії в ентероцитах кишкового транспортеру холестерину Німана-Піка С1 типу 1 (Niemann-Pick C1-like 1 - NPC1L1), необхідного для інтестинального всмоктування холестерину [95, 96]. Однак більшість авторів зазначала, що вказані можливі механізми є додатковими в корекції гіперхолестеринемії у тварин, є видо- та штамоспецифічними, а в ряді випадків не призводять до вірогідного зменшення показників ліпідограми. Однак, ферментативна активність ГСЖК є основним механізмом, і саме цей критерій варто розглядати основним при дослідженні та застосуванні пробіотичних бактерій з гіпохолестеринемічною метою [97].

Іншим аспектом досліджень *in vivo* було виявлення ролі та вкладу кишкового мікробіому та пробіотичних бактерій у серцево-судинні захворювання, ССР та інші супутні чинники ризику. Було показано, що якісні та

кількісні зміни кишкового мікробіому, опосередковано через різноманітні патофізіологічні механізми та шляхи, впливають на розвиток та прогресування атеросклерозу, інфаркту міокарда, серцевої недостатності, артеріальної гіпертензії, метаболічного синдрому, ожиріння, цукрового діабету 2 типу у тварин [98-102]. Введення піддослідним тваринам пробіотичних штамів *Lactobacilli* було асоційоване зі зменшенням розмірів інфаркту міокарда, покращенням систолічної та діастолічної функції лівого шлуночка, зменшення лівошлуночкової гіпертрофії та проявів серцевої недостатності [98, 99,104], а також зменшення проявів та прогресування артеріосклерозу [105]. Застосування пробіотиків на основі *Lactobacilli* також було пов'язано зі зменшенням артеріального тиску у тварин з індукованою артеріальною гіпертензією [97, 106]. Різні штами пробіотичних бактерій додатково призводили до зменшення проявів супутніх факторів серцево-судинного ризику, таких як метаболічний синдром, ожиріння, інсулінорезистентність, цукровий діабет 2 типу [97, 101]. Однак, літературних даних по дослідженню безпосередньо ризику фатальних та нефатальних серцево-судинних подій після застосування пробіотиків на тваринних моделях знайдено не було. Слід також зазначити, що в дослідженнях *in vivo* на щурах було виявлено роль якісного та кількісного складу кишкової мікробіоти як медіатора ліпід-знижуючої ефективності статинотерапії [107].

1.4. Роль ГСЖК-продукуючих штамів пробіотичних бактерій в корекції дисліпідемії та ССР: дані клінічних досліджень

Результати експериментальних *in vitro* та *in vivo* досліджень ролі бактеріальної гідролази солей жовчних кислот та експресуючих її пробіотичних бактерій стали підґрунтям для вивчення їх ефекту в клінічних дослідженнях за участі здорових людей та пацієнтів з дисліпідемією та іншими чинниками серцево-судинного ризику. Беручи до уваги досвід *in vivo* досліджень на тваринних моделях, в більшості клінічних досліджень вивчався ефект різних видів та штамів лактобактерій та біфідобактерій. Результати контрольованих рандомізованих досліджень, їх мета-аналізи та систематичні огляди виявили, що

пробіотики призводили до статистично вірогідних змін показників ліпідограми порівняно з контрольними групами [25, 26, 108-112]. Найбільш актуальний мета-аналіз 2020 року [113] включав 13 подвійно-сліпих плацебо-контрольованих рандомізованих досліджень, проведених в Європі, Америці, Океанії та Азії, в яких застосовувались пробіотики тривалістю від 4 до 32 тижнів, що переважно включали штами *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *B. lactis*, *B. bifidum*. Мета-аналіз виявив, що застосування пробіотиків призводило до статистично вірогідного зниження сироваткового загального холестерину в середньому на 0,3 ммоль/л (95% ДІ: 0,16-0,43; $p < 0,0001$) та ЛПНЩ – на 0,32 ммоль/л (95% ДІ: 0,19-0,46; $p < 0,0001$) у пацієнтів з гіперхолестеринемією. При цьому гіпохолестеринемічний ефект був залежним від дози та тривалості: вищі дози та тривалість більше 8 тижнів були асоційовані із більш вираженим зниженням ЛПНЩ. Але в той же час не було виявлено статистично вірогідних змін рівнів ТГ та ЛПВЩ порівняно з контрольними групами. Також авторами було показано відсутність статистичного взаємозв'язку між ліпід-знижуючим ефектом пробіотиків, віком та індексом маси тіла [113]. І хоча в даній роботі не аналізувались механізми гіполіпідемічного ефекту пробіотичних бактерій, автори зазначили в якості ймовірного на першому місці активність бактеріальної ГСЖК. У роботі було підсумовано, що досі існують певні суперечливі дані, і подальші дослідження необхідні для з'ясування ролі пробіотиків як альтернативних засобів для корекції факторів ССР [113]. Слід зазначити, що хоча мета-аналізи не виявили статистичних змін показників ТГ та ЛПВЩ [112, 113], окремі систематичні огляди клінічних досліджень зазначали можливий ефект пробіотиків у зниженні ТГ та підвищенні рівнів ЛПВЩ [110].

Розглядаючи окремо ефективність конкретних видів та штамів пробіотичних бактерій, варто акцентувати увагу на штамів *Lactobacillus*, зокрема *L. plantarum*. Останній є одним з найбільш часто застосовуваних з гіполіпідемічною метою штамів пробіотиків, переважно через наявність в складі його геному 4 різних варіантів генів ГСЖК, яка після експресії має високу ферментативну активність до більшості субстратів - кон'югованих (первинних)

жовчних кислот [114-116]. Ряд клінічних досліджень по вивченню гіпохолестеринемічного ефекту пробіотиків на основі *L.plantarum* у здорових учасників та пацієнтів з дисліпідемією виявили статистично вірогідні зниження ЗХ, ЛПНЩ [109, 117], а також ТГ та підвищення ЛПВЩ [109], причому ефект був більш вираженим переважно після 12 тижнів застосування пробіотичних бактерій. В даних дослідженнях зазначалась добра переносимість, практично відсутність значимих побічних ефектів та мінімальний вплив на функції ШКТ [109, 117]. Серед можливих механізмів дії пробіотичних бактерій *L.plantarum* автори виділяли ферментативну активність бактеріальної ГСЖК, хоча безпосередньо її визначення у пацієнтів не проводилось. Також автори у висновках своїх робіт зазначали, що застосування пробіотиків, ймовірно, мало вплив на зниження серцево-судинного ризику, але вказаний висновок базувався лише на ефекті *L.plantarum* у зниженні ЗХ та ЛПНЩ, проте оцінка нефатального та фатального ССР не проводилась [109, 117]. Систематичний огляд та мета-аналіз 15 рандомізованих контрольованих клінічних досліджень гіполіпідемічної ефективності пробіотиків на основі *Lactobacilli* показав, що їх застосування призводило до статистично вірогідного зниження ЗХ на 0,26 ммоль/л (95% ДІ: 0,12-0,4; $p < 0,001$) та ЛПНЩ на 0,23 ммоль/л (95% ДІ: 0,1-0,36; $p < 0,001$), порівняно з контрольними групами [118]. Причому, при детальному аналізі підгруп було виявлено, що застосування саме штаму *L.plantarum* мало ефект у зниженні ЗХ на 0,37 ммоль/л (95% ДІ: 0,13-0,6; $p = 0,002$) та ЛПНЩ на 0,29 ммоль/л (95% ДІ: 0,16-0,43; $p < 0,001$), порівняно з контрольними групами [118]. Однак даний огляд не виявив вірогідних змін ТГ та ЛПВЩ. Автори мета-аналізу дійшли висновку, що серед всіх пробіотичних штамів *Lactobacilli* два є найбільш ефективними: *L.plantarum* та *L.reuteri*, але саме *L.plantarum* одночасно знижує ЗХ та ЛПНЩ, на відміну від *L.reuteri*, який має ефект тільки в зниженні ЛПНЩ [118]. Однак, за думкою авторів, подальші дослідження є необхідними для визначення більш зрозумілого впливу пробіотиків на основі *Lactobacilli* на ліпідний профіль, а також можливі механізми їх гіпохолестеринемічної дії.

Відносно вивчення механізмів гіполіпідемічного ефекту пробіотичних бактерій в клінічних дослідженнях було знайдено невелику кількість літературних даних, що вірогідно обумовлено технічною складністю, а в ряді випадків необхідністю проведення інвазивних обстежень, включаючи біопсію. В одному з клінічних досліджень по вивченню ефективності інкапсульованої форми пробіотика на основі ГСЖК-експресуючого штаму *L.reuteri* у пацієнтів з гіперхолестеринемією впродовж 13 тижнів було показано, що його вживання призводило до статистично вірогідного збільшення рівнів декон'югованих жовчних кислот в сироватці крові пацієнтів. Причому було виявлено негативний кореляційний зв'язок між рівнями сироваткових декон'югованих ЖК та ЛПНЩ у пацієнтів, що вживали пробіотичні бактерії на основі *L.reuteri* ($r = -0,369$, $p = 0,003$) [119]. Автори дійшли висновку, що такі результати, ймовірно, є наслідком ферментативної активності бактеріальної ГСЖК від пробіотичного штаму. До того ж, в даному дослідженні було показано зниження абсолютних рівнів сироваткових рослинних стеролів, які є сурогатними маркерами всмоктування холестерину. Це вказувало на зменшення загального внутрішнього транспорту нехолестеринових стеролів і передбачало зменшення всмоктування дієтичного та біліарного холестерину [119]. Автори також зазначили, що не виключають ймовірність участі в даному процесі модуляції експресії в ентероцитах кишкового транспортеру холестерину Німана-Піка С1 типу 1, хоча це і не вивчалось безпосередньо в дослідженні. В іншому дослідженні по вивченню гіпохолестеринемічного ефекту *L.reuteri* у складі йогурту визначались концентрації декон'югованих ЖК у зразках фекалій учасників. Однак, було показано, що немає статистично вірогідної різниці у виділенні вторинних ЖК після застосування йогурту із пробіотичними бактеріями *L.reuteri*, порівняно з плацебо [120]. Авторами було підтримано гіпотезу, що декон'югація первинних ЖК бактеріальною ГСЖК призводить, в першу чергу, до порушення пулу циркулюючих ЖК, а не виведення вторинних форм із калом, що частково було показано у вищезазначеному дослідженні [119], де авторами було виявлено збільшення в крові рівнів декон'югованих жовчних

кислот. Однак, подальші дослідження є необхідними для з'ясування чіткого механізму. Відносно даних по вивченню експресії генів, залучених у обмін холестерину та жовчних кислот (FXR, рецепторів до ЛПНЩ, ГМГ-КоА-редуктази, NPC1L1), у клінічних дослідженнях по застосуванню пробіотичних бактерій в наявній літературі знайдено не було. Стосовно клінічних досліджень по вивченню безпосередньо ферментативної активності кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот у пацієнтів з дисліпідемією під час застосування пробіотичних бактерій, то їх серед літературних даних також не було знайдено.

Окрім впливу на рівні показників ліпідограми, застосування різних штамів пробіотичних бактерій вивчалось в контексті впливу на розвиток серцево-судинних захворювань та інші чинники ССР у дослідженнях за участі людей [121-123]. Найбільш актуальний мета-аналіз рандомізованих контрольованих клінічних досліджень 2020 року [124] виявив, що призначення різних пробіотичних бактерій призводило до вірогідного зменшення показників систолічного та діастолічного артеріального тиску при лікуванні пацієнтів довше 6 тижнів; зниження сироваткової глюкози натще, особливо у пацієнтів з ЦД 2 типу; зниження рівнів глікозильованого гемоглобіну у пацієнтів з ЦД 2 типу та метаболічним синдромом; зниження показника індексу маси тіла (ІМТ), в тому числі у пацієнтів з ожирінням, причому ефект був дозозалежним. При детальному аналізі підгруп було показано, що корекція різних чинників була пов'язана з передіснуючими захворюваннями у пацієнта: наприклад, у пацієнтів з ЦД 2 типу спостерігалось більш виражене зменшення артеріального тиску та глюкози натще. І хоча автори зазначали, що корекція вказаних чинників ризику опосередковано зменшувала ССР, однак безпосередньо оцінки різних категорій серцево-судинного ризику не проводилось. В іншому клінічному дослідженні було виявлено, що застосування бактерій *Saccharomyces boulardii* було асоційоване з покращенням фракції викиду лівого шлуночка у пацієнтів із серцевою недостатністю [125]. Інших досліджень по оцінці серцево-судинного ризику у відповідь на терапію пробіотиками знайдено не було. Варто також додатково зазначити, що в ряді досліджень було показано, що склад кишкової

мікробіоти пацієнтів з дисліпідемією є предиктором відповіді на статинотерапію, причому вищі рівні різноманітності кишкової бактеріальної флори, в тому числі за рахунок *Lactobacilli*, були асоційовані з кращою відповіддю (гіпохолестеринемічним ефектом) на призначення статинів [34, 126], додатково актуалізуючи доцільність подальших досліджень пробіотиків.

Отже, підводячи підсумок існуючих літературних даних, слід зазначити, що на сьогоднішній день існують доволі переконливі докази важливої ролі бактеріальної гідролази солей жовчних кислот – ферменту, що синтезується представниками кишкового мікробіому – в обміні холестерину та впливу на чинники розвитку та прогресування серцево-судинних захворювань. Застосування різних пробіотичних бактерій, які експресують ГСЖК з високою ферментативною активністю, довело свій ефект в клінічних дослідженнях у корекції дисліпідемії та інших супутніх чинників серцево-судинного ризику. Однак, незважаючи на велику кількість робіт відносно цього, досі існують невдало відкриті питання, нез'ясовані аспекти та суперечливі дані, особливо у клінічних дослідженнях за участі людей. Відсутні дані відносно взаємозв'язку ферментативної активності кишкової бактеріальної ГСЖК та рівнями різних фракцій ліпідів плазми крові пацієнтів, а також із різними категоріями серцево-судинного ризику, в тому числі, оціненого за валідованими шкалами; відносно впливу пробіотичних бактерій на ризики нефатальних та фатальних серцево-судинних подій; відносно взаємозв'язку між модифікацією активності кишкової бактеріальної ГСЖК та клінічною ефективністю пробіотичних бактерій у корекції дисліпідемії та модифікації різних категорій ССР. Це і стало передумовою проведення даного дисертаційного дослідження та зумовило його мету та завдання.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Загальна характеристика клінічного матеріалу та програма досліджень.

Загальноклінічні обстеження, біохімічні дослідження плазми крові, призначення та моніторинг лікування учасників дослідження проводились на клінічній базі кафедри внутрішньої медицини №1 Національного медичного університету імені О. О. Богомольця. Лабораторне визначення ферментативної активності бактеріальної гідролази солей жовчних кислот у зразках фекалій учасників та капсул із пробіотичними бактеріями *Lactobacillus plantarum* виконувалось співробітниками лабораторії біоорганічної хімії і молекулярної візуалізації Інституту хімічних наук та інженерії (Лозанна, Швейцарія) на основі меморандуму про співробітництво із кафедрою внутрішньої медицини №1 від 14.05.2018.

Дисертаційне дослідження включало 2 етапи. Перший етап був виконаний за дизайном «випадок-контроль», протягом якого були відібрані практично здорові учасники та пацієнти з дисліпідемією, яким визначались базові показники, вимірювались рівні показників ліпідограми та відносна загальна активність кишкової бактеріальної ГСЖК, а також оцінка ризиків нефатальних та фатальних серцево-судинних подій за 5 валідованими шкалами ризику. Другий етап був виконаний за дизайном відкритого порівняльного рандомізованого паралельного дослідження, протягом якого пацієнти з дисліпідемією були розподілені на дві групи порівняння та отримували лікування досліджуваними препаратами впродовж 12 тижнів. Під час проведення другого етапу через визначені часові проміжки пацієнтам порівнюваних груп визначались показники ліпідограми, відносна загальна активність кишкової бактеріальної ГСЖК та оцінювались ризики нефатальних та фатальних серцево-судинних подій за 5 валідованими шкалами ризику.

Протокол дисертаційного дослідження та форма інформованої згоди на участь у дослідженні були затверджені Комісією з питань біоетичної експертизи та етики наукових досліджень при Національному медичному університету імені О.О. Богомольця (протокол № 126 від 13.11.2019 р.). Письмова інформована згода на участь у дослідженні була отримана від всіх учасників до початку дослідження.

Для вирішення поставлених задач дисертаційної роботи загалом у дослідження було включено 103 учасники віком 22-74 роки.

До складу **контрольної групи** було включено 26 практично здорових осіб віком 22-44 роки (13 чоловіків та 13 жінок) без порушень холестеринового обміну та інших чинників серцево-судинного ризику (артеріальна гіпертензія, порушення обміну глюкози, хронічна хвороба нирок, ожиріння), окрім паління. У учасників був відсутній анамнез прийому антибактеріальних, пробіотичних, пребіотичних та гіполіпідемічних препаратів більше 6 місяців до залучення у дослідження. На момент включення у дослідження учасники не пред'являли скарг на своє здоров'я.

До складу **загальної дослідної групи** було включено 77 пацієнтів з дисліпідемією та без анамнезу основних серцево-судинних подій (інфаркт міокарда та гостре порушення мозкового кровообігу) віком 40-74 роки (21 чоловік та 56 жінок). Відповідно до поставлених задач, пацієнти загальної дослідної групи для проведення другого етапу дослідження були розподілені на 2 групи методом простої сліпої рандомізації:

Група 1 (n=41) – пацієнти з дисліпідемією, яким призначалась комбінована терапія: капсули з живою активною культурою *Lactobacillus plantarum* у кількості $2 \cdot 10^9$ КУО в одній капсулі (препарат «Ліпогрейд» виробництва ТОВ «Фармацевтичний завод «Біофарма») – 1 капсула один раз на добу та таблетки симвастатину у дозі 20 мг (препарат «Зокор» у дозі 20 мг виробництва компанії «Merk Sharp & Dohme Idea Inc») – 1 таблетка один раз на добу.

Група 2 (n=36) – пацієнти з дисліпідемією, яким призначалась монотерапія: таблетки симвастатину у дозі 20 мг (препарат «Зокор» у дозі 20 мг виробництва компанії «Merk Sharp & Dohme Idea Inc») – 1 таблетка один раз на добу.

Критеріями включення у дослідження були: чоловіки та жінки віком від 40 до 74 років; дисліпідемія (рівень ЗХ > 5,0 ммоль/л; рівень ЛПНЩ > 3,0 ммоль/л); пацієнти, які не отримували раніше статини або перестали їх приймати більше 6 місяців до залучення у дослідження; для жінок репродуктивного віку – негативний результат тесту на вагітність; підписана інформована згода на участь у дослідженні.

Критеріями виключення (невключення у дослідження) були: підвищена чутливість до досліджуваних препаратів; застосування будь-яких інших, окрім статинів, ліпідзнижуючих препаратів за 4 тижні до скринінгу; вагітність та лактація; наявність в анамнезі основних серцево-судинних подій (інфаркт міокарда та гостре порушення мозкового кровообігу); хронічні захворювання печінки з підвищенням активності трансаміназ вище 3 верхніх меж норми; будь-яке гостре захворювання за 2 місяці до початку дослідження; міопатії; артеріальна гіпотензія; зловживання алкоголем; супутній прийом активних інгібіторів СУРЗА4; участь в інших клінічних дослідженнях.

Для встановлення діагнозу дисліпідемії застосовувався «Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) та третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги. Профілактика серцево-судинних захворювань» [16] та Європейські рекомендації по лікуванню дисліпідемії [9]. Дисліпідемія діагностувалась при рівнях ЗХ > 5,0 ммоль/л та ЛПНЩ > 3,0 ммоль/л.

Загальна тривалість дослідження складала 13 тижнів:

- 1) Перший етап – скринінг потенційних учасників на відповідність критеріям включення/виключення, а також набір здорових учасників для контрольної групи – до 7 діб. Етап включав 2 візити: під час першого візиту отримувалась підписана інформована згода, збір

анамнезу, об'єктивний огляд, антропометричні та вимірювання АТ, реєстрація ЕКГ та забір крові для загального, біохімічного аналізів крові, включаючи ліпідограму; під час другого візиту проводилась оцінка відповідності пацієнтів критеріям включення/виключення в основну дослідну групу, оцінка ССР за п'ятьма валідованими шкалами ризику, а також забір зразків калу для визначення відносної загальної активності кишкової бактеріальної ГСЖК. Під час другого візиту пацієнти випадковим чином, методом сліпих конвертів, розподілялись на 2 дослідні групи (Група 1 та Група 2) з видачою дослідних препаратів відповідно до групи. Перший раз пацієнти приймали дослідні препарати в кабінеті лікаря-дослідника.

- 2) Другий етап – лікування досліджуваними препаратами впродовж 12 тижнів. Даний етап включав 3 візити – через 4, 8 та 12 тижнів після початку прийому терапії. Під час кожного візиту виконувались об'єктивний огляд, антропометричні та вимірювання АТ, забір крові для вимірювання показників ліпідограми, оцінка ССР за п'ятьма валідованими шкалами ризику. Під час візитів через 4 та через 12 тижнів лікування виконувався додатковий забір крові для оцінки загального та біохімічного аналізів крові. На останньому візиті через 12 тижнів від початку терапії досліджуваними препаратами додатково проводилась реєстрація ЕКГ, а також забір зразків калу для визначення відносної загальної активності кишкової бактеріальної ГСЖК.

Учасники дослідження спостерігались в амбулаторному режимі та відвідували клінічну базу у заплановані дати візитів. Допускалось відхилення від запланованих дат візитів на 1-2 доби. Загальний дизайн дослідження представлений на Рис. 2.1., схема візитів представлена у таблиці 2.1.

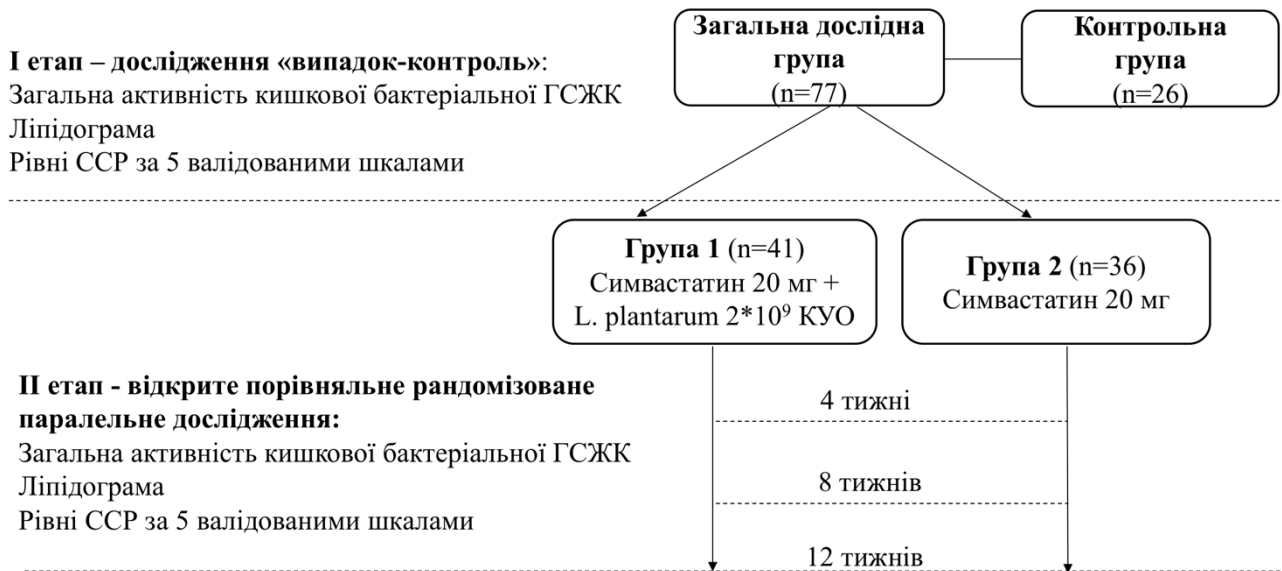


Рис. 2.1. Загальний дизайн дослідження.

Таблиця 2.1.

Схема візитів (протокол обстеження учасників дослідження).

Виконувані заходи під час візитів	Етапи та візити				
	I етап		II етап		
	1	Через 3-7 діб	4 тиж.	8 тиж.	12 тиж.
Анамнез	+				
Об'єктивний огляд (в тому числі антропометричні та вимірювання АТ)	+		+	+	+
Ліпідограма	+		+	+	+
Відповідність критеріям включення/виключення		+			
Визначення активності кишкової ГСЖК		+			+
Оцінка ССР за 5 шкалами		+	+	+	+
Рандомізація та отримання препаратів		+			
Загальний аналіз крові	+		+		+
Біохімічний аналіз крові	+		+		+
Реєстрація ЕКГ	+				+
Оцінка переносимості та ефективності препаратів			+	+	+

Пацієнтам, які мали артеріальну гіпертензію та/або стабільні форми ішемічної хвороби серця (хронічні коронарні синдроми) на момент скринінгу,

коригувалась або призначалась відповідна базисна терапія згідно європейських клінічних рекомендацій [127, 128]. Пацієнтам з цукровим діабетом 2 типу коригувалась або призначалась гіпоглікемічна терапія відповідно до європейських клінічних настанов [129]. Всі пацієнти із ЦД 2 типу, які були залучені у дисертаційне дослідження, мали компенсований перебіг і не потребували призначення інсулінотерапії.

Всі учасники дослідження отримували рекомендації по модифікації образу життя та дієті відповідно до вітчизняних та європейських клінічних настанов [9, 16]. Протягом дослідження заборонявся прийом наступних медикаментів: пробіотики, пребіотики, антибіотики, проносні засоби, будь-які інші гіполіпідемічні препарати.

Пацієнти виключались із дослідження у випадку самотійної відмови, порушення регламентованих дат візитів, порушення схеми прийому призначених медикаментів та прихильності до лікування, розвитку виражених побічних ефектів, які були протипоказаннями до продовження участі у дослідженні. Загалом на етапі скринінгу було відібрано 82 пацієнти з дисліпідемією, які відповідали критеріям включення/виключення та були випадковим чином розподілені на 2 групи: в Групу 1 було включено $n=43$ учасники, у Групу 2 – $n=39$. У ході дослідження 5 учасників (двоє з Групи 1 та троє з Групи 2) самотійно відмовились від завершення всіх етапів дослідження (троє по особистим причинам, двоє через виникнення міалгії). Повністю завершили дослідження $n=77$ пацієнтів з дисліпідемією: $n=41$ з Групи 1 та $n=36$ з Групи 2 та всі учасники з контрольної групи ($n=26$).

Вихідні (базові) клініко-демографічні показники загальної дослідної та контрольної груп представлені у таблиці 2.2.

У пацієнтів з дисліпідемією (загальна дослідна група) були статистично вірогідно більші показники віку, індексу маси тіла, наявності цукрового діабету 2 типу, систолічного та діастолічного АТ, ЗХ, ЛПНЩ порівняно з контрольною групою. Саме ці показники впливають на рівень серцево-судинного ризику.

Таблиця 2.2.

Вихідні (базові) клініко-демографічні показники загальної дослідної та контрольної груп дослідження.

Показник		Контрольна група (n=26)*	Загальна дослідна група (n=77)*	Відмінність, p
Вік, р.		31,5 (28-37)	58 (52-67)	P<0,001
Стать	Чол.	13 (50%)	21 (27,3%)	P=0,067
	Жін.	13 (50%)	56 (72,7%)	
ІМТ		23,3±2,4	27,5±3,7	P<0,001
Наявність ЦД 2 типу	так	0 (0%)	36 (46,8%)	P<0,001
	ні	26 (100%)	41 (53,2%)	
Паління	так	8 (30,8%)	23 (29,9%)	P=0,873
	ні	18 (69,2%)	54 (70,1%)	
Систолічний АТ, мм рт.ст.		120 (110-120)	135 (120-145)	P<0,001
Діастолічний АТ, мм рт.ст.		75 (70-80)	85 (80-90)	P<0,001
Сімейний анамнез інфаркту міокарда, n (%)		9 (34,6%)	26 (33,8%)	P=0,873
ЗХ, ммоль/л		4,64 (4,19-4,83)	5,88 (5,49-6,52)	P<0,001
ЛПНЩ, ммоль/л		2,61 (2,17-2,84)	4,01 (3,73-4,52)	P<0,001
ЛПВЩ, ммоль/л		1,54±0,44	1,39±0,38	P=0,096
ТГ, ммоль/л		1,15 (0,8-1,7)	1,31 (0,78-2,18)	P=0,346

*Дані були представлені у вигляді Mean±SD при нормальному розподілі або Median (Q1-Q3) при розподілі, відмінному від нормального.

Вихідні (базові) клініко-демографічні показники пацієнтів із дослідних Групи 1 та Групи 2 представлені у таблиці 2.3.

Пацієнти з дослідних Групи 1 та Групи 2 на момент рандомізації були однорідними та статистично не відрізнялись за клініко-демографічними

показниками, в тому числі за чинниками, які впливають на рівні серцево-судинного ризику.

Таблиця 2.3.

Вихідні (базові) клініко-демографічні показники дослідних Групи 1 та Групи 2.

Показник		Група 1 (n=41)*	Група 2 (n=36)*	Відмінність, p
Вік, р.		57,7±10,3	60,9±8,7	P=0,143
Стать	Чол.	13 (31,7%)	8 (22,2%)	P=0,5
	Жін.	28 (68,3%)	28 (77,8%)	
ІМТ		28±4	27±3,3	P=0,223
Наявність ЦД 2 типу	так	20 (41%)	16 (44,4%)	P=0,881
	ні	21 (59%)	20 (55,6%)	
Паління	так	13 (31,7%)	10 (27,8%)	P=0,897
	ні	28 (68,3%)	26 (72,2%)	
Систолічний АТ, мм рт.ст.		134±14	135±16	P=0,619
Діастолічний АТ, мм рт.ст.		80 (80-90)	87,5 (80-90)	P=0,053
Лікування АГ	так	15 (36,6%)	10 (27,8%)	P=0,564
	ні	26 (63,4%)	26 (72,2%)	
Сімейний анамнез інфаркту міокарда, n (%)		14 (34,1%)	12 (33,3%)	P=0,865
ЗХ, ммоль/л		5,76 (5,45-6,52)	5,93 (5,63-6,53)	P=0,537
ЛПНЩ, ммоль/л		4,03 (3,82-4,52)	3,97 (3,67-4,48)	P=0,302
ЛПВЩ, ммоль/л		1,38±0,45	1,4±0,3	P=0,819
ТГ, ммоль/л		1,27 (0,71-1,76)	1,48 (0,9-2,88)	P=0,085

*Дані були представлені у вигляді Mean±SD при нормальному розподілі або Median (Q1-Q3) при розподілі, відмінному від нормального.

При множинному порівнянні із апостеріорним аналізом контрольної групи, Групи 1 та Групи 2 вихідні клініко-демографічні дані були статистично відмінними між контрольною групою та дослідними Групою 1 та Групою 2 відносно віку, індексу маси тіла, наявності ЦД 2 типу, систолічного та діастолічного АТ, ЗХ, ЛПНЩ ($p < 0,01$ у всіх порівняннях). При цьому не було відмінностей між Групою 1 та Групою 2 відносно вказаних параметрів ($p > 0,05$). Відносно інших параметрів (розподіл за статтю, частотою куріння та сімейного анамнезу інфаркту міокарда, рівнями ЛПВЩ та ТГ) відмінностей між контрольною, Групою 1 та Групою 2 знайдено не було ($p > 0,05$). Отже, дослідні групи були однорідними, але відмінними від контрольної групи, в тому числі по параметрам, що впливають на оцінку серцево-судинного ризику.

Під час планування та проведення дисертаційного дослідження було визначено, що первинними кінцевими змінними ефективності лікування досліджуваними препаратами будуть: зміни абсолютних рівнів ЗХ, ЛПНЩ, ССР, оціненого за 5 валідованими шкалами ризику, а також відносної загальної активності кишкової бактеріальної ГСЖК протягом та по завершенню дисертаційного дослідження. Лікування вважалось ефективним при досягненні зменшення рівнів ЗХ, ЛПНЩ та ССР на 20% та більше від вихідних рівнів по закінченню дослідження. Вторинними кінцевими змінними ефективності лікування були: зміни абсолютних рівнів ЛПВЩ, ТГ, індексу та коефіцієнту атерогенності; відносні зміни (у відсотках) рівнів ЗХ, ЛПНЩ, ССР, оціненого за 5 валідованими шкалами ризику, а також відносної загальної активності кишкової бактеріальної ГСЖК протягом та по завершенню дисертаційного дослідження.

2.2. Методи дослідження.

Загальноклінічне обстеження включало детальний збір скарг, анамнезу захворювання та життя з акцентом на серцево-судинні захворювання та чинники ризику їх розвитку та прогресування, опитування по органам та системам, а

також повне об'єктивне обстеження із застосуванням огляду, пальпації, перкусії та аускультатії по системам органів.

Індекс маси тіла розраховувався за формулою Кетле:

$$\text{ІМТ} = \frac{\text{Маса тіла}}{(\text{зріст в метрах})^2}$$

При значеннях ІМТ > 25 кг/м² діагностувалась надлишкова вага тіла, > 30 кг/м² – ожиріння згідно класифікації ВООЗ [130].

Лабораторні дослідження.

Загальний аналіз крові: виконувався за загальновизнаною методикою із визначенням формених елементів крові, підрахунком лейкоцитарної формули та ШОЕ.

Біохімічний аналіз крові: виконувалось визначення активностей АЛТ, АСТ, ГГТП, ЛФ, рівнів загального білірубіну та його фракцій (непрямої та прямої), креатиніну, креатинфософокінази, глюкози сироватки натще за загальновизнаними методиками.

Швидкість клубочкової фільтрації розраховувалась за формулою СКД-ЕРІ [131]:

$$\text{ШКФ} = 175 \times \text{сироватковий креатинін}^{-1.154} \times \text{вік}^{-0.203} \times 1.212 \text{ [негроїдна раса]} \times 0.742 \text{ [жіноча стать]},$$

де ШКФ виражається у мл/хв/1,73 м², сироватковий креатинін в мг/дл (1 мкмоль/л відповідає 0,0113 мг/дл сироваткового креатиніну).

Ліпідограма: визначались показники сироваткових: загального холестерину, ліпопротеїнів низької та високої щільності та тригліцеридів ферментативними методами на аналізаторі Cobas 6000 із застосуванням тест-систем Roche Diagnostics (Швейцарія). Індекс атерогенності (ІА) та коефіцієнт атерогенності (КА) вираховувались за формулами [132]:

$$\text{ІА} = \log_{10} \frac{\text{ТГ}}{\text{ЛПВЩ}};$$

$$\text{КА} = \frac{\text{ЗХ} - \text{ЛПВЩ}}{\text{ЛПВЩ}}.$$

Лабораторне визначення ферментативної активності кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот. Зразки калу учасників

дослідження забирались безпосередньо після дефекації у стерильні пластикові контейнери, які надалі заморожувались при температурі -20°C до моменту транспортування в лабораторію. Заморожені зразки калу транспортувались авіатранспортом в м. Лозанна, Швейцарія згідно протоколів транспортування біоматеріалів із використанням сухого льоду для збереження температурного режиму. Лабораторні дослідження проводились на базі лабораторії біоорганічної хімії і молекулярної візуалізації Інституту хімічних наук та інженерії (Лозанна, Швейцарія) на основі меморандуму про співробітництво із кафедрою внутрішньої медицини №1 від 14.05.2018. Визначення загальної активності кишкової бактеріальної ГСЖК зразків калу виконувалось методом ультраефективної рідинної хроматографії із мас-спектрометрією [62, 133]. Відносна активність кишкової бактеріальної ГСЖК виражалась в одиницях активності холоїлгліцин гідролази на мл (Од/мл) (з *Clostridium perfringens*, ЕС 3.5.1.24, Sigma-Aldrich).

Лабораторне визначення ферментативної активності бактеріальної гідролази солей жовчних кислот капсул із пробіотичними бактеріями *Lactobacillus plantarum*. Дослідження проводились на базі лабораторії біоорганічної хімії і молекулярної візуалізації Інституту хімічних наук та інженерії (Лозанна, Швейцарія) на основі меморандуму про співробітництво із кафедрою внутрішньої медицини №1 від 14.05.2018. Вміст однієї капсули досліджуваних пробіотиків досліджувався методом ультраефективної рідинної хроматографії із мас-спектрометрією [62, 133]. Відносна активність бактеріальної ГСЖК капсул із пробіотичними бактеріями виражалась в одиницях активності холоїлгліцин гідролази на мл (Од/мл) (з *Clostridium perfringens*, ЕС 3.5.1.24, Sigma-Aldrich).

Інструментальні методи дослідження: вимірювання артеріального тиску учасникам дослідження проводилось із застосуванням механічного тонометра Little Doctor LD-80. Реєстрація електрокардіограми проводилась на апараті «КАРД-200».

Неінструментальні методи дослідження.

Для оцінки серцево-судинного ризику застосовувались 5 валідованих шкал ризику, які дозволяли оцінити різні його категорії:

- 1) Globorisk [12] – ризик 10-річної смертності від серцево-судинних захворювань;
- 2) Фремінгемська шкала оцінки 10-річного ССР [13] – 10-річний ризик нефатальних та фатальних серцево-судинних подій;
- 3) ACC/АНА алгоритм 2013 року [14] – оцінка 10-річного ризику серцево-судинних захворювань та інсульту;
- 4) PROCAM [15] – 10-річний ризик гострих коронарних подій;
- 5) алгоритм ВООЗ [2] – 10-річний ризик нефатальних та фатальних серцево-судинних захворювань (інфаркт міокарда, гостре порушення мозкового кровообігу (ГПМК)).

Усі з них враховують вік, рівень систолічного АТ, куріння та наявність цукрового діабету. Стать враховується у чотирьох шкалах, окрім PROCAM, географічне місце проживання – в шкалі Globorisk та алгоритмі ВООЗ, прийом антигіпертензивної терапії – у Фремінгемській шкалі оцінки 10-річного ССР та ACC/АНА алгоритмі 2013 року, сімейний анамнез інфаркту міокарда – у шкалі PROCAM, раса – у ACC/АНА алгоритмі 2013 року. Відносно показників ліпідного обміну, рівень ЗХ включений у чотири шкали, окрім PROCAM, ЛПНЩ та ТГ – тільки у шкалу PROCAM, ЛПВЩ – у Фремінгемську шкалу оцінки 10-річного ССР, ACC/АНА алгоритм 2013 року та шкалу PROCAM. Зважаючи на вікові межі для оцінки ССР по різних шкалах, для учасників дослідження з контрольної групи молодше 40 років ССР приймався за 1% по шкалі Globorisk, ACC/АНА алгоритму 2013 року та алгоритму ВООЗ, менше 35 років – 20 балів по шкалі PROCAM, менше 30 років – 1% по Фремінгемській шкалі оцінки 10-річного ССР.

Статистична обробка отриманих в ході дослідження даних здійснювалась в статистичному пакеті IBM SPSS Statistics Base v.22 for Windows. Перед початком дослідження розраховувався мінімальний об'єм вибірки потенційних учасників дослідження, необхідний для забезпечення 80%

потужності на 5% рівні значимості, беручи до уваги дані попередніх досліджень. Для перевірки нормальності розподілу кількісних даних використовувався критерій Шапіро-Уїлка. Дані представлялись у вигляді середнього арифметичного зі стандартним відхиленням ($\text{Mean} \pm \text{SD}$) у випадку нормального розподілу даних або у вигляді медіани з першим та третім квантилями (Median (Q1-Q3)) при розподілі, відмінному від нормального. Відмінності між середніми значенням двох груп перевірялись із застосуванням непарного t-критерія Ст'юдента (при нормальному розподілі) або критерія Вілкоксона (при відмінному від нормального розподілу даних). Відмінності між 3 групами перевірялись із застосуванням методу множинних порівнянь ANOVA (при нормальному розподілі) або критерію Крускала-Уолліса (при відмінному від нормального розподілу даних); апостеріорні попарні порівняння виконувались із поправкою Бонферроні. Відмінності між групами по даним, які підлягали повторним вимірюванням, перевірялись шляхом однофакторного аналізу RMANOVA (при нормальному розподілі) або тесту Фрідмена (при відмінному від нормального розподілу даних). Для перевірки відмінностей між групами по категорійним даним застосовувався критерій хі-квадрат. Клінічний ефект оцінювався за допомогою показника відношення шансів (ВШ). Для визначення статистичного взаємозв'язку між даними застосовувались: коефіцієнт кореляції Пірсона або рангової кореляції Спірмена (r), методи побудови однофакторних та багатфакторних моделей лінійної та логістичної регресії. Відмінності між групами вважались вірогідно значимими при досягненні значення $p < 0,05$.

РОЗДІЛ 3

ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ФЕРМЕНТАТИВНОЇ АКТИВНОСТІ КИШКОВОЇ БАКТЕРІАЛЬНОЇ ГІДРОЛАЗИ СОЛЕЙ ЖОВЧНИХ КИСЛОТ, ДИСЛІПІДЕМІЇ ТА СЕРЦЕВО-СУДИННОГО РИЗИКУ

Виходячи з даних світової наукової літератури та на основі проведеного огляду літератури (Розділ 1 дисертаційної роботи), доведено роль кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот, що синтезується різними представниками кишкового мікробіому, в обміні холестерину. Але більшість досліджень були направлені або на вивчення ролі бактеріальної ГСЖК у *in vitro* та *in vivo* тваринних моделях переважно непрямими методами, або на визначення кількості генів в геномі бактерій людського кишкового мікробіому, що експресують ГСЖК. В той же час даних по дослідженню безпосередньо ферментативної активності кишкової бактеріальної ГСЖК та її взаємозв'язку з порушеннями ліпідного обміну та серцево-судинним ризиком у клінічних дослідженнях знайдено не було.

Тому метою першого етапу дисертаційного дослідження, який був виконаний за дизайном «випадок-контроль», було оцінити статистичний взаємозв'язок між відносною загальною активністю кишкової бактеріальної ГСЖК і рівнями показників ліпідного обміну та серцево-судинного ризику, оціненого за 5 валідованими шкалами, у практично здорових учасників та пацієнтів з дисліпідемією.

Для досягнення цієї мети загалом було обстежено та проаналізовано 103 учасники дослідження, з них 26 практично здорових (контрольна група) та 77 пацієнтів з дисліпідемією (загальна дослідна група). Згідно з таблицею 2.2, середній вік учасників із контрольної групи складав 31,5 (28-37), чоловіків та жінок було в рівній кількості (по 13), тоді як середній вік пацієнтів із дисліпідемією складав 58 (52-67), жінок (n=56) було більше, ніж чоловіків (n=21). Статистично групи відрізнялись за віком ($p < 0,001$), тоді як розподіл за

статтю був статистично однорідним ($p=0,067$). Індекс маси тіла був більшим у пацієнтів з дисліпідемією ($27,5\pm 3,7$) порівняно з практично здоровими учасниками ($23,3\pm 2,4$), $p<0,001$. 36 учасників з основної дослідної групи (46,8%) мали цукровий діабет 2 типу, жоден учасник з контрольної групи не мав ЦД 2 типу. Розподіл учасників за частотою куріння був однорідним – 8 з контрольної групи (30,8%) та 23 із загальної дослідної групи (29,9%), $p=0,873$. Розподіл учасників за частотою сімейного анамнезу інфаркту міокарда також був однорідним - 9 з контрольної групи (34,6%) та 26 із загальної дослідної групи (33,8%). Групи відрізнялись між собою за рівнями систолічного АТ – 120 (110-120) і 135 (120-145) та діастолічного АТ – 75 (70-80) та 85 (80-90) у контрольній і загальній дослідній групах, відповідно, $p<0,001$. 25 пацієнтів з дисліпідемією (32,5%) на момент включення у дослідження приймали антигіпертензивну терапію. Показники ліпідограми, креатиніну, ШКФ та глюкози натще на момент включення у дослідження представлені у таблиці 3.1.

Таблиця 3.1.

Вихідні показники ліпідограми, креатиніну, ШКФ та глюкози натще загальної дослідної та контрольної груп дослідження.

Показник	Контрольна група (n=26)*	Загальна дослідна група (n=77)*	Відмінність, p
ЗХ, ммоль/л	4,64 (4,19-4,83)	5,88 (5,49-6,52)	P<0,001
ЛПНЩ, ммоль/л	2,61 (2,17-2,84)	4,01 (3,73-4,52)	P<0,001
ЛПВЩ, ммоль/л	1,54±0,44	1,39±0,38	P=0,096
ТГ, ммоль/л	1,15 (0,8-1,7)	1,31 (0,78-2,18)	P=0,346
ІА	-0,1 (-0,34-0,1)	-0,04 (-0,3-0,32)	P=0,239
КА	2,2±0,9	3,8±1,4	P<0,001
Креатинін, мкмоль/л	68±8,4	76±8,2	P<0,001
ШКФ, мл/хв/1,73 м ²	101 (95-110)	73 (63-82)	P<0,001
Глюкоза крові натще, ммоль/л	4,53±0,53	5,47±1,1	P<0,001

*Дані були представлені у вигляді Mean±SD при нормальному розподілі або Median (Q1-Q3) при розподілі, відмінному від нормального.

У пацієнтів з дисліпідемією були вірогідно вищі показники ЗХ, ЛПНЩ, коефіцієнту атерогенності, креатининіу, глюкози крові натще та нижчі рівні ШКФ, порівняно з практично здоровими учасниками, $p < 0,001$ у всіх порівняннях. Отже, контрольна та загальна дослідна групи на момент включення у дослідження відрізнялись між собою по ряду немодифікованих та модифікованих чинників серцево-судинного ризику, але в той же час були однорідними за гендерним розподілом, анамнезом куріння та інфаркту міокарда, рівнями ТГ, ЛПВЩ та індексом атерогенності.

Всім учасникам дослідження під час другого візиту виконувалась оцінка серцево-судинного ризику за 5 валідованими шкалами, що дозволяло оцінити різні категорії ССР на момент початку дослідження (таблиця 3.2.), а також забір зразків калу для визначення ферментативної активності кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот (таблиця 3.3., Рис. 3.1.)

Таблиця 3.2.

Вихідні рівні серцево-судинного ризику, оціненого за 5 валідованими шкалами, загальної дослідної та контрольної груп дослідження.

Показник	Контрольна група (n=26)*	Загальна дослідна група (n=77)*	Відмінність, p
Globorisk, %	1 (1-1)	37 (15-56)	$P < 0,001$
Фремінгемська шкала оцінки 10- річного ССР, %	1,25 (1-2,8)	17,9 (9,7-33,5)	$P < 0,001$
АСС/АНА алгоритм 2013 року, %	1 (1-1)	11,3 (3,4-21,8)	$P < 0,001$
PROCAM, бали	20 (20-20)	50 (41-58)	$P < 0,001$
Алгоритм ВООЗ, %	1 (1-1)	19 (9-31)	$P < 0,001$

*Дані були представлені у вигляді Mean±SD при нормальному розподілі або Median (Q1-Q3) при розподілі, відмінному від нормального.

У пацієнтів з дисліпідемією були вірогідно вищі рівні ССР за всіма п'ятьма шкалами порівняно з практично здоровими учасниками, $p < 0,001$ у всіх порівняннях.

Таблиця 3.3.

Значення відносної активності кишкової бактеріальної ГСЖК у учасників загальної дослідної та контрольної груп дослідження.

	Контрольна група (n=26), Mean±SD	Загальна дослідна група (n=77), Mean±SD	Відмінність, p
ВА кишкової бактеріальної ГСЖК, Од/мл*	0,22±0,12	0,01±0,05	P<0,001

*Відносна активність (ВА) кишкової бактеріальної ГСЖК виражалась в одиницях активності холоїгліцин гідролази на мл (Од/мл) (з *Clostridium perfringens*, ЕС 3.5.1.24, Sigma-Aldrich).

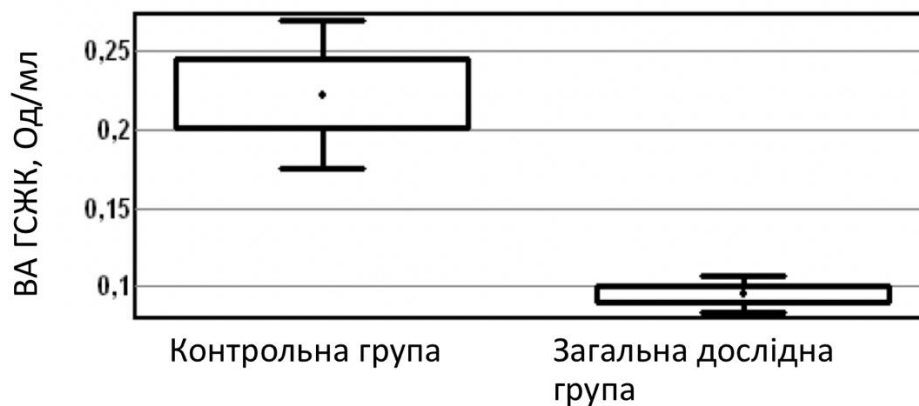


Рис. 3.1. Відносна активність кишкової бактеріальної ГСЖК у учасників загальної дослідної та контрольної груп дослідження (середні значення із стандартними відхиленнями та довірчими інтервалами).

У пацієнтів з дисліпідемією були виявлені значно нижчі показники ферментативної активності кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот ($0,01 \pm 0,05$ Од/мл), порівняно з практично здоровими учасниками ($0,22 \pm 0,12$ Од/мл), $p < 0,001$.

Для подальшого виявлення взаємозв'язку між ферментативною активністю кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот та показниками ліпідограми, ІА та КА застосовувався кореляційний аналіз, а також метод побудови моделі лінійної регресії. Коефіцієнти кореляції представлені у таблиці 3.4.

Таблиця 3.4.

Коефіцієнти кореляції між відносною активністю кишкової бактеріальної ГСЖК та показниками ліпідограми, ІА та КА.

Показник	Коефіцієнт кореляції	Відмінність від 0, р
ЗХ	-0,38	P<0,001
ЛПНЦ	-0,36	P<0,001
ЛПВЦ	-0,02	P=0,842
ТГ	-0,015	P>0,05
ІА	-0,025	P>0,05
КА	-0,22	P=0,029

Отже, був виявлений статистично вірогідний негативний кореляційний зв'язок помірної сили між відносною активністю кишкової бактеріальної ГСЖК та ЗХ (-0,38, $p<0,001$) та ЛПНЦ (-0,36, $p<0,001$), а також негативний кореляційний зв'язок слабкої сили із коефіцієнтом атерогенності (-0,22, $p=0,029$). Такі результати вказують на те, що вищі рівні активності зазначеного ферменту були асоційовані із нижчими рівнями безпосередньо атерогенних ліпопротеїнів (ЗХ та ЛПНЦ) та коефіцієнту атерогенності.

При використанні методу побудови моделей лінійної регресії було виявлено наявність лінійного взаємозв'язку ($R<0$, $p<0,001$) між рівнями ліпопротеїнів низької щільності та відносною активністю кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот, що описується рівнянням:

$$\text{ЛПНЦ} = -5,33 \cdot (\text{ВА ГСЖК}) + 4,479,$$

де ВА ГСЖК – відносна активність кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот, виражена в одиницях активності холоїлгліцин гідролази

на мЛ (Од/мЛ) (з Clostridium perfringens, EC 3.5.1.24, Sigma-Aldrich); ЛПНЩ виражені в ммоль/л.

Коефіцієнт детермінації побудованої моделі дорівнює 0,209. На рис.3.2. представлено графік даної моделі лінійної регресії.

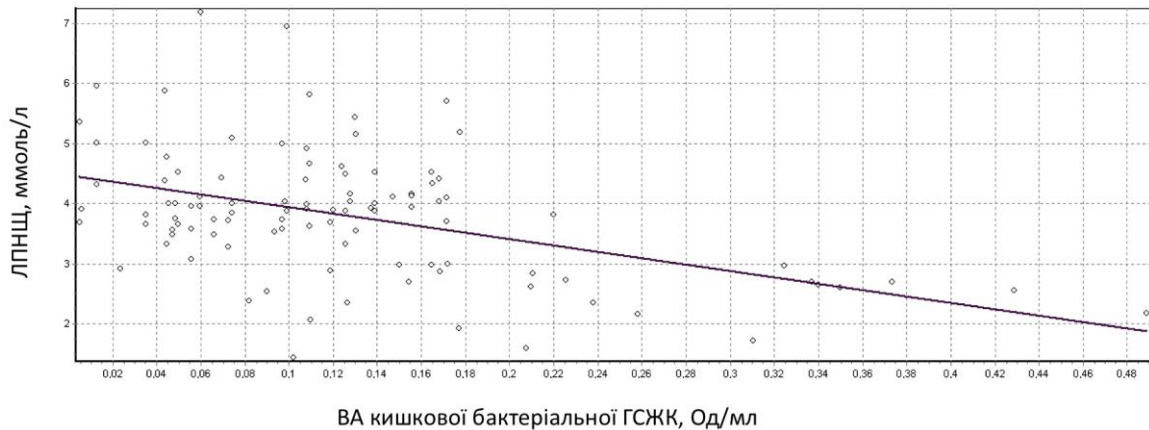


Рис.3.2. Графік моделі лінійної регресії взаємозв'язку ЛПНЩ та відносної активності кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот.

Для виявлення статистичного взаємозв'язку між ризиком дисліпідемії та іншими чинниками, включаючи відносну активність кишкової бактеріальної ГСЖК, застосовувались методи побудови та аналізу однофакторних та багатфакторних моделей логістичної регресії з конструюванням кривих операційних характеристик (ROC-кривих). У таблиці 3.5. наведені показники однофакторної моделі логістичної регресії.

Таблиця 3.5.

Показники однофакторної моделі логістичної регресії взаємозв'язку ризику дисліпідемії та відносної активності кишкової бактеріальної ГСЖК

Чинник	Коефіцієнт моделі, $b \pm m^*$	Рівень значимості відмінності від 0, p	Показник ВШ (95% ВІ)
ВА кишкової бактеріальної ГСЖК	$-23 \pm 5,4$	$<0,001$	$1,06 \cdot 10^{-10}$ (95% ВІ; $2,5 \cdot 10^{-15}$ - $4,5 \cdot 10^{-6}$)

*b – коефіцієнт моделі; m – стандартна похибка

Однофакторний аналіз виявив, що зі збільшенням відносної активності кишкової бактеріальної ГСЖК, ризик дисліпідемії знижується, $ВШ=1,06 \cdot 10^{-10}$ (95% ВІ; $2,5 \cdot 10^{-15}$ - $4,5 \cdot 10^{-6}$). На рис.3.3. представлено ROC-криву даної моделі.

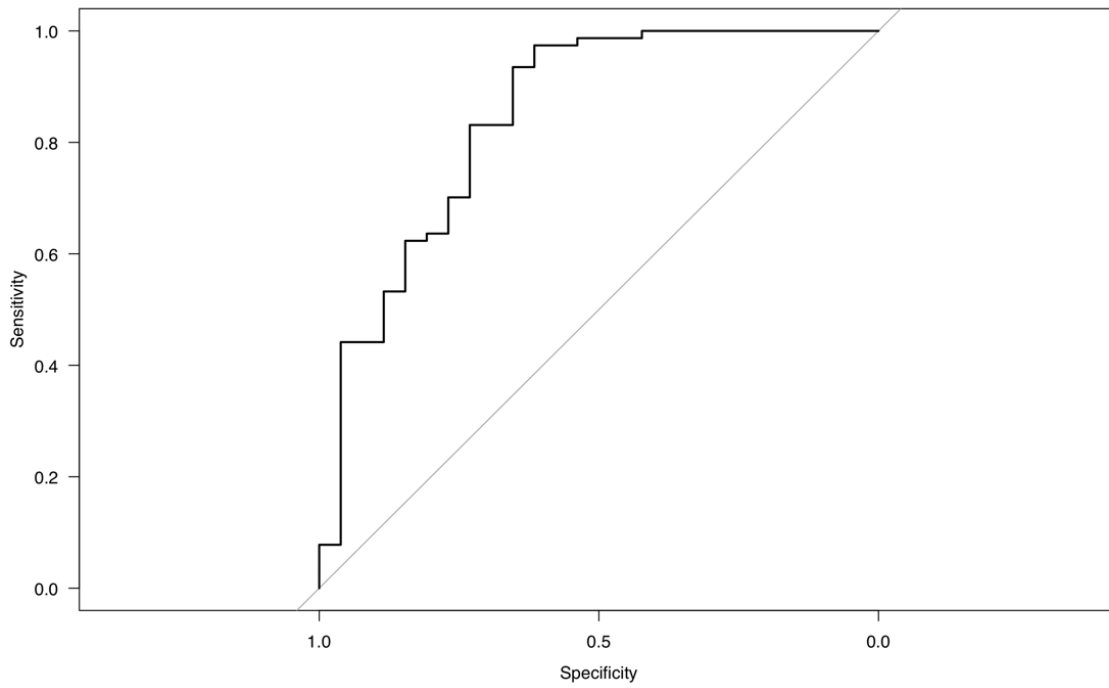


Рис.3.3. Крива операційних характеристик (ROC-крива) однофакторної моделі логістичної регресії взаємозв'язку між ризиком дисліпідемії та відносною активністю кишкової бактеріальної ГСЖК.

Площа під ROC-кривою $AUC=0,845$ (95% ВІ; 0,746-0,943), що вказує на добру якість побудованої моделі.

Наступним етапом було проведено багатофакторний аналіз зв'язку ризику дисліпідемії із набором ряду чинників. Факторні ознаки, які включались до аналізу: вік, стать, ІМТ, наявність ЦД 2 типу, анамнез паління, наявність артеріальної гіпертензії та відносна активність кишкової бактеріальної ГСЖК. Побудована семифакторна модель виявила залежність ризику дисліпідемії від набору перерахованих вище факторних ознак, площа під ROC-кривою $AUC=0,99$ (95% ВІ; 0,99-1), $p < 0,001$ (рис.3.4.). Однак при наступному відборі мінімального набору ознак, для чого використовувався метод покрокового включення/виключення на основі критерію Акаїке (AIC), не було виявлено статистично значимого зв'язку окремих ознак при стандартизації за іншими

ознаками. Це свідчить про відсутність мінімального набору чинників із представлених 7, які б мали більший (вирішальний) вплив на визначення ризику дисліпідемії порівняно з іншими ознаками даної семифакторної моделі.

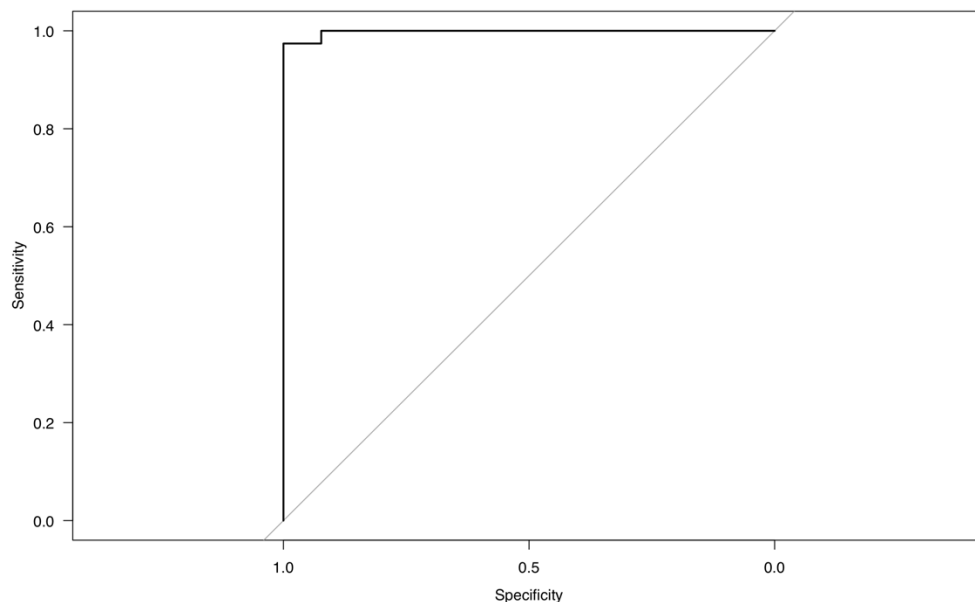


Рис.3.4. Крива операційних характеристик (ROC-крива) семи-факторної моделі логістичної регресії взаємозв'язку між ризиком дисліпідемії та набором факторних ознак (вік, стать, ІМТ, наявність ЦД 2 типу, анамнез паління, наявність артеріальної гіпертензії та відносна активність кишкової бактеріальної ГСЖК).

Що стосується взаємозв'язку між відносною активністю кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних та різними категоріями серцево-судинного ризику, оціненого за 5 шкалами, був виконаний кореляційний аналіз. Коефіцієнти кореляції представлені у таблиці 3.6.

Таблиця 3.6.

Коефіцієнти кореляції між відносною активністю кишкової бактеріальною ГСЖК та рівнями ССР, оціненого за валідованими шкалами

Шкала ССР	Коефіцієнт кореляції	Відмінність від 0, p
Globorisk, %	-0,34	P<0,01

Продовження таблиці

Показник	Коефіцієнт кореляції	Відмінність від 0, p
Фремінгемська шкала оцінки 10-річного ССР, %	-0,34	P<0,01
ACC/АНА алгоритм 2013 року, %	-0,32	P<0,01
PROCAM, бали	-0,35	P<0,01
Алгоритм ВООЗ, %	-0,34	P<0,01

Був виявлений статистично вірогідний негативний кореляційний зв'язок помірної сили між відносною активністю кишкової бактеріальної ГСЖК та рівнями серцево-судинного ризику, оціненого за шкалами: Globorisk (-0,34; p<0,01), Фремінгемська шкала оцінки 10-річного ССР (-0,34; p<0,01), ACC/АНА алгоритм 2013 року (-0,32; p<0,01), PROCAM (-0,35; p<0,01), алгоритм ВООЗ (-0,34; p<0,01). Такі результати вказують на те, що вищі рівні активності зазначеного ферменту були асоційовані із нижчими рівнями різних категорій серцево-судинного ризику, оціненого за валідованими шкалами.

Отже, підводячи підсумок даного розділу роботи, було показано, що відносна ферментативна активність кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот була вірогідно вищою у практично здорових учасників порівняно з пацієнтами з дисліпідемією. Відносна активність кишкової бактеріальної ГСЖК негативно корелювала із загальним холестеринем, ліпопротеїнами низької щільності (із наявністю лінійного зв'язку), коефіцієнтом атерогенності та рівнями серцево-судинного ризику, оціненого за всіма 5 шкалами. Була виявлена негативна асоціація між ризиком дисліпідемії та відносною активністю кишкової бактеріальної ГСЖК.

Зазначені в цьому розділі результати першого етапу дисертаційної роботи були висвітлені у відповідних публікаціях [134]:

1. Neverovskiy A, Chernyavskiy V, Shypulin V, et al. Gut bacterial bile salt hydrolase activity correlates with cardiovascular risk: a case-control study. *Gastroenterologia*. 2020;54(4):228-223. doi: 10.22141/2308-2097.54.4.2020.216711.

РОЗДІЛ 4

ЕФЕКТИВНІСТЬ ПРОБІОТИКА НА ОСНОВІ *LACTOBACILLUS PLANTARUM* У КОРЕКЦІЇ ДИСЛІПІДЕМІЇ, МОДИФІКАЦІЇ ВІДНОСНОЇ АКТИВНОСТІ КИШКОВОЇ БАКТЕРІАЛЬНОЇ ГСЖК ТА ДОСЯГНЕННЯ КІНЦЕВИХ ЗМІННИХ ЕФЕКТИВНОСТІ ТЕРАПІЇ ДИСЛІПІДЕМІЇ

Як було зазначено в Розділі 1 дисертаційної роботи, *in vitro* дослідження на клітинних та тканинних культурах, *in vivo* тваринні моделі та клінічні дослідження за участі здорових учасників та пацієнтів з гіперхолестеринемією показали, що застосування різноманітних пробіотичних бактерій може призводити до корекції дисліпідемії. Особливу увагу в дослідженнях приділяли та приділяють пробіотичним бактеріям, які експресують гідролазу солей жовчних кислот, вважаючи її ферментативну активність основним механізмом гіполіпідемічного ефекту пробіотиків. Одними з таких бактерій є різні штами *Lactobacilli*, оскільки вони можуть містити гени різних типів ГСЖК, які при експресії мають відносно високу ферментативну активність. Мета-аналізи та систематичні огляди попередніх клінічних досліджень виявили, що застосування *Lactobacillus plantarum* призводило до зменшення як загального холестерину, так і ліпопротеїнів низької щільності. Але автори зазначали необхідність подальших досліджень ефекту даних пробіотичних бактерій з метою прийняття впевненого рішення для використання в клінічній практиці. До того ж, практично відсутні літературні дані відносно вивчення можливих механізмів гіпохолестеринемічної дії пробіотиків у клінічних дослідженнях та їх взаємозв'язку з клінічною ефективністю.

Тому однією з цілей другого етапу дисертаційного дослідження, який був проведений за дизайном відкритого порівняльного рандомізованого паралельного дослідження, було оцінити клінічний ефект пробіотиків на основі *Lactobacillus plantarum* у корекції показників ліпідного обміну та можливий

взаємозв'язок із модифікацією відносної активності кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот у пацієнтів з дисліпідемією.

Для досягнення цієї мети, пацієнтів із загальної дослідної групи (n=77) було рандомно розподілено на 2 групи: Група 1 (n=41), де призначалась комбінація симвастатину та пробіотики на основі *Lactobacillus plantarum*, та Група 2 (n=36), де призначався лише симвастатин. Вихідні клініко-демографічні показники Групи 1 та Групи 2 представлені у таблиці 2.3. Групи були статистично однорідними за віком, розподілом за статтю, ІМТ, наявністю ЦД 2 типу, анамнезом куріння та сімейного анамнезу інфаркту міокарда, рівнями систолічного та діастолічного АТ, анамнезом прийому антигіпертензивної терапії. Показники ліпідограми, креатиніну, ШКФ та глюкози натще на момент рандомізації представлені у таблиці 4.1.

Таблиця 4.1

Вихідні показники ліпідограми, креатиніну, ШКФ та глюкози натще пацієнтів з Групи 1 та Групи 2

Показник	Група 1 (n=41)*	Група 2 (n=36)*	Відмінність, р
ЗХ, ммоль/л	5,76 (5,45-6,52)	5,93 (5,63-6,53)	P=0,537
ЛПНЩ, ммоль/л	4,03 (3,82-4,52)	3,97 (3,67-4,48)	P=0,302
ЛПВЩ, ммоль/л	1,38±0,45	1,4±0,3	P=0,819
ТГ, ммоль/л	1,27 (0,71-1,76)	1,48 (0,9-2,88)	P=0,085
ІА	-0,06 (-0,4-0,27)	-0,002 (-0,24-0,4)	P=0,224
КА	3,93±1,64	3,6±1,13	P=0,302
Креатинін, мкмоль/л	76,8±9	75,6±7,1	P=0,518
ШКФ, мл/хв/1,73 м ²	74 (63-86)	70 (63-80)	P=0,62
Глюкоза крові натще, ммоль/л	5,5±1,1	5,4±1,1	P=0,865

*Дані були представлені у вигляді Mean±SD при нормальному розподілі або Median (Q1-Q3) при розподілі, відмінному від нормального.

Групи 1 та 2 були однорідними за показниками ліпідного обміну (ЗХ, ЛПНЩ, ЛПВЩ, ТГ), індексом та коефіцієнтом атерогенності, рівнями креатиніну плазми, ШКФ та глюкози крові натще. Отже, дослідні Група 1 та Група 2 не відрізнялись між собою за демографічними та лабораторними показниками на момент рандомізації, тому підлягали наступному порівнянню для визначення відмінностей між призначеними різними схемами лікування.

Перед призначенням досліджуваних капсул із пробіотичними бактеріями *Lactobacillus plantarum* у кількості $2 \cdot 10^9$ КУО в одній капсулі визначалась відносна активність бактеріальної гідролази солей жовчних кислот даних капсул. Для порівняння використовувались відповідні кількості бактерій *Lactobacillus plantarum* з попередньо елімінованими з їх геному генами ГСЖК. Було виявлено, що капсули з досліджуваними пробіотичними бактеріями мають відносну активність бактеріальної ГСЖК $1,0006 \pm 0,037$ Од/мл порівняно із $0,033 \pm 0,009$ Од/мл штаму *Lactobacillus plantarum* з попередньо елімінованими генами ГСЖК, $p < 0,05$ (рис.4.1).

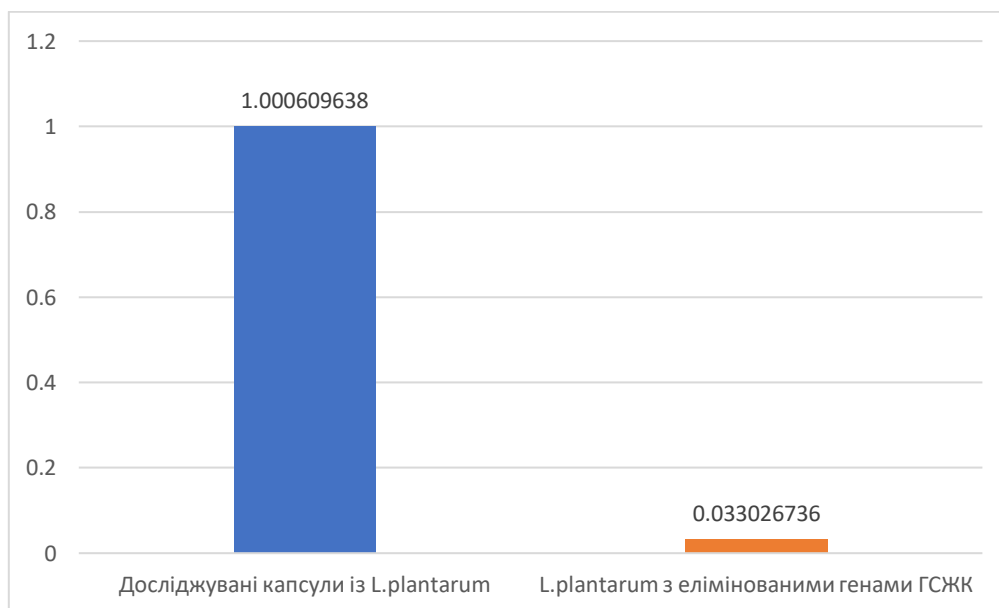


Рис.4.1. Відносна активність бактеріальної ГСЖК (Од/мл) досліджуваних капсул із пробіотичними бактеріями *Lactobacillus plantarum* та штаму *Lactobacillus plantarum* з попередньо елімінованими генами ГСЖК.

Отже, досліджувані в дисертаційній роботі пробіотичні бактерії *Lactobacillus plantarum* мали більше ніж в 30 разів більшу ферментативну активність порівняно зі штамом даних бактерій без генів ГСЖК.

4.1. Гіполіпідемічна ефективність порівнюваних схем лікування.

Через 4, 8 та 12 тижнів терапії досліджуваними схемами лікування в учасників дослідження оцінювались показники ЗХ, ЛПНЩ, ЛПВЩ, ТГ, ІА та КА. В таблиці 4.2 представлені дані по вказаним вище показникам в Групі 1 між різними часовими проміжками дисертаційного дослідження.

Таблиця 4.2

Показники ліпідного обміну, ІА та КА в Групі 1 протягом часових проміжків дослідження.

Термін	ЗХ* (ммоль/л)	ЛПНЩ* (ммоль/л)	ЛПВЩ* (ммоль/л)	ТГ* (ммоль/л)	ІА* (ммоль/л)	КА* (ммоль/л)
Вихідні	5,76 (5,45- 6,52)	4,03 (3,82- 4,52)	1,38±0,45	1,27 (0,71- 1,76)	-0,06 (- 0,4-0,27)	3,8 (2,5- 5,1)
4 тижні	4,76 (4,38- 4,99)	3,02 (2,74- 3,28)	1,37±0,45	1,08 (0,72- 2,02)	-0,056 (- 0,42- 0,33)	2,7 (1,7- 3,7)
8 тижнів	4,82 (4,35-5,1)	3,09 (2,67- 3,46)	1,44±0,43	1,06 (0,79- 1,45)	-0,11 (- 0,33-0,1)	2,3 (1,8- 2,8)
12 тижнів	4,84 (4,03- 4,94)	2,97 (2,6- 3,3)	1,33±0,44	1,1 (0,7- 1,43)	-0,034 (- 0,38- 0,12)	2,7 (1,6- 3,6)
Відмінність, p	p<0,001	p<0,001	p=0,387	p=0,987	p=0,97	p<0,001

*Дані були представлені у вигляді Mean±SD при нормальному розподілі або Median (Q1-Q3) при розподілі, відмінному від нормального.

Рівні загального холестерину, ліпопротеїнів низької щільності та коефіцієнту атерогенності в Групі 1, учасники якої отримували комбінацію

симвастатину та капсул із пробіотичними бактеріями *Lactobacillus plantarum*, статистично відрізнялись між різними часовими проміжками, $p < 0,001$ у всіх порівняннях. При апостеріорному попарному порівнянні було виявлено, що вихідні рівні ЗХ, ЛПНЩ та КА були вірогідно вищі, порівняно з рівнями через 4, 8 та 12 тижнів лікування, $p < 0,001$ у всіх порівняннях (рис. 4.2, 4.3, 4.4).



Рис. 4.2. Рівні ЗХ в Групі 1 між часовими проміжками дослідження.

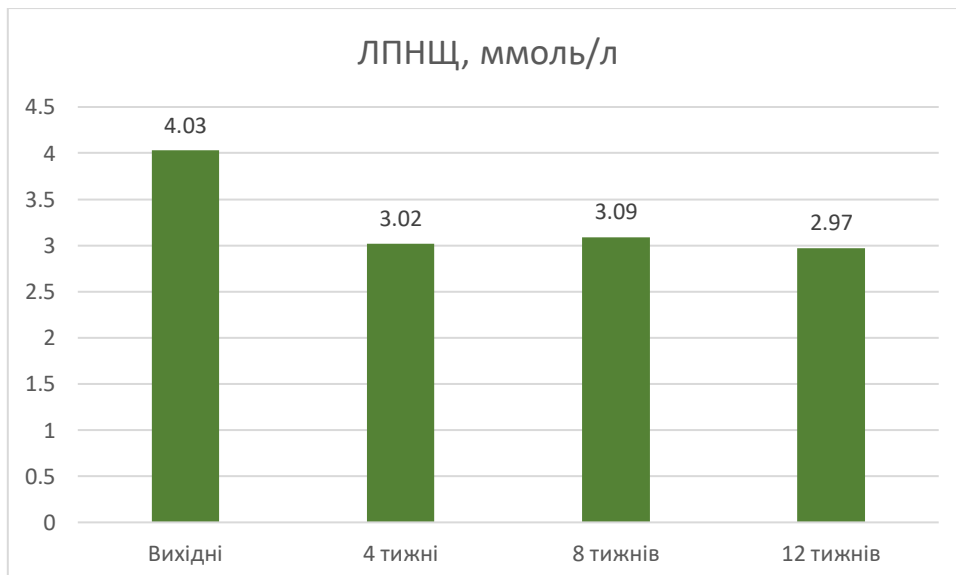


Рис. 4.3. Рівні ЛПНЩ в Групі 1 між часовими проміжками дослідження.

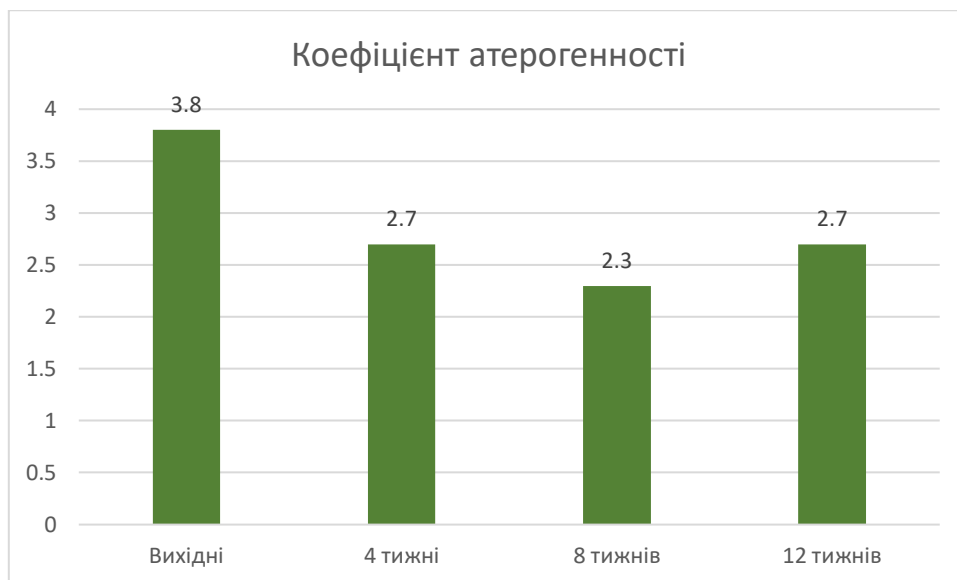


Рис. 4.4. Значення коефіцієнту атерогенності в Групі 1 між часовими проміжками дослідження.

В той же час не було знайдено статистично вірогідних відмінностей між рівнями даних показників між 4 та 8, між 4 та 12 та між 8 та 12 тижнями лікування. Це вказує на те, що ефект комбінації симвастатину та пробіотику на основі *Lactobacillus plantarum* спостерігався починаючи з 4 тижня і надалі зберігався до 12 тижня, але при цьому він не посилювався зі збільшенням тривалості терапії. Стосовно показників ЛПВЩ, ТГ та ІА в Групі 1 не було знайдено вірогідних відмінностей між різними часовими проміжками.

У жодного учасника із Групи 1 не було зареєстровано підвищення активностей АЛТ та АСТ більше 3 верхніх норм та КФК більше 4 верхніх норм.

В таблиці 4.3 представлені дані по показникам ліпідного обміну, ІА та КА в Групі 2 між різними часовими проміжками дисертаційного дослідження.

Таблиця 4.3

Показники ліпідного обміну, ІА та КА в Групі 2 протягом часових проміжків дослідження

Термін	ЗХ* (ммоль/л)	ЛПНЩ* (ммоль/л)	ЛПВЩ* (ммоль/л)	ТГ* (ммоль/л)	ІА* (ммоль/л)	КА* (ммоль/л)
Вихідні	5,93 (5,63- 6,53)	3,97 (3,67- 4,48)	1,4±0,3	1,48 (0,9- 2,88)	-0,002 (- 0,24-0,4)	3,4 (2,7- 4,4)

Продовження таблиці 4.3

Термін	ЗХ* (ммоль/л)	ЛПНЦ* (ммоль/л)	ЛПВЦ* (ммоль/л)	ТГ* (ммоль/л)	ІА* (ммоль/л)	КА* (ммоль/л)
4 тижні	4,94 (4,42-5,7)	3,2 (2,62- 3,57)	1,41±0,32	1,6 (1,04- 2,49)	0,06 (- 0,16- 0,29)	2,8 (2- 3,8)
8 тижнів	5,12 (4,78- 5,98)	3,32 (3,09- 3,67)	1,45±0,32	1,33 (0,92- 2,14)	-0,04 (- 0,26- 0,22)	2,6 (2- 3,7)
12 тижнів	5,29 (4,51- 5,77)	3,35 (2,89- 3,61)	1,39±0,38	1,58 (0,99-2,2)	-0,003 (- 0,2-0,22)	2,8 (2,4- 3,3)
Відмінні сть, р	p<0,001	p<0,001	p=0,6	p=0,338	p=0,28	p<0,001

*Дані були представлені у вигляді Mean±SD при нормальному розподілі або Median (Q1-Q3) при розподілі, відмінному від нормального.

Рівні загального холестерину, ліпопротеїнів низької щільності та коефіцієнту атерогенності в Групі 2, учасники якої отримували лише симвастатин, статистично відрізнялись між різними часовими проміжками, p<0,001 у всіх порівняннях. При апостеріорному попарному порівнянні було виявлено, що вихідні рівні ЗХ, ЛПНЦ та КА були вірогідно вищі порівняно з рівнями через 4, 8 та 12 тижнів лікування, p<0,01 у всіх порівняннях (рис. 4.5, 4.6, 4.7). В той же час не було винайдено статистично вірогідних відмінностей між рівнями даних показників між 4 та 8, між 4 та 12 та між 8 та 12 тижнями лікування. Це вказує на те, що ефект монотерапії симвастатином спостерігався починаючи з 4 тижня і надалі зберігався до 12 тижня, але при цьому він не змінювався зі збільшенням тривалості терапії. Стосовно показників ЛПВЦ, ТГ та ІА в Групі 2 не було знайдено вірогідних відмінностей між різними часовими проміжками.

У жодного учасника із Групи 2 не було зареєстровано підвищення активностей АЛТ та АСТ більше 3 верхніх норм та КФК більше 4 верхніх норм.

Отже, в кожній окремо взятій групі протягом різних часових проміжків дослідження спостерігалось зменшення одних і тих самих показників (ЗХ, ЛПНЩ, КА), але в той же час не визначились вірогідні зміни інших показників (ЛПВЩ, ТГ та ІА). З метою визначення можливого ефекту саме додаткового призначення пробіотичних бактерій на основі *Lactobacillus plantarum*, показники ліпідограми, КА та ІА порівнювались між групами протягом часових проміжків дослідження.

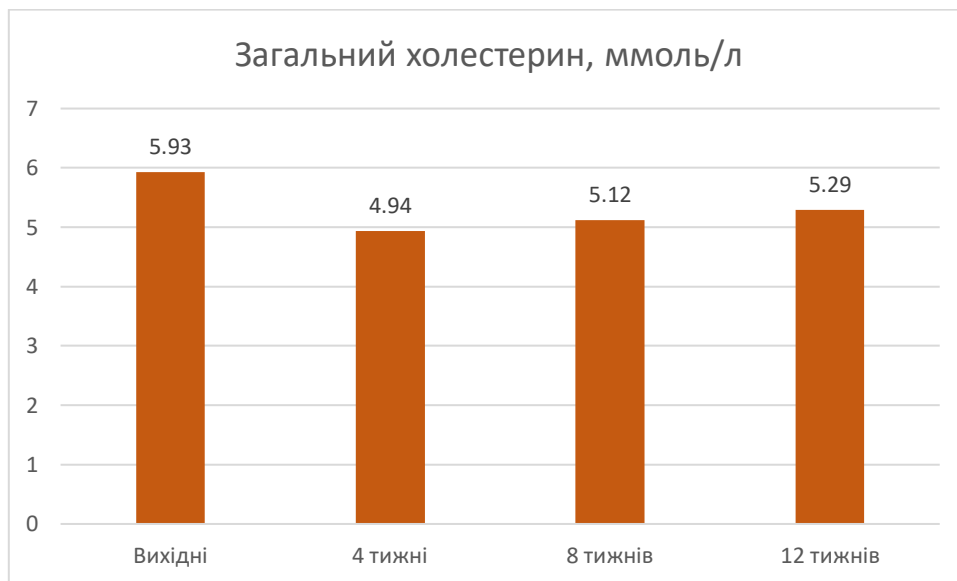


Рис. 4.5. Рівні ЗХ в Групі 2 між часовими проміжками дослідження.

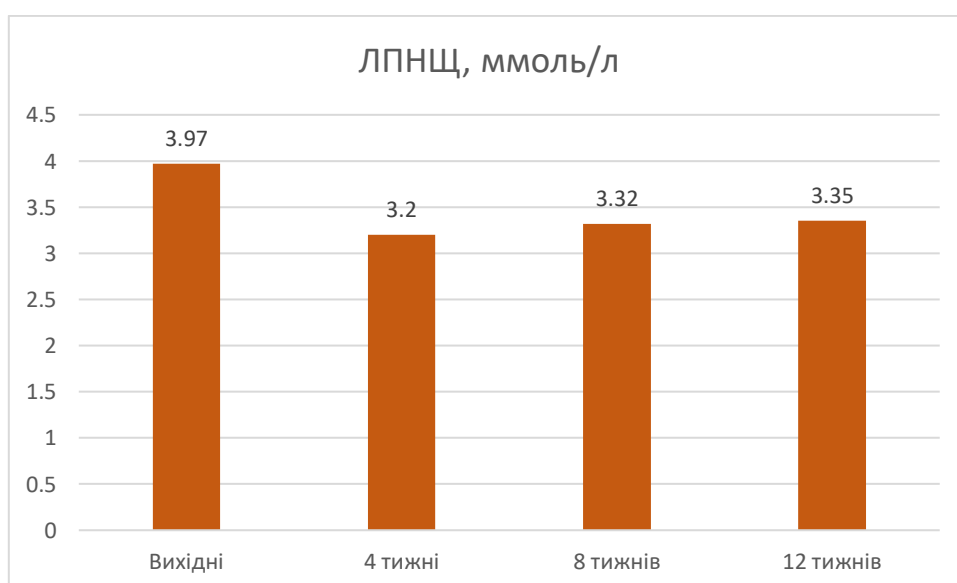


Рис. 4.6. Рівні ЛПНЩ в Групі 2 між часовими проміжками дослідження.

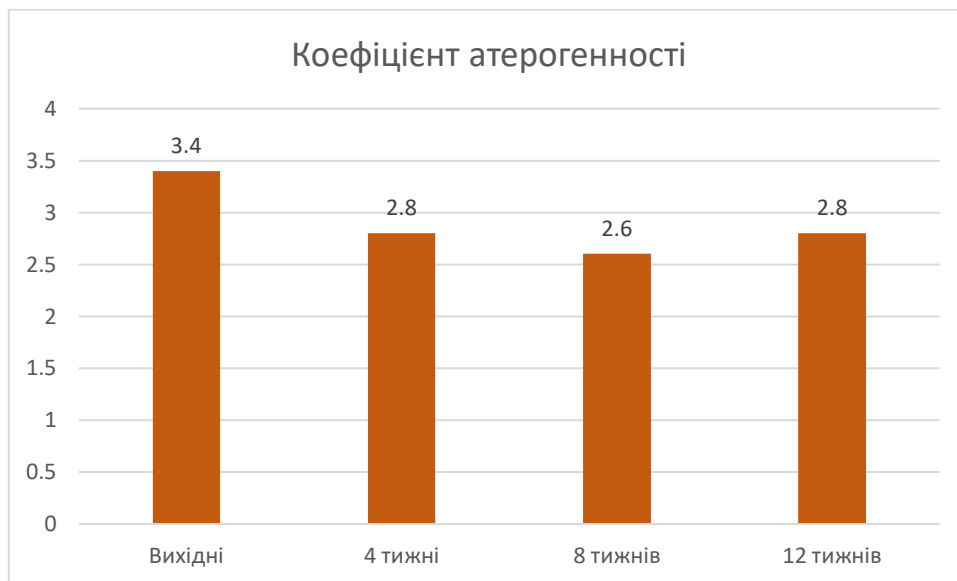


Рис. 4.7. Значення коефіцієнту атерогенності в Групі 2 між часовими проміжками дослідження.

В таблиці 4.4 представлені дані по показникам ліпідного обміну, ІА та КА між різними часовими проміжками в Групі 1 та Групі 2 та їх порівняння між групами дослідження.

Таблиця 4.4.

Показники ліпідного обміну, ІА та КА в Групі 1 та Групі 2 протягом часових проміжків дослідження

Показник	Група 1 (n=41)*	Група 2 (n=36)*	Відмінність, p
Вихідні			
ЗХ, ммоль/л	5,76 (5,45-6,52)	5,93 (5,63-6,53)	P=0,537
ЛПНЩ, ммоль/л	4,03 (3,82-4,52)	3,97 (3,67-4,48)	P=0,302
ЛПВЩ, ммоль/л	1,38±0,45	1,4±0,3	P=0,819
ТГ, ммоль/л	1,27 (0,71-1,76)	1,48 (0,9-2,88)	P=0,085
ІА	-0,06 (-0,4-0,27)	-0,002 (-0,24-0,4)	P=0,224
КА	3,93±1,64	3,6±1,13	P=0,302
Через 4 тижні			
ЗХ, ммоль/л	4,76 (4,38-4,99)	4,94 (4,4-5,7)	p=0,070
ЛПНЩ, ммоль/л	3,04±0,54	3,2±0,76	p=0,298

Продовження таблиці 4.4.

Показник	Група 1 (n=41)*	Група 2 (n=36)*	Відмінність, p
ЛПВЩ, ммоль/л	1,37±0,45	1,41±0,32	p=0,676
ТГ, ммоль/л	1,33±0,75	1,74±0,96	p=0,043
ІА	-0,06 (-0,42-0,33)	0,06 (-0,16-0,29)	p=0,307
КА	2,84±1,34	2,85±0,96	p=0,992
Через 8 тижнів			
ЗХ, ммоль/л	4,83±0,56	5,42±0,93	p=0,002
ЛПНЩ, ммоль/л	3,1±0,58	3,46±0,73	p=0,016
ЛПВЩ, ммоль/л	1,44±0,43	1,45±0,32	p=0,929
ТГ, ммоль/л	1,06 (0,79-1,45)	1,33 (0,92-2,14)	p=0,115.
ІА	-0,08±0,31	-0,01±0,3	p=0,321
КА	2,33 (1,78-2,83)	2,57 (2-3,74)	p=0,221
Через 12 тижнів			
ЗХ, ммоль/л	4,84 (4,03-4,94)	5,29 (4,51-5,77)	p<0,001
ЛПНЩ, ммоль/л	2,97 (2,6-3,3)	3,35 (2,89-3,61)	p=0,002
ЛПВЩ, ммоль/л	1,33±0,44	1,39±0,38	p=0,486
ТГ, ммоль/л	1,1 (0,7-1,43)	1,58 (0,99-2,2)	p=0,007
ІА	-0,07±0,35	0,04±0,27	p=0,133
КА	2,7 (1,65-3,59)	2,8 (2,39-3,32)	p=0,369

*Дані були представлені у вигляді Mean±SD при нормальному розподілі або Median (Q1-Q3) при розподілі, відмінному від нормального.

При порівнянні показників ліпідограми, ІА та КА між Групою 1 та Групою 2 протягом часових проміжків дослідження, було виявлено, що рівні ЗХ та ЛПНЩ були вірогідно нижчими в Групі 1 після 8 тижнів (p=0,002 та p=0,016, відповідно) та 12 тижнів (p<0,001 та p=0,002, відповідно) прийому досліджуваних схем лікування (рис. 4.8, 4,9). Рівні ЛПВЩ вірогідно не відрізнялись між групами протягом дослідження. Рівні ТГ були вірогідно нижчими у Групі 1 через 4 тижні (p=0,043) та 12 тижнів (p=0,007) прийому

досліджуваних схем лікування (рис. 4.10). Значення індексу атерогенності та коефіцієнту атерогенності не відрізнялись між групами протягом часових проміжків дослідження. Отже, комбіноване лікування симвастатином та пробіотиком на основі *Lactobacillus plantarum* було більш ефективним в зниженні показників загального холестерину та ліпопротеїнів низької щільності починаючи з 8 тижня, що продовжувало спостерігатись і через 12 тижнів прийому досліджуваних препаратів. Додатково, комбіноване лікування було більш ефективним в зниженні рівнів тригліцеридів через 4 тижні та 12 тижнів дослідження, однак через 8 тижнів прийому препаратів вірогідної різниці між групами не спостерігалось.

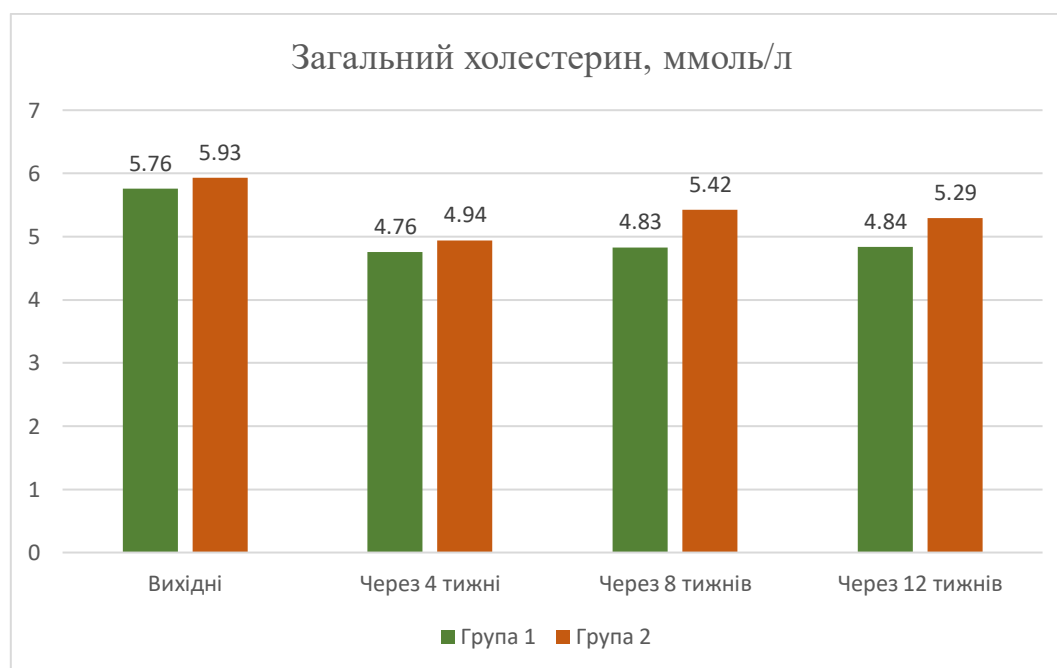


Рис.4.8. Рівні ЗХ в Групі 1 та Групі 2 протягом часових проміжків дослідження.

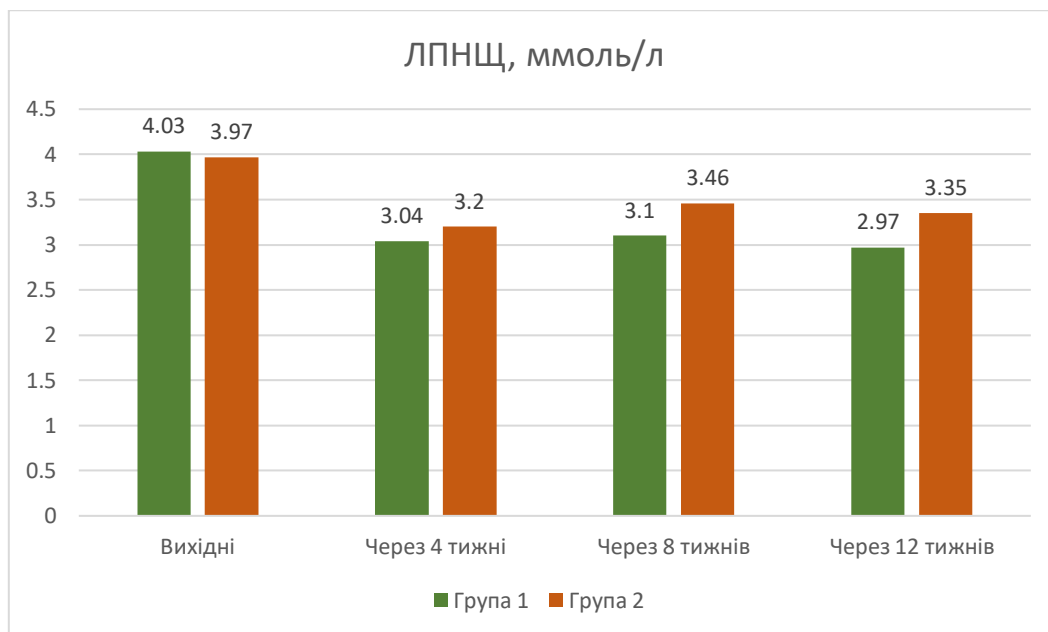


Рис.4.9. Рівні ЛПНЦ в Групі 1 та Групі 2 протягом часових проміжків дослідження.

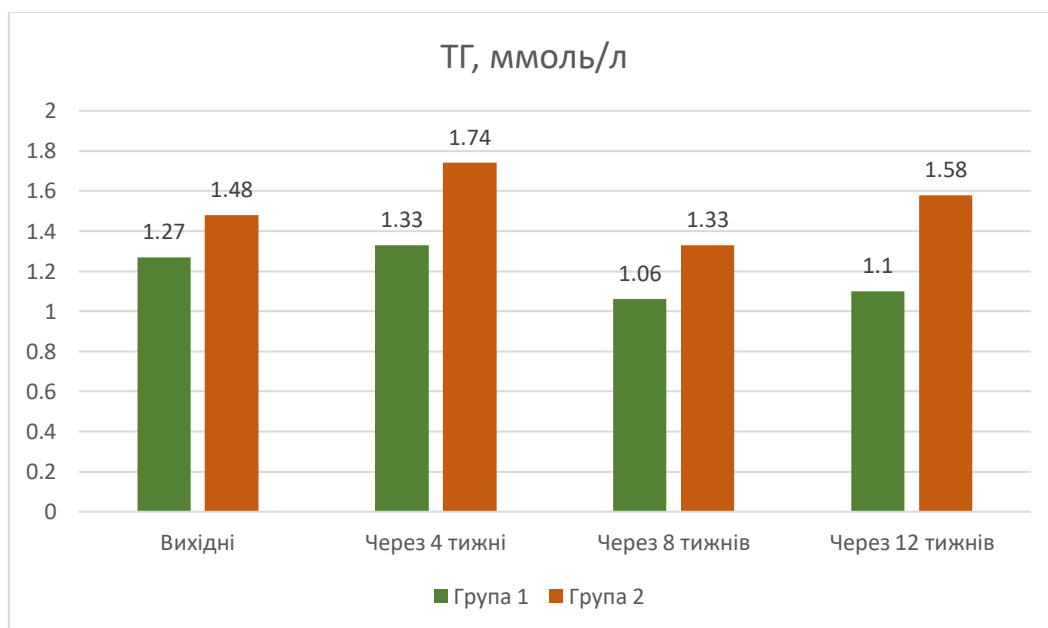


Рис.4.10. Рівні ТГ в Групі 1 та Групі 2 протягом часових проміжків дослідження.

4.2. Вплив пробіотичних бактерій *Lactobacillus plantarum* на модифікацію відносної активності кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот.

Перед призначенням досліджуваних схем лікування та на 12 тижні дисертаційного дослідження учасникам із дослідних Групи 1 та Групи 2, а також

контрольної групи визначались рівні відносної ферментативної активності кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот. У таблиці 4.5. представлені показники відносної активності кишкової бактеріальної ГСЖК досліджуваних груп на початку дослідження (вихідні) та через 12 тижнів прийому порівнюваних схем лікування.

Таблиця 4.5.

Відносна активність кишкової бактеріальної ГСЖК порівнюваних груп протягом часових проміжків дослідження.

ВА кишкової бактеріальної ГСЖК, Од/мл*	Контрольна група (n=26)**	Група 1 (n=41)**	Група 2 (n=36)**	Відмінність, p
Вихідні	0,21 (0,13-0,32)	0,1 (0,06-0,14)	0,09 (0,05-0,13)	P<0,001
На 12 тижні	0,22±0,12	0,2±0,07	0,1±0,06	P<0,001

*Відносна активність (ВА) кишкової бактеріальної ГСЖК виражалась в одиницях активності холоїгліцин гідролази на мл (Од/мл) (з *Clostridium perfringens*, EC 3.5.1.24, Sigma-Aldrich).

**Дані були представлені у вигляді Mean±SD при нормальному розподілі або Median (Q1-Q3) при розподілі, відмінному від нормального.

Було виявлено, що вихідні значення відносної активності кишкової бактеріальної ГСЖК статистично вірогідно відрізнялись між контрольною групою, Групою 1 та Групою 2, p<0,001. При апостеріорному попарному порівнянні було показано, що ферментативна активність зазначеного ферменту в учасників контрольної групи була вірогідно вищою порівняно як з Групою 1, так із Групою 2 (p<0,01 в обох порівняннях), але в той же час не було знайдено відмінності між Групою 1 та Групою 2 (p>0,05) (рис 4.11.).

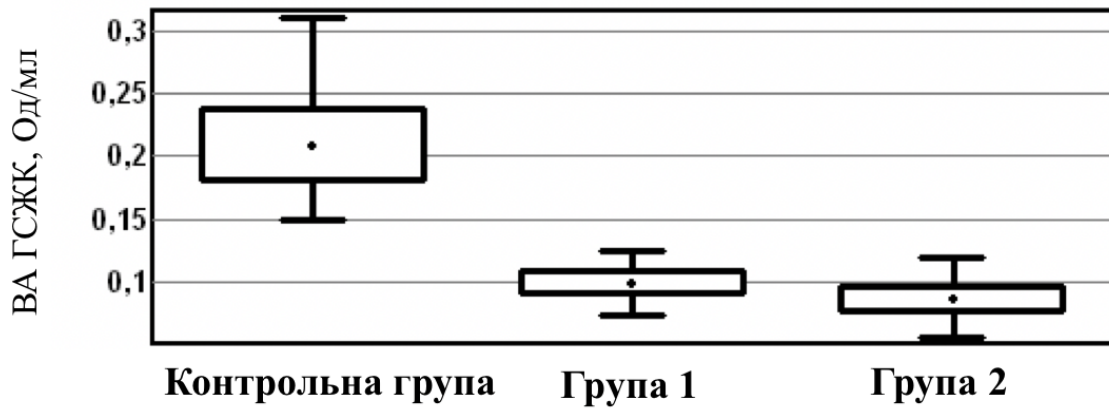


Рис. 4.11. Вихідні значення відносної активності кишкової бактеріальної ГСЖК у учасників контрольної групи, Групи 1 та Групи 2 (середні значення із стандартними відхиленнями та довірчими інтервалами).

На 12 тижні дослідження було показано, що в Групі 1 рівні відносної активності кишкової бактеріальної ГСЖК були вірогідно вищі порівняно з вихідними значеннями, $p < 0,001$. В Групі 2 рівні відносної активності зазначеного ферменту на 12 тижні дослідження вірогідно не відрізнялись порівняно з вихідними значеннями, $p = 0,53$ (рис. 4.12.).

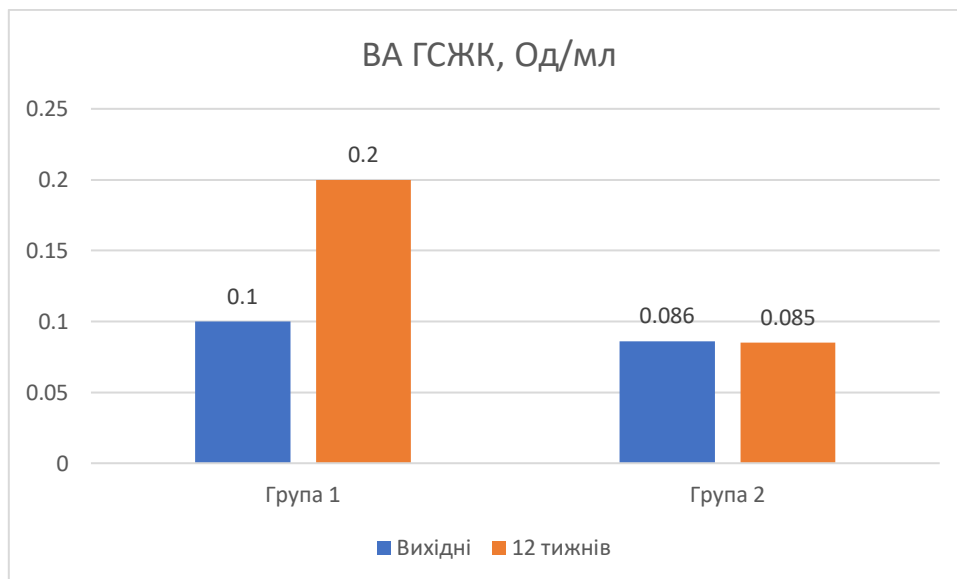


Рис. 4.12. Значення відносної активності кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот Групи 1 та Групи 2 на початку (вихідні) та на 12 тижні дослідження.

При порівнянні груп між собою було виявлено, що на 12 тижні дослідження значення відносної активності кишкової бактеріальної ГСЖК статистично вірогідно відрізнялись між контрольною групою, Групою 1 та Групою 2, $p < 0,001$. При наступному апостеріорному попарному порівнянні було показано, що значення відносної активності даного ферменту статистично вірогідно не відрізнялись між контрольною групою та Групою 1 ($p = 0,45$), але вірогідно відрізнялись між контрольною та Групою 2, а також між Групою 1 та Групою 2 ($p < 0,01$ в обох порівняннях) (рис. 4.13.).

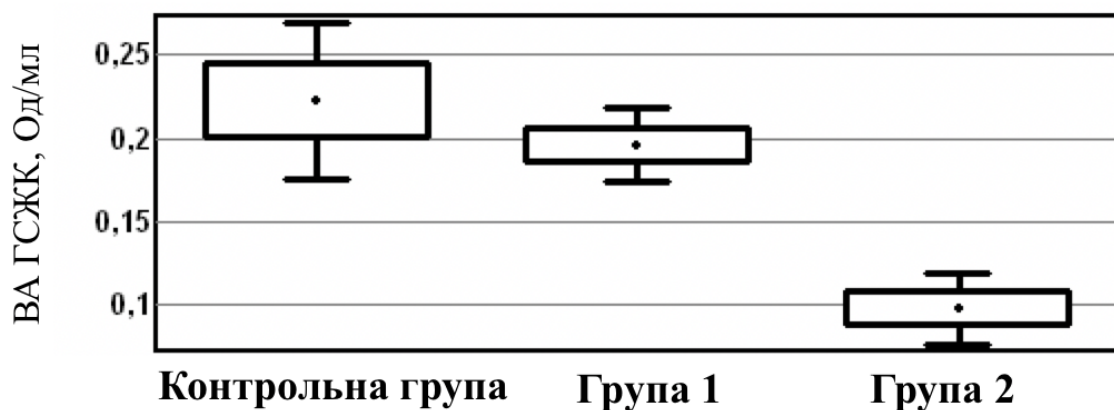


Рис. 4.13. Значення відносної активності кишкової бактеріальної ГСЖК у учасників контрольної групи, Групи 1 та Групи 2 на 12 тижні дослідження (середні значення із стандартними відхиленнями та довірчими інтервалами).

Отже, в Групі 1, де призначалась комбінація симвастатину та капсул із пробіотичними бактеріями *Lactobacillus plantarum*, на 12 тижні прийому препаратів відмічалось вірогідне збільшення ферментативної активності кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот порівняно з вихідними рівнями та порівняно з Групою 2, учасники якої приймали лише симвастатин. При цьому на 12 тижні лікування значення активності даного ферменту у Групі 1 вірогідно не відрізнялись від значень у учасників з контрольної групи, яку складали практично здорові пацієнти.

4.3. Досягнення кінцевих змінних ефективності корекції дисліпідемії.

Як зазначено у Розділі 2 дисертаційного дослідження, одними з вторинних кінцевих змінних ефективності призначених схем лікування були відносні зміни (у відсотках) рівнів ЗХ та ЛПНЩ. У таблиці 4.6 наведені дані по відсотковому зменшенню показників ЗХ та ЛПНЩ через 12 тижнів порівняно з вихідними рівнями у Групі 1 та Групі 2.

Таблиця 4.6

Відносне зменшення показників ЗХ та ЛПНЩ через 12 тижнів, порівняно з вихідними рівнями у Групі 1 та Групі 2.

Показник	Група 1 (n=41)*	Група 2 (n=36)*	Відмінність, p
ΔЗХ (%)	24,4±12,5	12,9±15	p<0,001
ΔЛПНЩ (%)	28,3 (23,4-38,5)	18,4 (7,2-27,1)	p<0,001

*Дані були представлені у вигляді Mean±SD при нормальному розподілі або Median (Q1-Q3) при розподілі, відмінному від нормального.

Було виявлено, що в Групі 1, учасники якої отримували комбінацію симвастатину та капсул із пробіотичними бактеріями *Lactobacillus plantarum*, рівень загального холестерину через 12 тижнів лікування в середньому зменшувався на 24,4±12,5% порівняно з Групою 2 (12,9±15%), p<0,001; рівень ліпопротеїнів низької щільності в Групі 1 через 12 тижнів дослідження в середньому зменшувався на 28,3 (23,4-38,5)%, порівняно з Групою 2 (18,4 (7,2-27,1)%), p<0,001. Отже, динаміка зменшення показників ЗХ та ЛПНЩ була статистично вірогідно більш вираженою в Групі 1, порівняно з Групою 2.

Під час планування дисертаційного дослідження нами було визначено вважати лікування ефективним за умови досягнення 20% і більше зниження показників ЗХ та ЛПНЩ через 12 тижнів лікування (по закінченню дослідження). У таблиці 4.7 представлені дані по частоті досягнення кінцевих цілей ефективності корекції ЗХ та ЛПНЩ. Було показано, що частота досягнення кінцевої цілі відносно зниження рівнів ЗХ у Групі 1 складає 63,4% порівняно з 27,8% у Групі 2, ВШ=2,28 (95% ДІ; 1,28-4,06), p=0,004; відносно зниження рівнів ЛПНЩ у Групі 1 складає 85,4% порівняно з 41,7% у Групі 2, ВШ=2,05 (95% ДІ;

1,36-3,08), $p < 0,001$. Отже, комбіноване лікування симвастатином та пробіотиком на основі *Lactobacillus plantarum*, яке призначалось учасникам Групи 1, було більш ніж в 2 рази ефективнішим відносно досягнення 20% і більше зниження показників загального холестерину та ліпопротеїнів низької щільності порівняно з монотерапією симвастатином, яка призначалась учасникам Групи 2.

Таблиця 4.7.

Частота досягнення кінцевих цілей ефективності корекції ЗХ та ЛПНЩ (20% і більше зниження показника) у Групі 1 та Групі 2.

≥20% зменшення показника	Група 1, n (%)	Група 2, n (%)	ВШ (95% ДІ), p
ЗХ	26 (63,4%)	10 (27,8%)	2,28 (95% ДІ; 1,28-4,06), $p=0,004$.
ЛПНЩ	35 (85,4%)	15 (41,7%)	2,05 (95% ДІ; 1,36-3,08), $p < 0,001$

Наступним етапом було проведено аналіз взаємозв'язку між відносною активністю кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот на 12 тижні лікування та ризиком недосягнення кінцевих цілей ефективності корекції загального холестерину та ліпопротеїнів низької щільності (20% і більше зниження показника). Для цього використовувався метод побудови та аналізу однофакторних моделей логістичної регресії з конструюванням кривих операційних характеристик (ROC-кривих). У таблиці 4.8 наведені показники однофакторної моделі логістичної регресії відносно ризику недосягнення 20% і більше зниження показників загального холестерину, у таблиці 4.9 – відносно ризику недосягнення 20% і більше зниження показників ліпопротеїнів низької щільності.

Показники однофакторної моделі логістичної регресії взаємозв'язку ризику недосягнення корекції ЗХ (20% та більше зниження) та відносної активності кишкової бактеріальної ГСЖК

Чинник	Коефіцієнт моделі, $b \pm m^*$	Рівень значимості відмінності від 0, p	Показник ВШ (95% ВІ)
ВА кишкової бактеріальної ГСЖК	$-6,62 \pm 3,06$	0,03	0,00133 (95% ВІ; $3,28 \cdot 10^{-6}$ - 0,538)

*b – коефіцієнт моделі; m – стандартна похибка

Однофакторний аналіз виявив, що зі збільшенням відносної активності кишкової бактеріальної ГСЖК, ризик недосягнення цілі лікування відносно 20% і більше зниження ЗХ знижується, ВШ=0,00133 (95% ВІ; $3,28 \cdot 10^{-6}$ - 0,538). На рис. 4.14 представлено ROC-криву даної моделі.

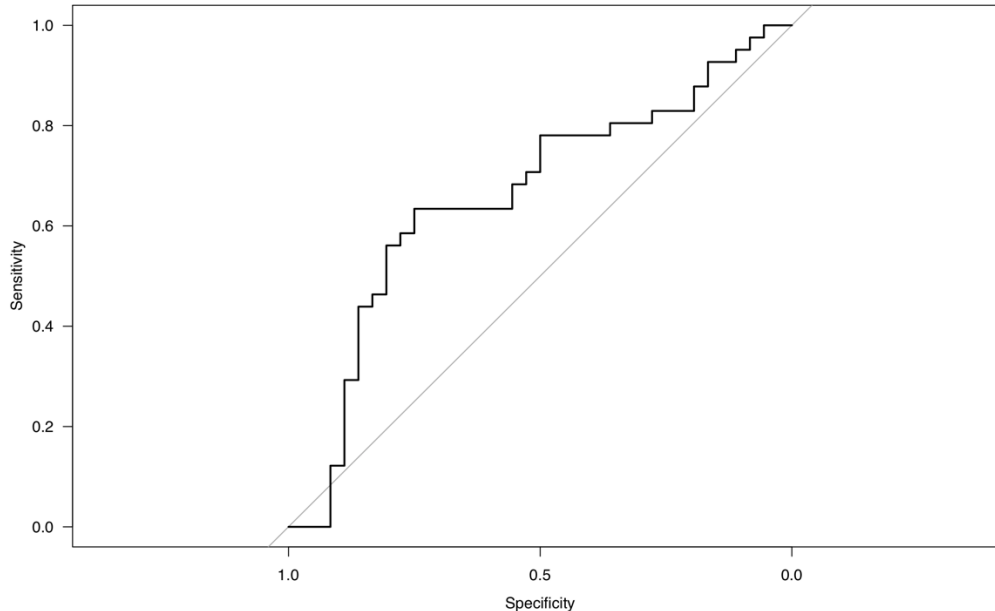


Рис. 4.14. Крива операційних характеристик (ROC-крива) однофакторної моделі логістичної регресії взаємозв'язку між ризиком недосягнення корекції ЗХ (20% та більше зниження) та відотною активністю кишкової бактеріальної ГСЖК.

Площа під ROC-кривою $AUC=0,66$ (95% ВІ; 0,533-0,786), що вказує на задовільну якість побудованої моделі.

Таблиця 4.9

Показники однофакторної моделі логістичної регресії взаємозв'язку ризику недосягнення корекції ЛПНЩ (20% та більше зниження) та відносної активності кишкової бактеріальної ГСЖК

Чинник	Коефіцієнт моделі, $b \pm m^*$	Рівень значимості відмінності від 0, p	Показник ВШ (95% ВІ)
ВА кишкової бактеріальної ГСЖК	$-30,5 \pm 6,98$	$<0,001$	$5,65 \cdot 10^{-14}$ (95% ВІ; $6,38 \cdot 10^{-20}$ - $5 \cdot 10^{-8}$).

*b – коефіцієнт моделі; m – стандартна похибка

Однофакторний аналіз виявив, що зі збільшенням відносної активності кишкової бактеріальної ГСЖК, ризик недосягнення цілі лікування відносно 20% і більше зниження ЛПНЩ знижується, ВШ= $5,65 \cdot 10^{-14}$ (95% ВІ; $6,38 \cdot 10^{-20}$ - $5 \cdot 10^{-8}$). На рис. 4.15 представлено ROC-криву даної моделі.

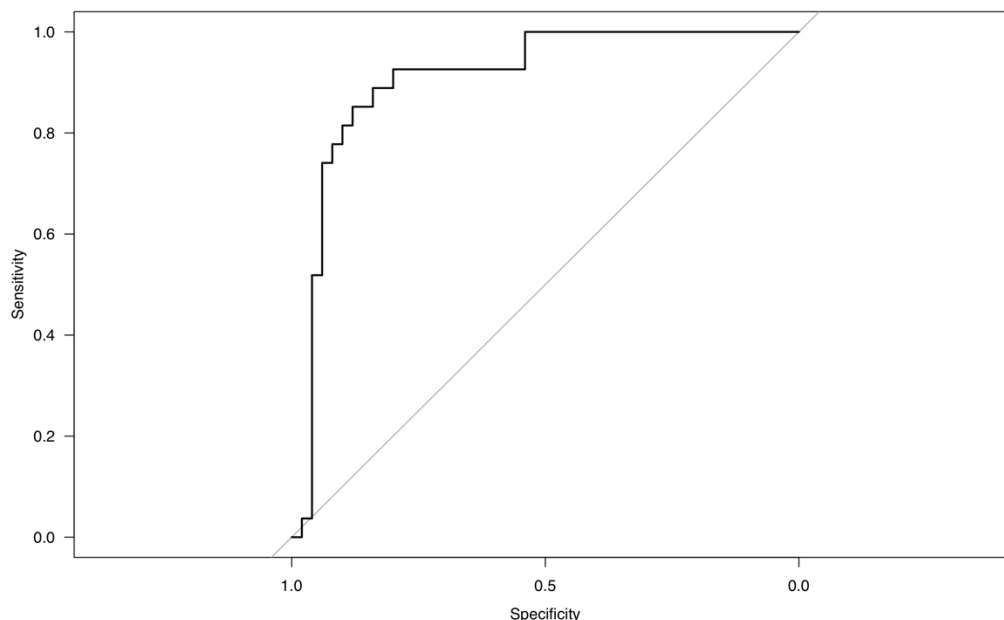


Рис. 4.15. Крива операційних характеристик (ROC-крива) однофакторної моделі логістичної регресії взаємозв'язку між ризиком недосягнення корекції

ЛПНЩ (20% та більше зниження) та відносною активністю кишкової бактеріальної ГСЖК.

Площа під ROC-кривою $AUC=0,908$ (95% ВІ; 0,837-0,979), що вказує на добру якість побудованої моделі.

Отже, на основі побудованих моделей логістичної регресії було виявлено, що зі збільшенням відносною активності кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот знижується ризик недосягнення кінцевих цілей ефективності корекції дисліпідемії: 20% і більше зниження рівнів загального холестерину та ліпопротеїнів низької щільності. Це означає, що чим більша активність даного ферменту, тим вище шанс досягти кінцевого ефекту лікування відносно зниження загального холестерину та ліпопротеїнів низької щільності.

Підсумовуючи даний розділ дисертаційної роботи, було показано, що досліджувані капсули із пробіотичними бактеріями *Lactobacillus plantarum* у кількості $2 \cdot 10^9$ КУО в одній капсулі мають доволі велику відносну ферментативну активність бактеріальної гідролази солей жовчних кислот ($1,0006 \pm 0,037$ Од/мл). Комбінація даних капсул із симвастатином, що призначалась учасникам із Групи 1, була вірогідно більш ефективною в зниженні показників загального холестерину, ліпопротеїнів низької щільності, починаючи з 8 тижня прийому досліджуваних препаратів і надалі до 12 тижня, а також підвищенні відносною активності кишкової бактеріальної ГСЖК порівняно з монотерапією симвастатином, що призначалась учасникам із Групи 2. Комбіноване лікування було більш ніж в 2 рази ефективнішим відносно досягнення визначених кінцевих цілей терапії: 20% і більше зниження показників ЗХ та ЛПНЩ. При цьому було показано, що збільшення відносною активності кишкової бактеріальної ГСЖК було асоційоване із вищими шансами досягти визначених кінцевих цілей терапії відносно корекції ЗХ та ЛПНЩ. Описані в цьому розділі результати дисертаційної роботи були висвітлені у відповідних публікаціях [135-137]:

1. Шипулін ВП, Чернявський ВВ, Неверовський АВ, та інші. Гіполіпідемічна ефективність пробіотика *Lactobacillus plantarum* у пацієнтів з

ішемічною хворобою серця. Український терапевтичний журнал. 2018;3(4):27-33.

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

3. Neverovskyi A, Chernyavskyi V, Shypulin V, et al. Probiotic *Lactobacillus plantarum* may reduce cardiovascular risk: An experimental study. ARYA Atheroscler 2021; 17: 2156. doi: 10.22122/arya.v17i0.2156.

РОЗДІЛ 5

ЕФЕКТИВНІСТЬ ПРОБІОТИКА НА ОСНОВІ *LACTOBACILLUS PLANTARUM* У КОРЕКЦІЇ РІЗНИХ КАТЕГОРІЙ СЕРЦЕВО-СУДИННОГО РИЗИКУ ТА ДОСЯГНЕННІ КІНЦЕВИХ ЗМІННИХ ЕФЕКТИВНОСТІ ЇХ КОРЕКЦІЇ

Виходячи з результатів проведеного огляду літератури (Розділ 1 дисертаційної роботи), в тому числі *in vivo* досліджень на тваринних моделях та клінічних досліджень за участі людей, на сьогодні відомо, що якісні та кількісні модифікації кишкового мікробіому, в особливості внаслідок застосування різних штамів ГСЖК-експресуючих пробіотичних бактерій, впливають на перебіг серцево-судинних та метаболічних захворювань. Залежно від штаму пробіотичних бактерій, їх призначення було асоційоване зі зменшенням артеріального тиску, корекцією показників вуглеводного обміну, зменшенням індексу маси тіла, збільшенням фракції викиду лівого шлуночка при серцевій недостатності тощо. І хоча в дослідженнях зазначалось, що опосередковано модифікація вказаних чинників ризику може призводити до зменшення серцево-судинного ризику, безпосередньо оцінка різних категорій ССР не проводилось ані в дослідженнях на тваринних моделях, ані в клінічних дослідженнях за участі пацієнтів. Відповідно, в міжнародній літературі відсутні дані відносно клінічної ефективності ГСЖК-продукуючих пробіотичних бактерій у корекції різних категорій ССР та її взаємозв'язку з модифікацією кишкової бактеріальної ГСЖК.

Тому наступною метою другого етапу даного дисертаційного дослідження, який був проведений за дизайном відкритого порівняльного рандомізованого паралельного дослідження, було оцінити клінічний ефект пробіотиків на основі *Lactobacillus plantarum* у корекції нефатального та фатального серцево-судинного ризиків, оцінених за валідованими шкалами, а також можливий взаємозв'язок із модифікацією відносної активності кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот у пацієнтів з дисліпідемією.

Аналогічно із Розділом 4 дисертаційної роботи, для досягнення мети даного розділу роботи, пацієнти із загальної дослідної групи (n=77) були рандомізовані на 2 групи: Група 1 (n=41), де призначалась комбінація симвастатину та пробіотика на основі *Lactobacillus plantarum*, та Група 2 (n=36), де призначався лише симвастатин. Вихідні клініко-демографічні показники Групи 1 та Групи 2 представлені у таблиці 2.3. Групи були статистично однорідними за віком, розподілом за статтю, ІМТ, наявністю ЦД 2 типу, анамнезом куріння та сімейним анамнезом інфаркту міокарда, рівнями систолічного та діастолічного АТ, анамнезом прийому антигіпертензивної терапії. Показники ліпідограми, креатиніну, ШКФ та глюкози натще на момент рандомізації представлені у таблиці 4.1. Вихідні рівні серцево-судинного ризику Групи 1 та Групи 2 представлені у таблиці 5.1.

Таблиця 5.1.

Вихідні рівні серцево-судинного ризику, оціненого за 5 валідованими шкалами, Групи 1 та Групи 2.

Шкала	Група 1 (n=41)*	Група 2 (n=36)*	Відмінність, p
Globorisk, %	29 (15-60)	41,5 (15-54,5)	p=0,369
Фремінгемська шкала оцінки 10-річного ССР, %	22,99±16,45	22,06±14,19	p=0,796
ACC/АНА алгоритм 2013 року, %	13,29±11,53	14,31±10,51	p=0,690
PROCAM, бали	48,32±12,1	48,94±11,27	p=0,819
Алгоритм ВООЗ, %	20,22±14,24	22,42±13,3	p=0,486

*Дані були представлені у вигляді Mean±SD при нормальному розподілі або Median (Q1-Q3) при розподілі, відмінному від нормального.

Групи 1 та 2 були однорідними за показниками ліпідного обміну (ЗХ, ЛПНЩ, ЛПВЩ, ТГ), індексом та коефіцієнтом атерогенності, рівнями креатиніну плазми, ШКФ та глюкози крові натще, а також рівнями серцево-судинного ризику, оціненого за шкалами Globorisk, Фремінгемською шкалою

оцінки 10-річного ССР, АСС/АНА алгоритмом 2013 року, PROCAM та алгоритмом ВООЗ. Отже, дослідні Група 1 та Група 2 не відрізнялись між собою за демографічними, лабораторними показниками та рівнями ССР на момент рандомізації, тому підлягали наступному порівнянню для визначення відмінностей між призначеними різними схемами лікування.

Протягом часових проміжків дослідження не було зареєстровано статистично вірогідних відмінностей у показниках ІМТ між Групою 1 та Групою 2. У таблиці 5.2 представлено дані по показникам систолічного та діастолічного артеріального тиску протягом часових проміжків дослідження у Групі 1, у таблиці 5.3 – у Групі 2.

Таблиця 5.2.

Рівні САТ та ДАТ між часовими проміжками дослідження у Групі 1.

Термін	САТ*, мм рт. ст.	ДАТ*, мм рт. ст.
Вихідні	134±14	83±8
4 тижні	129±10	82±6
8 тижнів	129±10	80±6
12 тижнів	128±11	80±6
Відмінність, р	p<0,001	p<0,001

*Дані були представлені у вигляді Mean±SD

Таблиця 5.3.

Рівні САТ та ДАТ між часовими проміжками дослідження у Групі 2.

Термін	САТ*, мм рт. ст.	ДАТ*, мм рт. ст.
Вихідні	135±16	87,5 (80-90)
4 тижні	131±11	80 (80-90)
8 тижнів	130±11	80 (80-85)
12 тижнів	131±10	80 (80-85)
Відмінність, р	p<0,001	p<0,001

*Дані були представлені у вигляді Mean±SD при нормальному розподілі або Median (Q1-Q3) при розподілі, відмінному від нормального.

Рівні САТ та ДАТ в Групі 1 статистично відрізнялись між різними часовими проміжками, $p < 0,001$ в обох порівняннях. При апостеріорному попарному порівнянні було виявлено, що вихідні рівні САТ були вірогідно вищі порівняно з рівнями через 4, 8 та 12 тижнів лікування, $p < 0,05$ у всіх порівняннях. В той же час не було знайдено статистично вірогідних відмінностей між рівнями САТ між 4 та 8, між 4 та 12 та між 8 та 12 тижнями лікування. Відносно ДАТ, його вихідні рівні були вірогідно вищі порівняно із рівнями через 8 та 12 тижнів, $p < 0,05$ в обох порівняннях; рівень ДАТ через 4 тижні був вірогідно вищий, ніж через 12 тижнів, $p < 0,05$. В той же час не було знайдено статистично вірогідних відмінностей між рівнями САТ між вихідним рівнем та 4 тижнями, 4 та 8 і між 8 та 12 тижнями лікування. Такі результати вказують на те, що призначене супутнє лікування артеріальної гіпертензії у пацієнтів Групи 1 мало ефект у зниженні систолічного та діастолічного артеріального тиску: САТ знизився вже через 4 тижні і надалі статистично був стабільним до 12 тижня, тоді як ДАТ вірогідно знизився через 8 тижнів і надалі статистично був стабільним до 12 тижня. Відповідно, це мало вплив і на рівні ССР, оскільки рівні САТ та ДАТ враховуються при оцінці ризику згідно валідованих шкал.

Рівні САТ та ДАТ в Групі 2 статистично відрізнялись між різними часовими проміжками, $p < 0,001$ в обох порівняннях. При апостеріорному попарному порівнянні було виявлено, що вихідні рівні САТ та ДАТ були вірогідно вищі порівняно з рівнями через 4, 8 та 12 тижнів лікування, $p < 0,05$ у всіх порівняннях. В той же час не було знайдено статистично вірогідних відмінностей між рівнями САТ між 4 та 8, між 4 та 12 та між 8 та 12 тижнями лікування. Такі результати вказують на те, що призначене супутнє лікування артеріальної гіпертензії у пацієнтів Групи 2 мало ефект у зниженні систолічного та діастолічного артеріального тиску, що почало спостерігатись через 4 тижні та надалі було статистично стабільним до 12 тижня дослідження. Відповідно, це мало вплив і на рівні ССР, оскільки рівні САТ та ДАТ враховуються при оцінці ризику згідно валідованих шкал.

У таблиці 5.4 представлено дані по порівнянню показників систолічного та діастолічного артеріального тиску між Групою 1 та Групою 2 протягом часових проміжків дослідження.

Таблиця 5.4.

Рівні САТ та ДАТ між часовими проміжками дослідження у Групі 1 та Групі 2 та їх порівняння.

Показник	Група 1 (n=41)*	Група 2 (n=36)*	Відмінність, p
Вихідні			
САТ, мм рт. ст.	134±14	135±16	p=0,619
ДАТ, мм рт. ст.	80 (80-90)	87,5 (80-90)	p=0,053
Через 4 тижні			
САТ, мм рт. ст.	129±10	131±11	p=0,605
ДАТ, мм рт. ст.	80 (80-85)	80 (80-90)	p=0,188
Через 8 тижнів			
САТ, мм рт. ст.	129±10	130±11	p=0,531
ДАТ, мм рт. ст.	80 (80-85)	80 (80-85)	p=0,301
Через 12 тижнів			
САТ, мм рт. ст.	128±11	131±10	p=0,242
ДАТ, мм рт. ст.	80 (80-80)	80 (80-85)	p=0,095

*Дані були представлені у вигляді Mean±SD при нормальному розподілі або Median (Q1-Q3) при розподілі, відмінному від нормального.

При порівнянні показників САТ та ДАТ між Групою 1 та Групою 2 протягом часових проміжків дослідження не було знайдено статистично вірогідних відмінностей між групами. Отже, і наступне порівняння між групами рівнів ССР, оціненого за валідованими шкалами, практично не буде залежати від рівнів САТ та ДАТ.

Після початку дослідження відсоток пацієнтів, які приймали гіпотензивну терапію, збільшився в обох групах: в Групі 1 до 51,2%, в Групі 2 до 44,4%, без вірогідної різниці між групами (p=0,712). Зазначені відсотки залишались

незмінними до закінчення дослідження, тобто відмінності протягом часових проміжків дослідження не було.

5.1. Ефективність порівнюваних схем лікування у модифікації різних категорій серцево-судинного ризику.

Через 4, 8 та 12 тижнів терапії досліджуваними схемами лікування в учасників дослідження оцінювались рівні ССР за шкалами Globorisk, Фремінгемською шкалою оцінки 10-річного ССР, ACC/АНА алгоритмом 2013 року, PROCAM та алгоритмом ВООЗ. В таблиці 5.5 представлені дані по рівням ССР в Групі 1 між різними часовими проміжками дисертаційного дослідження.

Таблиця 5.5

Рівні серцево-судинного ризику, оціненого за 5 валідованими шкалами, в Групі 1 протягом часових проміжків дослідження.

Термін	Globorisk*, %	Фремінгемська шкала оцінки 10-річного ССР*, %	ACC/АНА алгоритм 2013 року*, %	PROCAM*, бали	Алгоритм ВООЗ*, %
Вихідні	29 (15-60)	17 (9,7-33,5)	8,2 (3,4-21)	50 (39-58)	20,2±14,2
4 тижні	23 (11-43)	12,7 (7,1-21,9)	6,4 (2,2-16,8)	39 (31-49)	16,5±11,6
8 тижнів	22 (13-48)	11,9 (6,1-27)	5,6 (2,2-16,2)	38 (32-45)	16,5±11,8
12 тижнів	19 (13-48)	11,4 (7,3-21,9)	6 (2,9-16,8)	37 (31-41)	15,8±11,6
Відмінність, р	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001

*Дані були представлені у вигляді Mean±SD при нормальному розподілі або Median (Q1-Q3) при розподілі, відмінному від нормального.

Рівні ССР, оціненого за всіма п'ятьма шкалами ризику в Групі 1, учасники якої отримували комбінацію симвастатину та капсул із пробіотичними бактеріями *Lactobacillus plantarum*, статистично відрізнялись між різними часовими проміжками, $p<0,001$ у всіх порівняннях. При апостеріорному

попарному порівнянні було виявлено, що вихідні рівні ССР за 5 шкалами були вірогідно вищі порівняно з рівнями через 4, 8 та 12 тижнів лікування, $p < 0,001$ у всіх порівняннях. Рівні ССР за всіма шкалами, окрім алгоритму ВООЗ, вірогідно не відрізнялись між 4 та 8, між 4 та 12 та між 8 та 12 тижнями лікування (рис. 5.1 – рис 5.4).

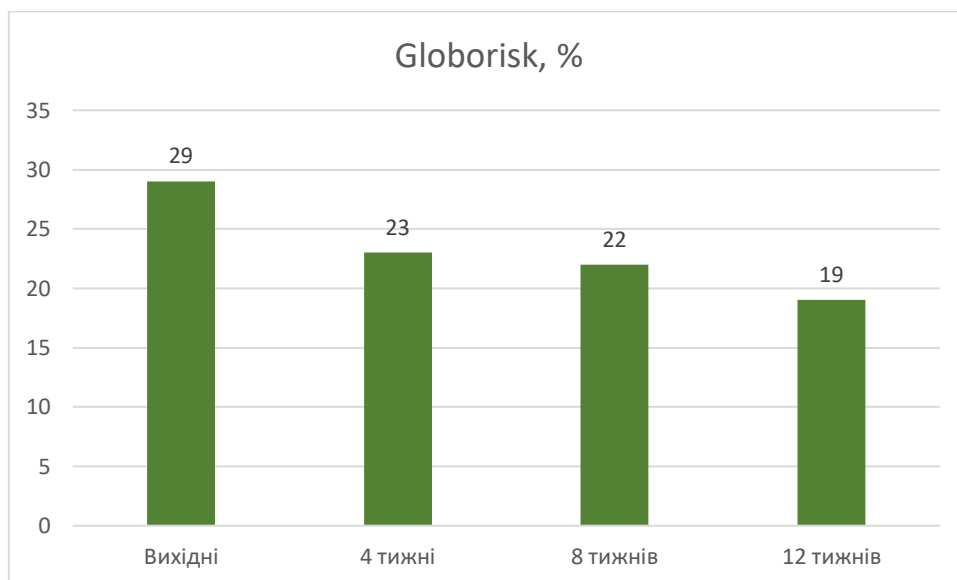


Рис. 5.1. Рівні ССР за шкалою Globorisk в Групі 1 між часовими проміжками дослідження.

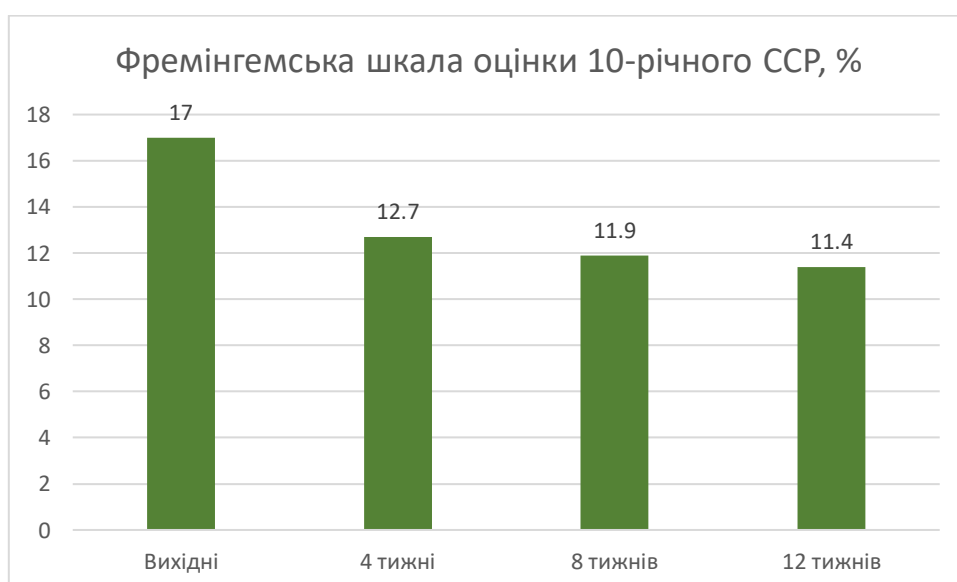


Рис. 5.2. Рівні ССР за Фремінгемською шкалою оцінки 10-річного ССР в Групі 1 між часовими проміжками дослідження.

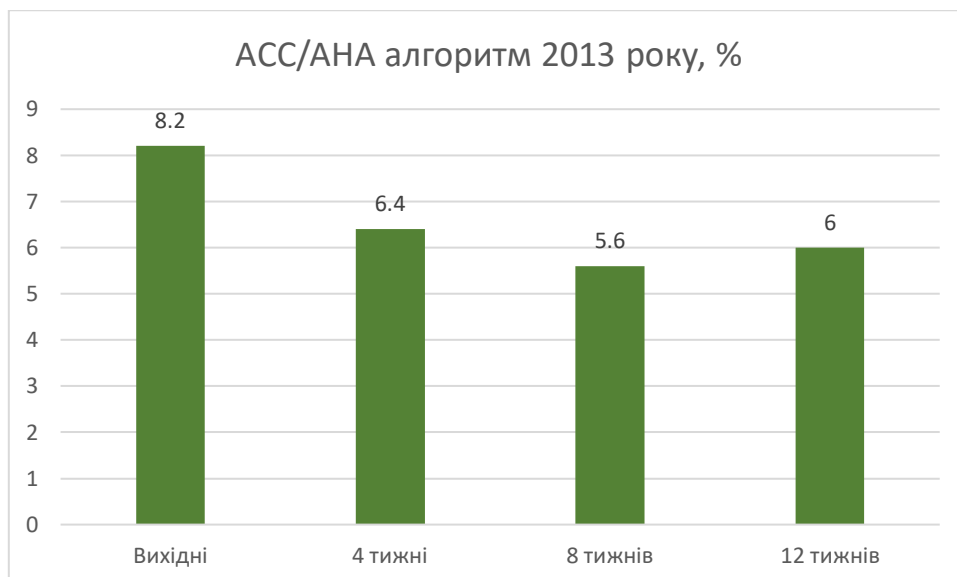


Рис. 5.3. Рівні ССР за ACC/AHA алгоритмом 2013 року в Групі 1 між часовими проміжками дослідження.

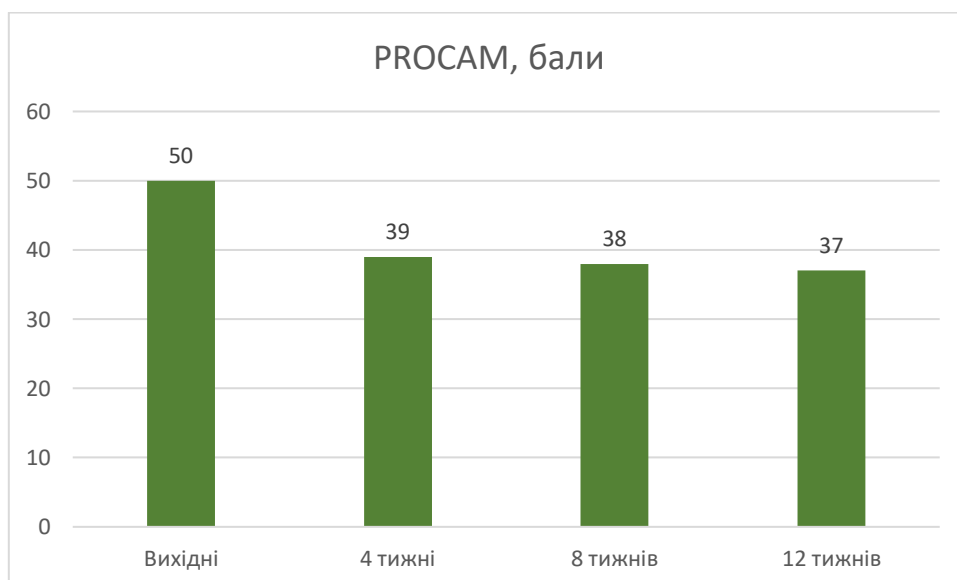


Рис. 5.4. Рівні ССР за шкалою PROCAM в Групі 1 між часовими проміжками дослідження.

Рівень ССР за алгоритмом ВООЗ після 12 тижнів лікування був вірогідно нижчий, ніж через 4 та 8 тижнів лікування, $p < 0,001$ в обох порівняннях, однак різниці не було між 4 та 8 тижнями лікування (рис 5.5).

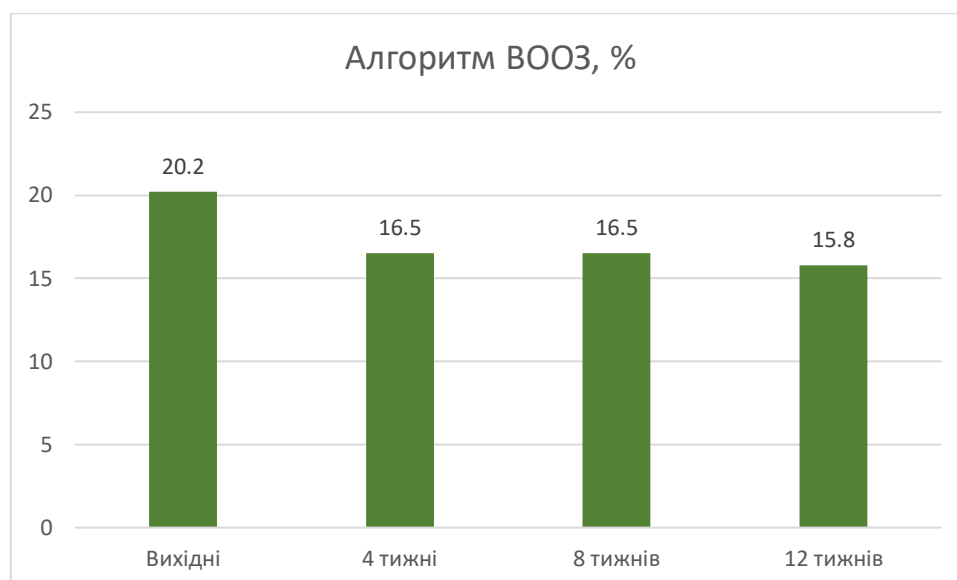


Рис. 5.5. Рівні ССР за алгоритмом ВООЗ в Групі 1 між часовими проміжками дослідження.

Ці результати вказують на те, що ефект комбінації симвастатину та пробіотики на основі *Lactobacillus plantarum* у зниженні рівнів ССР за 5 шкалами спостерігався починаючи з 4 тижня і надалі зберігався до 12 тижня. Окрім того, спостерігалось вірогідне посилення ефекту у зниженні ССР за алгоритмом ВООЗ через 12 тижнів дослідження.

В таблиці 5.6 представлені дані по рівням ССР в Групі 2 між різними часовими проміжками дисертаційного дослідження.

Таблиця 5.6.

Рівні серцево-судинного ризику, оціненого за 5 валідованими шкалами, в Групі 2 протягом часових проміжків дослідження.

Термін	Globorisk*, %	Фремінгемська шкала оцінки 10-річного ССР*, %	ACC/АНА алгоритм 2013 року*, %	PROCAM*, бали	Алгоритм ВООЗ*, %
Вихідні	41,5 (15-54,5)	20,2 (9,2-33,2)	14,3±10,5	48,9±11,3	22,4±13,1
4 тижні	36 (14-48)	15,6 (7,1-25)	12,5±9,4	42,6±11,2	18,8±11,6
8 тижнів	37,5 (14-52)	15,5 (7,4-25,3)	12,7±9,1	43,4±9,9	19,8±12,2

Продовження таблиці 5.6.

Термін	Globorisk*, %	Фремінгемська шкала оцінки 10-річного ССР*, %	ACC/АНА алгоритм 2013 року*, %	PROCAM*, бали	Алгоритм ВООЗ*, %
12 тижнів	35 (12-51)	15,9 (7,7- 28,35)	12,7±9,2	44,4±9,6	19,4±11,9
Відмінність, р	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001

*Дані були представлені у вигляді Mean±SD при нормальному розподілі або Median (Q1-Q3) при розподілі, відмінному від нормального.

Рівні ССР, оціненого за всіма п'ятьма шкалами ризику в Групі 2, учасники якої отримували лише симвастатин, статистично відрізнялись між різними часовими проміжками, p<0,001 у всіх порівняннях. При апостеріорному попарному порівнянні було виявлено, що вихідні рівні ССР за 5 шкалами були вірогідно вищі порівняно з рівнями через 4, 8 та 12 тижнів лікування, p<0,05 у всіх порівняннях. Однак рівні ССР за всіма шкалами вірогідно не відрізнялись між 4 та 8, між 4 та 12 та між 8 та 12 тижнями лікування (рис. 5.6 – 5.10).

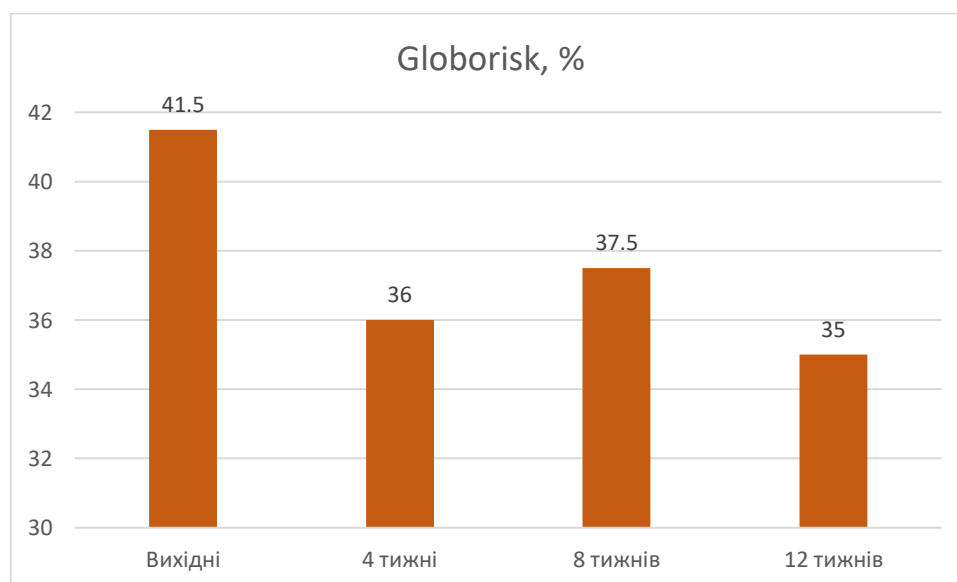


Рис. 5.6. Рівні ССР за шкалою Globorisk в Групі 2 між часовими проміжками дослідження.

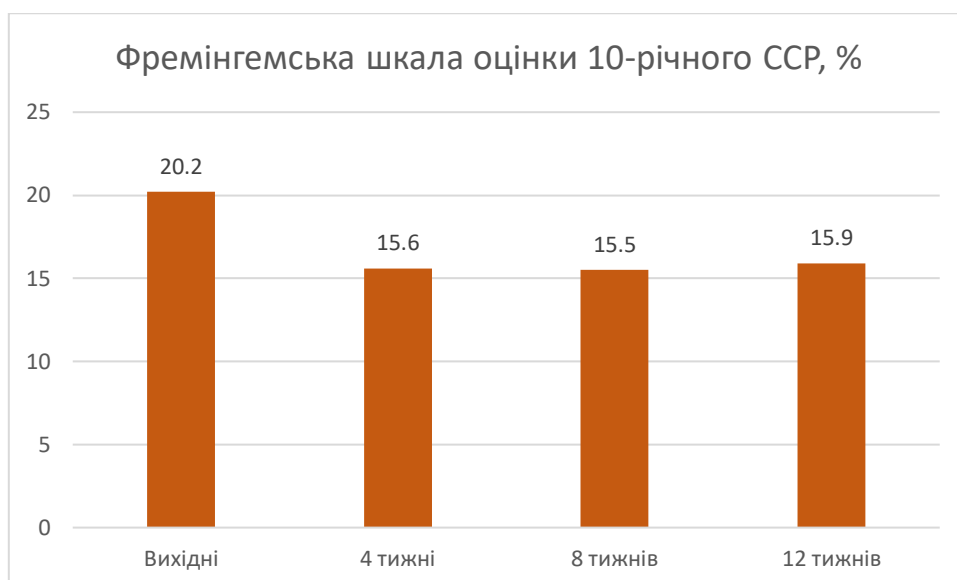


Рис. 5.7. Рівні ССР за Фремінгемською шкалою оцінки 10-річного ССР в Групі 2 між часовими проміжками дослідження.

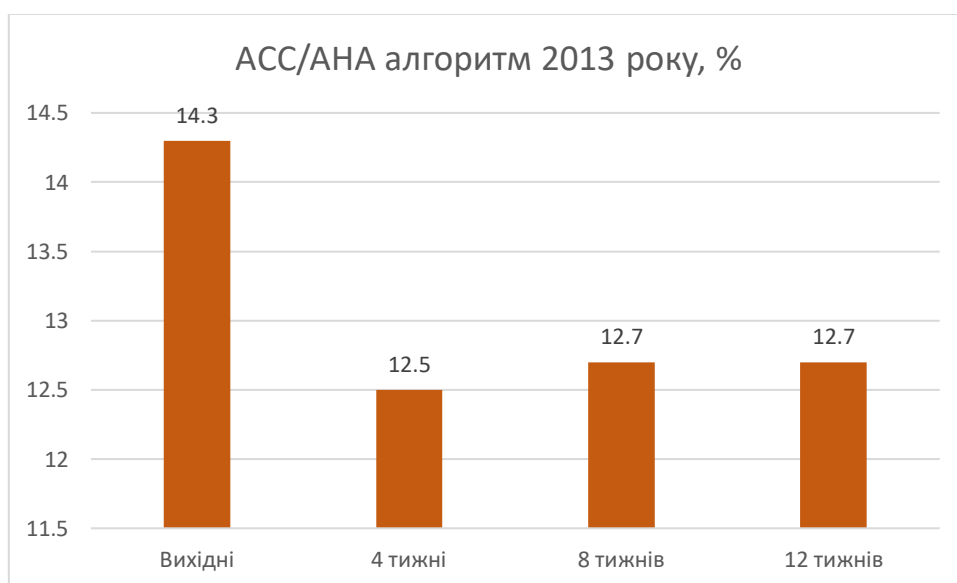


Рис. 5.8. Рівні ССР за АСС/АНА алгоритмом 2013 року в Групі 2 між часовими проміжками дослідження.

Вказані результати свідчать, що ефект монотерапії симвастатином у зниженні рівнів ССР за 5 шкалами спостерігався, починаючи з 4 тижня і надалі зберігався до 12 тижня, але при цьому він не змінювався зі збільшенням тривалості терапії.

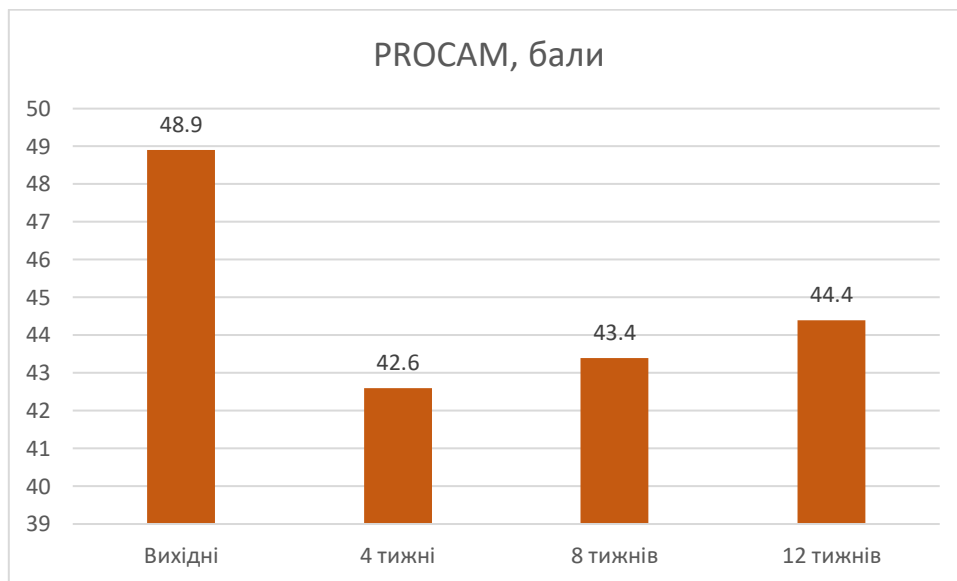


Рис. 5.9. Рівні ССР за шкалою PROCAM в Групі 2 між часовими проміжками дослідження.

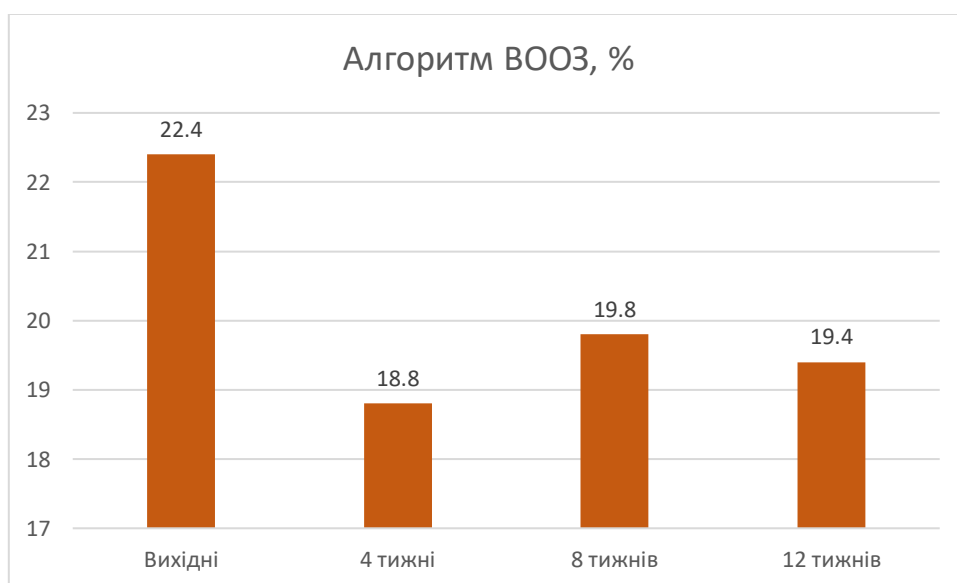


Рис. 5.10. Рівні ССР за алгоритмом ВООЗ в Групі 2 між часовими проміжками дослідження.

Отже, в кожній групі по окремої протягом різних часових проміжків дослідження спостерігалось зменшення рівнів серцево-судинного ризику, оціненого за 5 валідованими шкалами. Однак, з метою визначення можливого ефекту саме додаткового призначення пробіотичних бактерій на основі *Lactobacillus plantarum*, значення ССР порівнювались між групами протягом часових проміжків дослідження. В таблиці 5.7 представлені дані по значенням

серцево-судинного ризику, оціненого за 5 шкалами, між різними часовими проміжками в Групі 1 та Групі 2 та їх порівняння між групами дослідження.

Таблиця 5.7

Рівні серцево-судинного ризику, оціненого за 5 валідованими шкалами, в Групі 1 та Групі 2 протягом часових проміжків дослідження

Шкала	Група 1 (n=41)*	Група 2 (n=36)*	Відмінність, p
Вихідні			
Globorisk, %	29 (15-60)	41,5 (15-54,5)	p=0,369
Фремінгемська шкала оцінки 10-річного ССР, %	22,99±16,45	22,06±14,19	p=0,796
ACC/AHA алгоритм 2013 року, %	13,29±11,53	14,31±10,51	p=0,690
PROCAM, бали	48,32±12,1	48,94±11,27	p=0,819
Алгоритм ВООЗ, %	20,22±14,24	22,42±13,3	p=0,486
Через 4 тижні			
Globorisk, %	28,1±19,77	33,72±20,61	p=0,226
Фремінгемська шкала оцінки 10-річного ССР, %	12,7 (7,1-21,9)	15,6 (7,1-24,95)	p=0,561
ACC/AHA алгоритм 2013 року, %	6,4 (2,2-16,8)	11,8 (2,75-18,65)	p=0,291
PROCAM, бали	39,98±11,52	42,64±11,15	p=0,306
Алгоритм ВООЗ, %	16,49±11,7	18,75±11,6	p=0,398
Через 8 тижнів			
Globorisk, %	22 (13-48)	37,5 (14-52)	p=0,196
Фремінгемська шкала оцінки 10-річного ССР, %	11,9 (6,1-27)	15,5 (7,4-25,25)	p=0,366

Продовження таблиці 5.7

Шкала	Група 1 (n=41)*	Група 2 (n=36)*	Відмінність, p
ACC/АНА алгоритм 2013 року, %	5,6 (2,2-16,2)	10,85 (4,45-20)	p=0,176
PROCAM, бали	38 (32-45)	42,5 (35-51)	p=0,050
Алгоритм ВООЗ, %	16,51±11,84	19,83±12,22	p=0,230.
Через 12 тижнів			
Globorisk, %	19 (13-48)	35 (12-51)	p=0,244
Фремінгемська шкала оцінки 10-річного ССР, %	11,4 (7,3-21,9)	15,9 (7,7-28,35)	p=0,249
ACC/АНА алгоритм 2013 року, %	6 (2,9-16,8)	11,05 (3,9-19)	p=0,195
PROCAM, бали	37 (31-41)	45,5 (38-50,5)	p=0,004
Алгоритм ВООЗ, %	15,83±11,96	19,39±11,91	p=0,188

*Дані були представлені у вигляді Mean±SD при нормальному розподілі або Median (Q1-Q3) при розподілі, відмінному від нормального.

При порівнянні значень серцево-судинного ризику, оціненого за валідованими шкалами, між Групою 1 та Групою 2 протягом часових проміжків дослідження було виявлено, що рівень ССР за шкалою PROCAM через 12 тижнів лікування досліджуваними схемами терапії в Групі 1 був статистично вірогідно нижчим, ніж у Групі 2, p=0,004 (рис. 5.11). Рівні ССР за іншими 4 шкалами статистично не відрізнялись між групами протягом часових проміжків дослідження. Отже, це свідчить, що комбіноване лікування симвастатином та пробіотиком на основі *Lactobacillus plantarum* було більш ефективним в зниженні серцево-судинного ризику, оціненого за шкалою PROCAM, порівняно з монотерапією симвастатином. Однак, за іншими шкалами такого не спостерігалось.

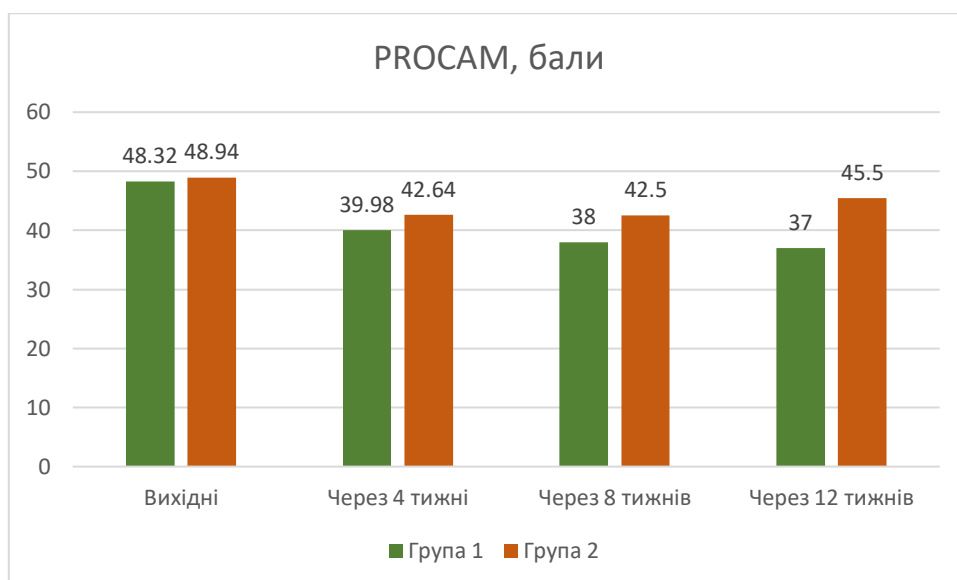


Рис. 5.11. Рівні серцево-судинного ризику за шкалою PROCAM в Групі 1 та Групі 2 протягом часових проміжків дослідження.

5.2. Досягнення кінцевих змінних ефективності модифікації різних категорій серцево-судинного ризику.

Як зазначено у Розділі 2 дисертаційного дослідження, одними з вторинних кінцевих змінних ефективності призначених схем лікування були відносні зміни (у відсотках) значень серцево-судинного ризику, оціненого за валідованими шкалами. У таблиці 5.8 наведено дані по відсотковому зменшенню рівнів ССР через 12 тижнів дослідження, порівняно з вихідними рівнями у Групі 1 та Групі 2.

Таблиця 5.8

Відносне (у відсотках) зменшення рівнів серцево-судинного ризику, оціненого за 5 шкалами, через 12 тижнів порівняно з вихідними рівнями у Групі 1 та Групі 2.

Шкала	Група 1 (n=41)*	Група 2 (n=36)*	Відмінність, p
Δ Globorisk (%)	18,87±13,59	11,35±12,04	p=0,013
Δ Фремінгемська шкала оцінки 10-річного ССР (%)	26 (17,5-41)	9,8 (-2-25)	p=0,004

Шкала	Група 1 (n=41)*	Група 2 (n=36)*	Відмінність, p
Δ ACC/АНА алгоритм 2013 року (%)	20 (5,87-34)	7 (-1,85-20,78)	p=0,017
Δ PROCAM (%)	23 (14,58-27,7)	7 (0-19)	p<0,001
Δ Алгоритм ВООЗ (%)	21,47±11,34	12,18±13,72	p=0,002

*Дані були представлені у вигляді Mean±SD при нормальному розподілі або Median (Q1-Q3) при розподілі, відмінному від нормального.

Було виявлено, що в Групі 1, учасники якої отримували комбінацію симвастатину та капсул із пробіотичними бактеріями *Lactobacillus plantarum*, динаміка зменшення рівнів серцево-судинного ризику (у відсотках) по всім 5 валідованим шкалам через 12 тижнів лікування була статистично вірогідно більш вираженою порівняно з Групою 2, учасники якої отримували монотерапію симвастатином (рис 5.12).

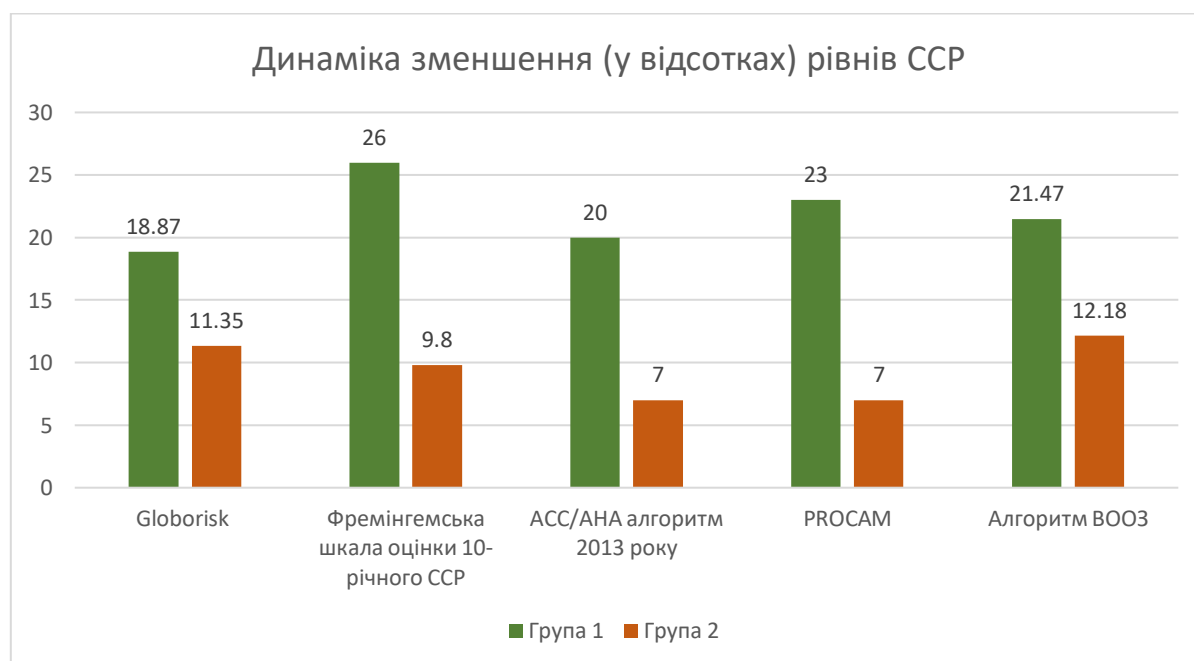


Рис. 5.12. Динаміка зменшення (у відсотках) рівнів серцево-судинного ризику, оціненого за 5 валідованими шкалами, через 12 тижнів дослідження у Групі 1 та Групі 2.

Під час планування дисертаційного дослідження було визначено вважати лікування ефективним за умови досягнення 20% і більше зниження рівнів серцево-судинного ризику через 12 тижнів лікування (по закінченню дослідження). В таблиці 5.9 наведені дані по частоті досягнення кінцевих цілей ефективності модифікації ССР, оціненого за валідованими шкалами.

Таблиця 5.9

**Частота досягнення кінцевих цілей ефективності модифікації
серцево-судинного ризику (20% і більше зниження рівня), оціненого за
валідованими шкалами, у Групі 1 та Групі 2.**

≥20% зменшення рівня ССР	Група 1, n (%)	Група 2, n (%)	ВШ (95% ДІ), p
Globorisk	17 (41,5%)	10 (27,8%)	p=0,311
Фремінгемська шкала оцінки 10-річного ССР	29 (70,7%)	12 (33,3%)	2,12 (95% ДІ; 1,28-3,51), p=0,003
АСС/АНА алгоритм 2013 року	21 (51,2%)	9 (25%)	2,05 (95% ДІ; 1,08-3,88), p=0,035
PROCAM	27 (65,9%)	9 (25%)	2,63 (95% ДІ; 1,44-4,83), p<0,001
Алгоритм ВООЗ	23 (56,1%)	9 (25%)	2,24 (95% ДІ; 1,2-4,2), p=0,012.

Було виявлено, що частота досягнення кінцевої цілі відносно зниження рівнів серцево-судинного ризику згідно із:

- 1) Фремінгемською шкалою оцінки 10-річного ССР у Групі 1 складала 70,7 % порівняно із 33,3% у Групі 2, ВШ=2,12 (95% ВІ; 1,28-3,51), p=0,003;
- 2) АСС/АНА алгоритмом 2013 року складала 51,2% у Групі 1 порівняно із 25% у Групі 2, ВШ=2,05 (95% ВІ; 1,08-3,88), p=0,035;

- 3) шкалою PROCAM складала 65,9% у Групі 1 порівняно із 25% у Групі 2, ВШ=2,63 (95% ВІ; 1,44-4,83), $p < 0,001$;
- 4) алгоритмом ВООЗ складала 56,1% у Групі порівняно із 25% у Групі 2, ВШ=2,24 (95% ВІ; 1,2-4,2), $p = 0,012$.

Частота досягнення кінцевої цілі відносно зниження рівня ССР за шкалою Globorisk статистично вірогідно не відрізнялась між Групою 1 та Групою 2. Отже, комбіноване лікування симвастатином та пробіотиком на основі *Lactobacillus plantarum*, яке призначалось учасникам Групи 1, було більш ніж в 2 рази ефективнішим відносно досягнення 20% і більше зниження рівнів серцево-судинного ризику через 12 тижнів лікування згідно із шкалами: Фремінгемська шкала оцінки 10-річного ССР, ACC/АНА алгоритм 2013 року, PROCAM та алгоритм ВООЗ.

Наступним етапом було проведено аналіз взаємозв'язку між відносною активністю кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот на 12 тижні лікування та ризиком недосягнення кінцевих цілей ефективності модифікації серцево-судинного ризику, оціненого за валідованими шкалами (20% і більше зниження рівня ССР). Для цього використовувався метод побудови та аналізу однофакторних моделей логістичної регресії з конструюванням кривих операційних характеристик (ROC-кривих). У таблиці 5.10 наведені показники однофакторної моделі логістичної регресії відносно ризику недосягнення 20% і більше зниження рівня ССР за Фремінгемською шкалою оцінки 10-річного ССР, у таблиці 5.11 – за ACC/АНА алгоритмом 2013 року, у таблиці 5.12 – за шкалою PROCAM. Взаємозв'язку між відносною активністю кишкової бактеріальної ГСЖК на 12 тижні лікування та ризиком недосягнення кінцевих цілей ефективності модифікації серцево-судинного ризику за шкалою Globorisk та алгоритмом ВООЗ знайдено не було.

Показники однофакторної моделі логістичної регресії взаємозв'язку ризику недосягнення зниження ССР за Фремінгемською шкалою оцінки 10-річного ССР (20% та більше зниження) та відносної активності кишкової бактеріальної ГСЖК

Чинник	Коефіцієнт моделі, $b \pm m^*$	Рівень значимості відмінності від 0, p	Показник ВШ (95% ДІ)
ВА кишкової бактеріальної ГСЖК	$-10,1 \pm 3,46$	0,0035	$4,09 \cdot 10^{-5}$ (95% ДІ; $4,66 \cdot 10^{-8} - 0,0359$)

*b – коефіцієнт моделі; m – стандартна похибка

Однофакторний аналіз виявив, що зі збільшенням відносної активності кишкової бактеріальної ГСЖК, ризик недосягнення цілі лікування відносно 20% і більше зниження рівня ССР за Фремінгемською шкалою оцінки 10-річного ССР знижується, ВШ= $4,09 \cdot 10^{-5}$ (95% ДІ; $4,66 \cdot 10^{-8} - 0,0359$). На рис. 5.13 представлено ROC-криву даної моделі. Площа під ROC-кривою AUC=0,736 (95% ДІ; 0,618-0,855), що вказує на добру якість побудованої моделі.

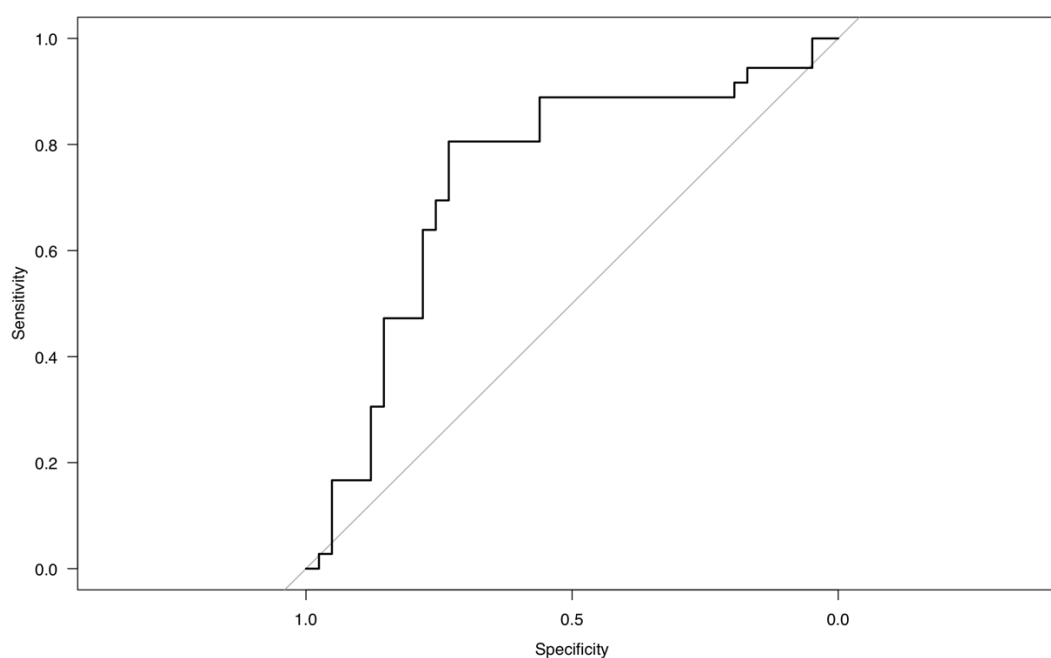


Рис. 5.13. Крива операційних характеристик (ROC-крива) однофакторної моделі логістичної регресії взаємозв'язку між ризиком недосягнення

модифікації ССР за Фремінгемською шкалою оцінки 10-річного ССР (20% та більше зниження) та відносною активністю кишкової бактеріальної ГСЖК.

Таблиця 5.11

Показники однофакторної моделі логістичної регресії взаємозв'язку ризику недосягнення зниження ССР за АСС/АНА алгоритмом 2013 року (20% та більше зниження) та відносною активності кишкової бактеріальної ГСЖК

Чинник	Коефіцієнт моделі, $b \pm m^*$	Рівень значимості відмінності від 0, p	Показник ВШ (95% ДІ)
ВА кишкової бактеріальної ГСЖК	$-7,87 \pm 3,2$	0,014	$3,8 \cdot 10^{-4}$ (95% ДІ; $7,34 \cdot 10^{-7} - 0,197$)

*b – коефіцієнт моделі; m – стандартна похибка.

Було показано, що зі збільшенням відносною активності кишкової бактеріальної ГСЖК, ризик недосягнення цілі лікування відносно 20% і більше зниження рівня ССР за АСС/АНА алгоритмом 2013 року знижується, ВШ= $3,8 \cdot 10^{-4}$ (95% ДІ; $7,34 \cdot 10^{-7} - 0,197$). На рис. 5.14 представлено ROC-криву даної моделі. Площа під ROC-кривою $AUC=0,662$ (95% СІ; 0,538-0,787), що вказує на задовільну якість побудованої моделі.

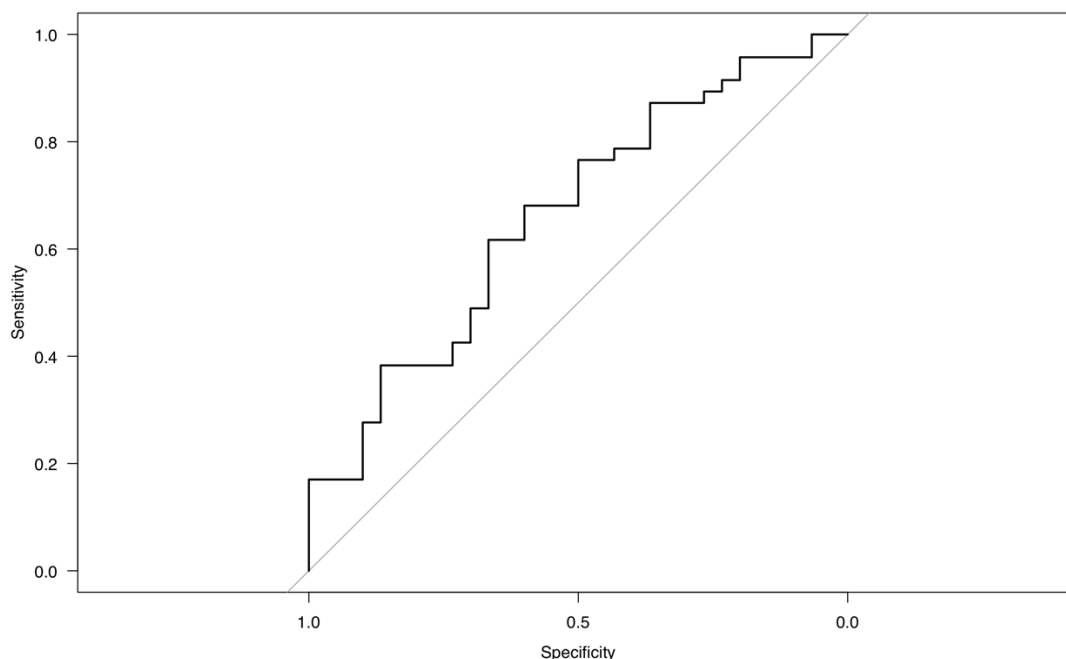


Рис. 5.14. Крива операційних характеристик (ROC-крива) однофакторної моделі логістичної регресії взаємозв'язку між ризиком недосягнення модифікації ССР за АСС/АНА алгоритмом 2013 року (20% та більше зниження) та відносною активністю кишкової бактеріальної ГСЖК.

Таблиця 5.12

Показники однофакторної моделі логістичної регресії взаємозв'язку ризику недосягнення зниження ССР за шкалою PROCAM (20% та більше зниження) та відносною активності кишкової бактеріальної ГСЖК

Чинник	Коефіцієнт моделі, $b \pm m^*$	Рівень значимості відмінності від 0, p	Показник ВШ (95% ДІ)
ВА кишкової бактеріальної ГСЖК	$-11,7 \pm 3,62$	0,0013	$8,38 \cdot 10^{-6}$ (95%; ДІ; $6,93 \cdot 10^{-9}$ - 0,0101)

*b – коефіцієнт моделі; m – стандартна похибка.

Однофакторний аналіз виявив, що зі збільшенням відносною активності кишкової бактеріальної ГСЖК, ризик недосягнення цілі лікування відносно 20% і більше зниження рівня ССР за шкалою PROCAM знижується, ВШ= $8,38 \cdot 10^{-6}$ (95%; ДІ; $6,93 \cdot 10^{-9}$ - 0,0101). На рис. 5.15 представлено ROC-криву даної моделі.

Площа під ROC-кривою $AUC=0,759$ (95% ДІ; 0,645-0,873), що вказує на добру якість побудованої моделі.

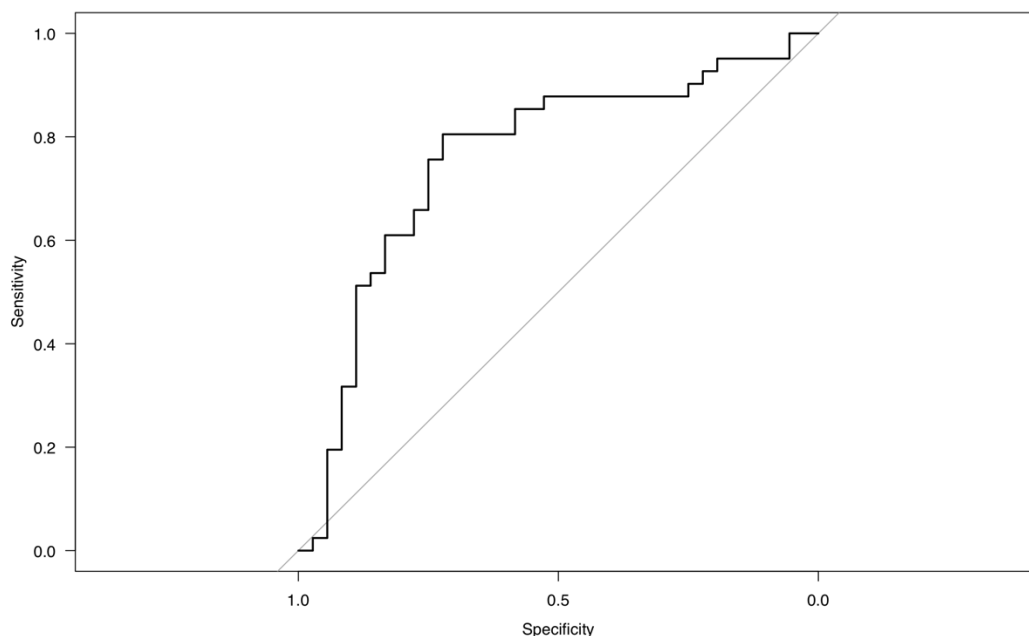


Рис. 5.15. Крива операційних характеристик (ROC-крива) однофакторної моделі логістичної регресії взаємозв'язку між ризиком недосягнення модифікації ССР за шкалою PROCAM (20% та більше зниження) та відносною активністю кишкової бактеріальної ГСЖК.

Отже, на основі побудованих моделей логістичної регресії було виявлено, що зі збільшенням відносної активності кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот знижується ризик недосягнення кінцевих цілей ефективності модифікації різних категорій серцево-судинного ризику, оціненого за 3 шкалами: Фремінгемська шкала оцінки 10-річного ССР, АСС/АНА алгоритм 2013 року та PROCAM. Це означає, що чим більша активність даного ферменту, тим вище шанс досягти кінцевого ефекту лікування відносно зниження рівнів серцево-судинного ризику за вищезазначеними шкалами.

Підсумовуючи даний розділ дисертаційної роботи, було показано, що комбінація пробіотичних капсул на основі *Lactobacillus plantarum* та симвастатину, яка призначалась учасникам із Групи 1, була вірогідно більш ефективною в зниженні рівня серцево-судинного ризику за шкалою PROCAM через 12 тижнів дослідження порівняно із монотерапією симвастатином, яка призначалась учасникам із Групи 2. Динаміка зменшення рівнів серцево-

судинного ризику (у відсотках) по всім 5 валідованим шкалам через 12 тижнів лікування була статистично вірогідно більш вираженою у пацієнтів, що отримували комбіноване лікування порівняно із монотерапією симвастатином. Комбіноване лікування було більш ніж в 2 рази ефективнішим відносно досягнення визначених кінцевих цілей терапії: 20% і більше зниження рівнів ССР за всіма шкалами, окрім Globorisk. При цьому було показано, що збільшення відносної активності кишкової бактеріальної ГСЖК було асоційоване із вищими шансами досягти визначених кінцевих цілей терапії відносно модифікації серцево-судинного ризику, оціненого за Фремінгемською шкалою оцінки 10-річного ССР, ACC/АНА алгоритмом 2013 року та шкалою PROCAM.

Описані в даному розділі результати дисертаційної роботи були висвітлені у відповідних публікаціях [136, 137]:

1. Neverovskyi A, Chernyavskyi V, Shypulin V, et al. Modification of gut bacterial bile salt hydrolase activity and cardiovascular risk: a randomized study. *Ukrainian Scientific Medical Youth Journal*. 2020;3(117):36-45. doi: 10.32345/USMYJ.3(117).2020.36-45.
2. Neverovskyi A, Chernyavskyi V, Shypulin V, et al. Probiotic *Lactobacillus plantarum* may reduce cardiovascular risk: An experimental study. *ARYA Atheroscler* 2021; 17: 2156. doi: 10.22122/arya.v17i0.2156

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ РОБОТИ

Захворювання серцево-судинної системи, особливо потенційно фатальні події (інфаркт міокарда, інсульт), продовжують займати провідне місце в глобальній захворюваності та смертності, не дивлячись на зусилля та кошти, які виділяються на їх профілактику та лікування [1,2]. З 1990 року та до 2019 року кількість випадків ЗССС у світі збільшилась із 271 млн до 523 млн, а кількість смертей від фатальних ЗССС збільшилась із 12,1 млн до 18,6 млн [138], що є свідченням вкрай невтішної динаміки.

На сьогоднішній день незаперечним є той факт, що порушення ліпідного обміну є одним з головних та найвпливовіших вкладників у розвиток атеросклеротичних ЗССС [8, 9]. Підвищення сироваткових ліпопротеїнів низької щільності як головна ознака дисліпідемії займає п'яте місце у списку провідних чинників ризику смерті, з яким у 2019 році було асоційовано 4,4 млн смертей, з більшою частотою в Європейському регіоні [138, 139]. Кількість років життя з поправкою на інвалідність (disability-adjusted life years – DALYs) – показник загального тягара хвороб, виражений в кількості років, втрачених через певне захворювання, для підвищених рівнів ЛПНЩ становив 98,6 млн років у 2019 році [138], засвідчуючи виражений соціально-економічний тягар дисліпідемії. Причому стандартизовані за віком роки DALYs через підвищені ЛПНЩ були більші в Східній Європі [138]. Тому одним з важливих напрямків первинної та вторинної профілактики ЗССС та, відповідно, зменшення їх тягара в світовій захворюваності та смертності залишається корекція дисліпідемії з основною метою зниження сироваткових рівнів ліпопротеїнів низької щільності [9, 16, 17].

Лікування дисліпідемії залежить від двох основних факторів: категорії серцево-судинного ризику та рівня сироваткових ЛПНЩ та складається з немедикаментозних заходів та медикаментозної терапії. Всім пацієнтам з дисліпідемією незалежно від категорії ССР показані немедикаментозні рекомендації, направлені на модифікацію образу життя, включаючи фізичні навантаження, дієту, відмову від паління тощо. Але при високих категоріях ССР

та підвищених рівнях ЛПНЩ необхідною є додаткова терапія гіполіпідемічними препаратами. Актуальні світові та міжнародні клінічні настанови рекомендують використовувати високоінтенсивну терапію статинами з езетимібом та інгібіторами PCSK9 з метою досягнення лікувальних цілей [9, 16, 17]. Проте такий підхід, незважаючи на доведену ефективність, має ряд недоліків, що в частині випадків обмежує його практичне використання в рутинній амбулаторній практиці. Одними з них є побічні ефекти препаратів, особливо високоінтенсивної терапії статинами, що може призводити до підвищення активностей АЛТ та АСТ з розвитком медикаментозно-індукованих гепатитів, КФК з розвитком міопатії, підвищення ризику цукрового діабету 2 типу [9]. Такі побічні ефекти за певних умов можуть бути показаннями до зменшення дози або відміни даної групи препаратів, наслідком чого буде зменшення ефективності корекції ЛПНЩ. Іншим аспектом є висока вартість нових препаратів для лікування дисліпідемії, що зменшує доступність та економічну ефективність даних медикаментів [140, 141]. В ряді випадків навіть дотримання рекомендованих алгоритмів лікування не призводить до досягнення терапевтичних цілей. Отже, на сьогодні питання корекції дисліпідемії залишається не до кінця вирішеними, і є необхідність в пошуку та дослідженнях нових терапевтичних підходів [142].

Об'єктом даного дисертаційного дослідження виступила ферментативна активність кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот, яка синтезується різними представниками кишкового мікробіому, а також штамми бактерій, які входять до складу пробіотичних препаратів. Як впливає з Розділу 1 даної роботи, теоретично та частково практично обґрунтовано роль даного ферменту в метаболізмі холестерину [40-52]. Бактеріальна гідролаза солей жовчних кислот у кишківнику розщеплює первинні жовчні кислоти (холеву та хенодезоксихолеву) у вторинні (дезоксихолеву та літохолеву), які є менш розчинними і виводяться зі стулом. Це зменшує кількість жовчних кислот ентерогепатичної циркуляції, що стимулює через різні механізми (негативний зворотній зв'язок, експресія гепатоцитами рецепторів до ЛПНЩ, модуляція

рецепторів FXR та активності CYP7A1) синтез жовчних кислот в печінці з вільного холестерину крові, наслідком чого є зниження його плазмового рівня. Отже, теоретично припускається, що вища активність даного ферменту в кишківнику асоційована з нижчими рівнями сироваткового холестерину. Однак літературні дані відносно практичного підтвердження цього доволі обмежені. В ряді досліджень застосовувалось визначення екскреції жовчних кислот із калом для визначення взаємозв'язку між обміном жовчних кислот та метаболізмом холестерину [38, 143-145]. Експериментальні дослідження на тваринах виявили негативну кореляцію між рівнем сироваткового холестерину та екскрецією жовчних кислот [143, 144]. Тоді як аналогічні клінічні дослідження за участі людей не виявили такої кореляції [38, 145]. Але в той же час в них було показано, що у пацієнтів з коронарною хворобою серця спостерігалась менша екскреція жовчних кислот із калом при порівнянні зі здоровими учасниками. Стосовно оцінки ферментативної активності бактеріальної гідролази солей жовчних кислот, було знайдено лише одне експериментальне дослідження на мишах, яке виявило, що підвищення активності ГСЖК в кишківнику тварин було асоційоване із зменшенням сироваткових рівнів холестерину [62]. В нашому дисертаційному дослідженні застосовувався метод ультраефективної рідинної хроматографії із мас-спектрометрією для визначення ферментативної активності кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот у практично здорових учасників та пацієнтів з дисліпідемією. Результати першого етапу дослідження, який був проведений за дизайном «випадок-контроль», показали, що у пацієнтів з дисліпідемією реєструвались значно нижчі показники відносної ферментативної активності кишкової бактеріальної ГСЖК ($0,01 \pm 0,05$ Од/мл) порівняно з практично здоровими учасниками ($0,22 \pm 0,12$), $p < 0,001$. Також було виявлено негативну кореляцію помірної сили відносної активності даного ферменту із рівнями загального холестерину ($r = -0,38$), ліпопротеїнів низької щільності ($r = -0,36$) (з наявністю лінійного взаємозв'язку) та слабкої сили із коефіцієнтом атерогенності ($r = -0,22$). Це означає, що чим вищі рівні відносної активності кишкової бактеріальної ГСЖК, тим нижчі рівні сироваткових ЗХ та

ЛПНЩ, і навпаки. Побудована однофакторна модель логістичної регресії показала, що зі збільшенням відносної активності кишкової бактеріальної ГСЖК, ризик дисліпідемії знижується, $ВШ=1,06*10^{-10}$ (95% ВІ; $2,5*10^{-15}$ - $4,5*10^{-6}$). Це свідчить про наявність негативної асоціації між ризиком дисліпідемії та відотною активністю кишкової бактеріальної ГСЖК. Таким чином, наведені результати першого етапу дисертаційного дослідження частково співставні із зазначеним вище експериментальним дослідженням на мишах, де також авторами застосовувалось визначення ферментативної активності кишкової бактеріальної ГСЖК [62]. Однак аналогічних клінічних досліджень нами не було знайдено серед міжнародної літератури. Рядом авторів були проведені метагеномні дослідження, які оцінювали взаємозв'язок кількості генів різних типів бактеріальної ГСЖК кишкового мікробіому та рівнем сироваткового холестерину, атеросклерозом [51, 59]. Однак статистично вірогідного взаємозв'язку із рівнями плазмового холестерину знайдено не було, тоді як різні типи бактеріальної ГСЖК протилежно корелювали із атеросклерозом [51, 59]. Але варто зазначити, що вказані метагеномні дослідження оцінювали кількість генетичного матеріалу, який відповідальний за експресію ГСЖК, але не оцінювали взаємозв'язок ферментативної активності ферменту та порушень ліпідного обміну.

Іншим аспектом першого етапу дисертаційного дослідження була оцінка взаємозв'язку ферментативної активності кишкової бактеріальної ГСЖК та різних категорій серцево-судинного ризику. В клінічній практиці з метою оцінки ризику, призначення первинного та вторинного профілактичного лікування, його наступного моніторингу, а також визначення прогнозу кожного конкретного пацієнта застосовуються валідовані шкали серцево-судинного ризику, які дозволяють оцінити різні його категорії за набором певних чинників, включаючи показники ліпідограми [2, 12-15]. В даному дослідженні застосовувались наступні шкали: Globorisk [12], Фремінгемська шкала оцінки 10-річного ССР [13], АСС/АНА алгоритм 2013 року [14], PROCAM [15], алгоритм ВООЗ [2]. Серед міжнародної літератури не було знайдено досліджень,

де би дослідники розраховували ризику за валідованими шкалами та оцінювали взаємозв'язок із ферментативною активністю кишкової бактеріальної ГСЖК. В ході дисертаційного дослідження було виявлено наявність негативної кореляції між відносною активністю кишкової бактеріальної ГСЖК та рівнями серцево-судинного ризику, оціненого за всіма шкалами: Globorisk ($r=-0,34$), Фремінгемська шкала оцінки 10-річного ССР ($r=-0,34$), ACC/АНА алгоритм 2013 року ($r=-0,32$), PROCAM ($r=-0,35$), алгоритм ВООЗ ($r=-0,34$). Це означає, що вищі рівні активності зазначеного ферменту були асоційовані із нижчими рівнями різних категорій серцево-судинного ризику. Відповідно, можна припустити, що бактеріальна гідролаза солей жовчних кислот може грати протективну роль відносно серцево-судинного ризику, однак для з'ясування більш точного зв'язку та можливих механізмів необхідні подальші дослідження. На жаль, судити про співставність даних результатів із іншими дослідженнями неможливо через відсутність аналогічних досліджень серед літературних даних. Однак в ряді метагеномних досліджень було показано, що кількість генів одного типу бактеріальної ГСЖК позитивно корелювала із серцево-судинною смертністю, тоді як інші варіанти ГСЖК взагалі не корелювали із серцево-судинною смертністю [51]. Проте, варто зазначити, що по-перше, в цих дослідженнях оцінювалась лише одна категорія ССР – смертність, а по-друге, як і зазначалось вище, в цьому дослідженні не оцінювалась ферментативна активність кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот та її взаємозв'язок із серцево-судинним ризиком [51].

Отже, в ході першого етапу дисертаційного дослідження були уточнені та доповнені дані стосовно ролі бактеріальної ГСЖК у обміні холестерину, розвитку та прогресуванні дисліпідемії; вперше було виявлено зв'язок між ризиком дисліпідемії та загальною активністю кишкової бактеріальної ГСЖК у клінічному дослідженні за участі людей; вперше було виявлено кореляційний зв'язок між різними категоріями серцево-судинного ризику, оціненого за валідованими шкалами та загальною активністю кишкової бактеріальної ГСЖК у клінічному дослідженні за участі людей.

Наявність теоретичного та частково практично обґрунтованого взаємозв'язку між ферментативною активністю кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот та рівнями плазмового холестерину обумовлює перспективність досліджень її використання з гіполіпідемічною метою. З метою модифікації функціональної активності даного ферменту пропонувалось застосовувати ізольовані форми даного ферменту [63-65]. Введення піддослідним тваринам бактеріальної ГСЖК, що була ізольована від штамів *Lactobacilli*, мало ефект у зниженні сироваткових загального холестерину та тригліцеридів [64, 65]. Однак результатів аналогічних клінічних досліджень за участі пацієнтів знайдено не було. Ймовірно, даний напрямок не отримав свого подальшого розвитку через технічні складнощі в ізолюванні ферменту та синтезу її біологічно доступних та активних форм. Але в той же час було проведено та надалі проводиться багато досліджень із застосування різних штамів пробіотичних бактерій, які містять гени бактеріальної ГСЖК та відповідно можуть її експресувати [21-23, 66-69, 146]. В даному дисертаційному дослідженні було вирішено обрати штам *Lactobacillus plantarum* з метою дослідження його гіпохолестеринемічних властивостей у вигляді капсул, що містили $2 \cdot 10^9$ КУО в одній капсулі. Перед початком другого етапу дослідження було проведено визначення відносної ферментативної активності бактеріальної гідролази солей жовчних кислот у даних капсулах, застосовуючи метод ультраефективної рідинної хроматографії із мас-спектрометрією. Було виявлено, що капсули із досліджуваними пробіотичними бактеріями *Lactobacillus plantarum* мали в середньому відносну активність бактеріальної ГСЖК рівною $1,0006 \pm 0,037$ Од/мл порівняно із $0,033 \pm 0,009$ Од/мл штаму *Lactobacillus plantarum* з попередньо елімінованими генами ГСЖК, $p < 0,05$. Зазначені результати співставні з даними раніше проведених досліджень [31, 114-116, 147, 148], які показали, що *Lactobacillus plantarum* можуть експресувати 4 різних варіантів ГСЖК з високою ферментативною активністю до більшості основних субстратів, а саме первинних жовчних кислот.

Другий етап даного дисертаційного дослідження, який виконувався за дизайном відкритого порівняльного рандомізованого паралельного дослідження, мав однією з цілей з'ясувати роль досліджуваних капсул із пробіотичними бактеріями *Lactobacillus plantarum* в терапії гіперхолестеринемії. Для цього пацієнтів із діагностованою дисліпідемією рандомно було розподілено на 2 групи: перша група приймала комбінацію симвастатину в низьких дозах (20 мг) та досліджуваних пробіотичних капсул, а друга група приймала лише симвастатин у дозі 20 мг. І хоча для більшої достовірності результатів, «в ідеалі», можна було би порівнювати монотерапію досліджуваними капсулами із *Lactobacillus plantarum* та плацебо, однак, дотримуючись етичних принципів та слідуючи інтересам пацієнтів, було вирішено залишити базисну терапію статинами в низьких дозах. Учасники приймали досліджувані схеми лікування впродовж 12 тижнів. Було виявлено, що обидві схеми окремо в кожній групі призводили до вірогідного зменшення рівнів загального холестерину, ліпопротеїнів низької щільності та коефіцієнту атерогенності, починаючи з першого місяця лікування і до закінчення дослідження. При наступному порівнянні груп між собою було показано, що у групі пацієнтів, які приймали симвастатин та капсули із *Lactobacillus plantarum*, рівні ЗХ та ЛПНЩ були вірогідно нижчими після 8 тижнів та до закінчення дослідження порівняно з групою пацієнтів, яким призначався лише симвастатин. При цьому через 12 тижнів дослідження у групі, де додатково призначались пробіотичні бактерії, рівень ЗХ в середньому зменшився на $24,4 \pm 12,5\%$, а ЛПНЩ на $28,3\%$ ($23,4\% - 38,5\%$) порівняно із $12,9 \pm 15\%$ та $18,4\%$ ($7,2\% - 27,1\%$) у групі, де призначалась монотерапія симвастатином, відповідно. Найбільш ймовірно, це є наслідком додаткового гіпохолестеринемічного ефекту пробіотичних бактерій *Lactobacillus plantarum*. Отримані результати корелюють з даними аналогічних досліджень із застосуванням даного штаму пробіотичних бактерій [109, 117, 146, 149] та відповідних мета-аналізів [118], де також був виявлений ефект *Lactobacillus plantarum* у зниженні ЗХ та ЛПНЩ.

Ще до початку дисертаційного дослідження, було вирішено вважати лікування ефективним за умови досягнення 20% і більше зниження показників ЗХ та ЛПНЩ по закінченню дослідження. Було виявлено, що частота досягнення кінцевої цілі відносно зниження рівнів ЗХ у групі, де призначалась комбінована терапія із капсулами на основі *Lactobacillus plantarum*, складала 63,4% порівняно з 27,8% у групі пацієнтів на монотерапії симвастатином, ВШ=2,28 (95% ДІ; 1,28-4,06), $p=0,004$; відносно зниження рівнів ЛПНЩ у першій групі складала 85,4% порівняно з 41,7% у другій групі, ВШ=2,05 (95% ДІ; 1,36-3,08), $p<0,001$. Це вказує на те, що додаткове до низьких доз симвастатину призначення пробіотичних капсул із *Lactobacillus plantarum* було більш ніж в 2 рази ефективнішим у досягненні зазначених терапевтичних цілей порівняно з монотерапією низькими дозами симвастатину. Однак слід зазначити, що в аналогічних дослідженнях інших авторів не робився акцент на досягненні терапевтичних цілей.

Стосовно інших показників, в нашому дисертаційному дослідженні не було виявлено вірогідних змін рівнів ліпопротеїнів високої щільності, що співставно з результатами відповідного мета-аналізу [118], хоча окремі автори зазначали ефект *Lactobacillus plantarum* у підвищенні ЛПВЩ [109]. Відносно тригліцеридів, в нашому дослідженні було виявлено, що їх рівні в кожній групі по окремоті статистично не змінювались протягом дослідження, але при порівнянні груп вони були вірогідно нижчими у групі пацієнтів, яким призначалась комбінована терапія із пробіотиком, після 4 та після 12 тижнів, однак після 8 тижнів дослідження такого не спостерігалось. І хоча в ряді аналогічних досліджень інших авторів зазначався можливий ефект *Lactobacillus plantarum* у зниженні рівнів ТГ [109], мета-аналіз не виявив вірогідних змін ТГ [118]. Отже, наступні дослідження є необхідними для з'ясування більш зрозумілого ефекту даного штаму пробіотичних бактерій у корекції ТГ.

Що стосується інтегрованих показників обміну холестерину (коефіцієнт атерогенності, індекс атерогенності), в даному дисертаційному дослідженні було виявлено, що КА в кожній групі окремо зменшився вже через 4 тижні після

початку лікування, однак вірогідної різниці між групами протягом дослідження не було зареєстровано, що ймовірно може бути пов'язано із тим, що під час розрахунку даного коефіцієнту враховуються ЛПВЩ, рівні яких не були відмінними між групами протягом дослідження. Індекс атерогенності не змінювався в кожній групі окремо протягом дослідження, а також не було різниці в його значенні між групами, що вірогідно пов'язано із тим, що при його розрахунку застосовуються показники ТГ та ЛПВЩ. Варто зазначити, що в роботах інших дослідників, які вивчали гіполіпідемічний ефект пробіотичних бактерій, включаючи *Lactobacillus plantarum*, вказані показники не розраховувались та не оцінювались, можливо через їх обмежене практичне використання.

Іншим аспектом другого етапу дисертаційного дослідження було з'ясувати можливі механізми гіпохолестеринемічного ефекту додаткового призначення капсул із пробіотичними бактеріями *Lactobacillus plantarum*. Для цього учасниками із дослідних груп на 12 тижні прийому досліджуваних схем лікування визначалась відносна ферментативна активність кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот. Було показано, що значення активності даного ферменту у учасників, які приймали комбіновану терапію із пробіотичними бактеріями *Lactobacillus plantarum*, на 12 тижні лікування були вірогідно вищі порівняно з вихідними значеннями до початку лікування, тоді як у учасників, які приймали лише симвастатин, вірогідної різниці між вихідними значеннями та через 12 тижнів знайдено не було. При наступному порівнянні груп між собою та з контрольною групою було виявлено, що значення відносної активності кишкової бактеріальної ГСЖК на 12 тижні лікування у учасників, що приймали комбіноване лікування, були вірогідно вищі порівняно з групою пацієнтів на монотерапії симвастатином, але в той же час не відрізнялись вірогідно від значень у учасників з контрольною групою. Отже, це свідчить, що додаткове призначення капсул із пробіотичними бактеріями *Lactobacillus plantarum* призводило до підвищення ферментативної активності кишкової бактеріальної ГСЖК, найбільш ймовірно через експресію даного ферменту

зазначеним штамом пробіотичних бактерій. При цьому активність ферменту була співставна з такою у практично здорових учасників з контрольної групи. На жаль, аналогічних робіт серед міжнародної літератури, які б визначали функціональну активність ГСЖК у кишківнику пацієнтів у відповідь на прийом пробіотиків, знайдено не було. Однак рядом авторів проводились дослідження для виявлення можливого взаємозв'язку між призначенням пробіотичних бактерій, обміном жовчних кислот та холестерину. В одному з досліджень було показано, що у пацієнтів після вживання протягом 12 тижнів пробіотику на основі *Lactobacillus reuteri* спостерігалось збільшення сироваткових рівнів декон'югованих (вторинних) жовчних кислот, які негативно корелювали із ЛПНЩ [119]. Причому, автори зазначеного дослідження такі результати пов'язували з ферментативною активністю бактеріальною ГСЖК, яка ймовірно синтезувалась пробіотичним штамом бактерій. В інших роботах по дослідженню пробіотичних штамів *Lactobacillus reuteri* [120] та *Lactobacillus plantarum* [150] вивчались концентрації жовчних кислот у фекаліях пацієнтів у відповідь на прийом відповідних пробіотиків. Однак, авторами не було знайдено відмінностей у їх концентрації після вживання пробіотиків або плацебо. Проте, висувалась гіпотеза [120], що декон'югація первинних ЖК бактеріальною ГСЖК призводить в першу чергу до порушення пулу циркулюючих ЖК, а не виведення вторинних форм із калом. Загалом, такі дані вказують на відсутність на сьогодні впевненої відповіді на питання механізму гіпохолестеринемічного ефекту пробіотиків. Отже, результати нашого дисертаційного дослідження потребують подальшого підтвердження та розширення із залученням більшої кількості учасників та центрів дослідження.

Додатково в дисертаційному дослідженні проводився аналіз взаємозв'язку між відносною активністю кишкової бактеріальної ГСЖК на 12 тижні лікування та ризиком недосягнення кінцевих цілей ефективності корекції загального холестерину та ліпопротеїнів низької щільності. Було виявлено, що зі збільшенням відносної активності кишкової бактеріальної ГСЖК, ризик недосягнення цілі лікування відносно 20% і більше зниження ЗХ знижується,

ВШ=0,00133 (95% ВІ; $3,28 \cdot 10^{-6}$ - 0,538), відносно 20% і більше зниження ЛПНЩ знижується, ВШ= $5,65 \cdot 10^{-14}$ (95% ВІ; $6,38 \cdot 10^{-20}$ - $5 \cdot 10^{-8}$). Це означає, що чим більша активність бактеріальної ГСЖК в кишківнику пацієнтів, тим вище шанс у них досягти кінцевого ефекту лікування відносно зниження загального холестерину та ліпопротеїнів низької щільності. Отже, це додатково вказує на те, що модифікація функціональної активності даного ферменту за допомогою пробіотичного штаму *Lactobacillus plantarum* має позитивний клінічний ефект у лікуванні пацієнтів з дисліпідемією. Однак, аналогічного аналізу в роботах інших авторів не проводилось, що також диктує необхідність подальших досліджень для з'ясування більш точного взаємозв'язку.

Наступною основною метою другого етапу дисертаційного дослідження, який був проведений, як вже зазначалось, за дизайном відкритого порівняльного рандомізованого паралельного дослідження, було оцінити ефект додаткового застосування пробіотичних капсул із *Lactobacillus plantarum* у модифікації різних категорій серцево-судинного ризику, що оцінювався за 5 валідованими шкалами ризику, які були перераховані вище. Варто зазначити, що аналогічних робіт серед літературних даних знайдено не було. Рядом авторів вивчався вплив пробіотичних бактерій на різні чинники серцево-судинного ризику [121-124]. Було показано, що різні пробіотичні бактерії призводили до зменшення рівнів артеріального тиску, корекції показників обміну глюкози, ІМТ [121-124], збільшення фракції викиду при серцевій недостатності [125], поліпшення функції ендотелію судин та зменшення системного запалення у пацієнтів з ІХС [151]. І хоча в роботах зазначалось, що вплив призначення пробіотиків на вказанні чинники може модифікувати серцево-судинний ризик, тим не менше в них не проводилась оцінка його різних категорій, включаючи за допомогою різних шкал ССР. В нашому дисертаційному дослідженні було вирішено розраховувати серцево-судинний ризик за 5 шкалами, які дозволяли оцінити ризик 10-річної смертності від серцево-судинних захворювань (шкала Globorisk), 10-річний ризик нефатальних та фатальних серцево-судинних подій (Фремінгемська шкала оцінки 10-річного ССР), 10-річний ризик серцево-

судинних захворювань та ГПМК (ACC/AHA алгоритм 2013 року), 10-річний ризик гострих коронарних подій (шкала PROCAM) та 10-річний ризик нефатальних та фатальних серцево-судинних захворювань (інфаркт міокарда та інсульт) (алгоритм BOO3). І хоча європейські клінічні настанови рекомендують користуватись шкалою SCORE [9], в даній дисертаційній роботі було вирішено не застосовувати її через відсутність дуже чітких меж та дрібних кроків у градуванні певних чинників (артеріальний тиск, рівень загального холестерину), що потенційно може вести до похибок та неможливості оцінки впливу незначних модифікацій чинників на кінцевий рівень ризику.

Як зазначено у Розділі 2, кожна із застосованих шкал при розрахунку ризику враховує певний набір модифікованих та немодифікованих чинників. Вік, стать, наявність цукрового діабету 2 типу, сімейний анамнез інфаркту міокарда та раса відносились до немодифікованих чинників, і відповідно під час різних часових проміжків дослідження не мали впливу на зміни рівнів серцево-судинного ризику за певною шкалою. Деякі чинники були потенційно модифікованими, а саме регіон проживання та куріння. Однак, впродовж нашого 12-тижневого дослідження вони приймались за немодифіковані: всі учасники були громадянами України і більшу частину життя проживали на її території, а куріння, згідно досліджень [152, 153], навіть після його припинення ще протягом декількох років необхідно враховувати при оцінці серцево-судинного ризику. Отже, модифікованими чинниками, які мали вплив на корекцію серцево-судинного ризику впродовж даного дослідження, були: прийом антигіпертензивної терапії, рівні систолічного та діастолічного артеріального тиску, а також показники ліпідограми. На початку дослідження всім пацієнтам з артеріальною гіпертензією коригувалась або призначалась гіпотензивна терапія згідно міжнародних клінічних настанов [127, 128]. Після початку нашого дослідження (через 4 тижні) відсоток учасників на гіпотензивній терапії збільшився в обох дослідних групах дослідження, однак вірогідної різниці між ними протягом часових проміжків дослідження відносно цього не реєструвалось. Отже, даний чинник – прийом антигіпертензивної терапії – потенційно не мав

впливати на можливі розбіжності у рівнях серцево-судинного ризику між дослідними групами. Гіпотензивна терапія в обох групах призводила до вірогідного зменшення показників систолічного та діастолічного АТ. Що стосується систолічного АТ, було показано, що його рівні в обох групах вірогідно зменшились вже після 4 тижнів дослідження та надалі були стабільними до завершення дослідження, але при цьому між групами різниці протягом дослідження не реєструвалось. Відносно діастолічного АТ, було виявлено, що в групі учасників, які приймали комбіновану терапію із пробіотиком на основі *Lactobacillus plantarum*, його рівні вірогідно знизились та були стабільними з 8 тижня дослідження, а в групі учасників на монотерапії симвастатином рівні ДАТ вірогідно знизились та були стабільними з 4 тижня дослідження. При цьому між групами протягом дослідження не було різниці відносно рівнів ДАТ. Отже, в обох групах корекція САТ та ДАТ потенційно могла призводити до модифікації ССР всередині груп після 4 та 8 тижнів дослідження, але при цьому міжгрупової різниці не реєструвалось. Відповідно, наступне порівняння між групами рівнів ССР, оціненого за валідованими шкалами, протягом дослідження практично не залежало від рівнів САТ та ДАТ. Тому показники ліпідограми та їх зміни (зазначено вище), з високою ймовірністю, мали найбільший вплив на можливу міжгрупову різницю у рівнях серцево-судинного ризику згідно валідованих шкал, особливо через 8 та 12 тижнів дослідження.

Дане дисертаційне дослідження виявило, що кожна схема лікування (комбіноване та монотерапія симвастатином) по окремоті мали ефект у зниженні абсолютних рівнів серцево-судинного ризику по всім п'ятьом шкалам, починаючи з 4 тижня дослідження. Такий ефект, зважаючи на вищезазначені дані, вірогідно був пов'язаний з корекцією гіперхолестеринемії, а також артеріального тиску. До того ж, спостерігалось вірогідне посилення ефекту у зниженні ССР за алгоритмом ВООЗ через 12 тижнів дослідження у пацієнтів на комбінованому лікуванні, вірогідніше через корекцію дисліпідемії. При порівнянні груп між собою було показано, що комбіноване лікування

симвастатином та пробіотичними капсулами із *Lactobacillus plantarum*, було вірогідно більш ефективним в зниженні абсолютного рівня серцево-судинного ризику за шкалою PROCAM через 12 тижнів лікування порівняно з монотерапією симвастатином (37 (31-41) балів та 45,5 (38-50,5) балів, відповідно). Це означає, що через 12 тижнів дослідження учасники, які приймали додатково пробіотики на основі *Lactobacillus plantarum*, мали 10-річний ризик гострих коронарних подій в межах 5-10% порівняно із 10-20%, що мали учасники, які приймали тільки симвастатин [15]. Крім того, в середньому абсолютний рівень ризику за даною шкалою в групі пацієнтів на комбінованому лікуванні зменшився з 48,32 балів до 37 балів, що свідчить про зменшення 10-річного ризику гострих коронарних подій з 10-20% до 5-10% [15]. Отже, додаткове до низьких доз статинів призначення пробіотичних капсул із *Lactobacillus plantarum* було більш ефективним в зниженні 10-річного ризику гострих коронарних подій у пацієнтів з дисліпідемією порівняно з монотерапією симвастатином. Відносно інших чотирьох шкал, не було знайдено вірогідної різниці в абсолютних рівнях серцево-судинного ризику між групами дослідження.

Окрім оцінки змін абсолютних рівнів різних категорій серцево-судинного ризику проводилась оцінка відносних змін, тобто динаміки зменшення у відсотках. Було виявлено, що динаміка зменшення рівнів ССР по всім п'ятьом валідованим шкалам між вихідними значеннями та через 12 тижнів дослідження була вірогідно більш вираженою у учасників, які приймали комбіновану терапію, порівняно із учасниками на монотерапії симвастатином. В середньому рівень ССР за шкалою Globorisk зменшився на $18,87 \pm 13,59$ % у першій групі порівняно із $11,35 \pm 12,04$ % у другій групі; за Фремінгемською шкалою оцінки 10-річного ССР – на 26% (17,5%-41%) та 9,8% (-2%-25%), відповідно; за ACC/ANA алгоритмом 2013 року – на 20% (5,87%-34%) та 7% (-1,85%-20,78%), відповідно; за шкалою PROCAM – на 23% (14,58%-27,7%) та 7% (0%-19%), відповідно; за алгоритмом BOO3 – на $21,47 \pm 11,34$ % та $12,18 \pm 13,72$, відповідно. Отже, додаткове призначення пробіотичних капсул із *Lactobacillus plantarum*

призводило до більш швидких темпів модифікації серцево-судинного ризику, оціненого за 5 шкалами, через 12 тижнів дослідження порівняно з монотерапією симвастатином, але в абсолютних рівнях, як зазначено вище, вдалося досягти вірогідного зменшення тільки за шкалою PROCAM.

Аналогічно із досягненням цілей корекції дисліпідемії, було визначено вважати лікування ефективним за умови досягнення 20% і більше зниження рівнів серцево-судинного ризику по закінченню дослідження. Частота досягнення кінцевої цілі відносно зниження рівнів ССР за Фремінгемською шкалою оцінки 10-річного ССР у групі, де призначалась комбінована терапія із капсулами на основі *Lactobacillus plantarum*, складала 70,7% порівняно із 33,3% у групі пацієнтів на монотерапії симвастатином, ВШ=2,12 (95% ВІ; 1,28-3,51), $p=0,003$; за ACC/АНА алгоритмом 2013 року – 51,2% порівняно із 25%, відповідно, ВШ=2,05 (95% ВІ; 1,08-3,88), $p=0,035$; за шкалою PROCAM – 65,9% порівняно із 25%, відповідно, ВШ=2,63 (95% ВІ; 1,44-4,83), $p<0,001$; за алгоритмом ВООЗ – 56,1% порівняно із 25%, відповідно, ВШ=2,24 (95% ВІ; 1,2-4,2), $p=0,012$. За шкалою Globorisk групи не відрізнялись відносно частоти досягнення цілі. Отже, додаткове застосування капсул із пробіотичними бактеріями *Lactobacillus plantarum* до низьких доз симвастатину було більш ніж в 2 рази ефективнішим відносно досягнення зазначених терапевтичних цілей по зниженню серцево-судинного ризику згідно чотирьох шкал порівняно з монотерапією низькими дозами симвастатину.

Також в даному дисертаційному дослідженні додатково оцінювався можливий взаємозв'язок між відносною активністю кишкової бактеріальної ГСЖК та ризиком недосягнення кінцевих цілей ефективності модифікації серцево-судинного ризику, оціненого за валідованими шкалами. Було виявлено, що зі збільшенням відносної активності кишкової бактеріальної ГСЖК, ризик недосягнення цілі лікування відносно модифікації ССР знижується за: Фремінгемською шкалою оцінки 10-річного ССР, ВШ= $4,09 \cdot 10^{-5}$ (95% ДІ; $4,66 \cdot 10^{-8}$ - 0,0359); за ACC/АНА алгоритмом 2013 року, ВШ= $3,8 \cdot 10^{-4}$ (95% ДІ; $7,34 \cdot 10^{-7}$ - 0,197); за шкалою PROCAM знижується, ВШ= $8,38 \cdot 10^{-6}$ (95%; ДІ;

6,93*10⁻⁹- 0,0101). Відносно шкали Globorisk та алгоритму BOO3 такого взаємозв'язку не було виявлено. Отже, такі результати свідчать, що вищі рівні ферментативної активності бактеріальної ГСЖК в кишківнику були асоційовані з вищим шансом у пацієнтів досягнути визначених цілей лікування відносно модифікації серцево-судинного ризику за трьома вищезазначеними шкалами. Відповідно, це непрямо вказує на те, що модифікація функціональної активності даного ферменту за допомогою пробіотичного штаму *Lactobacillus plantarum* має позитивний клінічний ефект у модифікації певних категорій серцево-судинного ризику та покращенні прогнозу пацієнтів з дисліпідемією. Причому такий ефект пробіотиків на основі *Lactobacillus plantarum* на серцево-судинні ризики, як зазначено вище, вірогідніше за всього є наслідком корекції дисліпідемії, а саме зниження загального холестерину та ліпопротеїнів низької щільності, хоча не виключені інші механізми, але це потребує подальшого уточнення в інших дослідженнях.

Варто зазначити, що, на жаль, аналогічних досліджень по оцінці різних категорій серцево-судинного ризику у контексті лікування пацієнтів з дисліпідемією ГСЖК-експресуючими штамами пробіотичних бактерій нами знайдено не було. Автори ряду досліджень в своїх роботах лише робили припущення, що корекція показників ліпідограми у відповідь на призначення різних штамів пробіотичних бактерій може впливати на зниження у пацієнтів серцево-судинного ризику [109, 117]. Відповідно, результати нашого дисертаційного дослідження потребують подальшого підтвердження в більш масштабних та багатоцентричних дослідженнях із залученням більшої кількості учасників.

Слід також сказати, що в ході дисертаційного дослідження не було зафіксовано клінічно значущих побічних ефектів досліджуваних схем лікування. Лише 2 учасників самостійно відмовились від завершення дослідження через виникнення міалгій, ймовірно внаслідок побічного ефекту симвастатину, хоча рівень КФК не перевищував допустимих рівнів і не потребував відміни

препаратів. Відповідно, капсули із пробіотичними бактеріями *Lactobacillus plantarum* є добре переносимими та безпечними препаратами.

В якості підсумку другого етапу дослідження варто сказати, що в нашому дисертаційному дослідженні були доповнені дані стосовно клінічної ефективності пробіотичних препаратів на основі ГСЖК-продукуючого штаму *Lactobacillus plantarum* в корекції дисліпідемії та досягненні терапевтичних цілей. Вперше було виявлено зв'язок між загальною активністю кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот та ризиком недосягнення кінцевих цілей ефективності лікування дисліпідемії. Вперше було вивчено роль пробіотичних препаратів на основі ГСЖК-продукуючого штаму *Lactobacillus plantarum* в модифікації серцево-судинного ризику, оціненого за валідованими шкалами ризику, та досягненні терапевтичних цілей його модифікації. Вперше було виявлено зв'язок між загальною активністю бактеріальної ГСЖК та ризиком недосягнення кінцевих точок ефективності модифікації різних категорій серцево-судинного ризику, оціненого за валідованими шкалами.

Отже, пробіотичні капсули із *Lactobacillus plantarum* у кількості $2 \cdot 10^9$ КУО в одній капсулі є безпечними, добре переносимими та ефективними препаратами, які в комбінації із низькими дозами статинів призводять до кращої корекції дисліпідемії, модифікації прогнозу пацієнтів за рахунок корекції певних категорій серцево-судинного ризику та досягнення визначених цілей лікування порівняно з призначенням лише низьких доз статинів. Відповідно, вони можуть бути рекомендовані в якості додаткової або навіть альтернативної гіполіпідемічної та прогноз-модифікуючої терапії у пацієнтів з дисліпідемією.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі було теоретично обґрунтовано та запропоновано новий практичний підхід до вирішення актуальної проблеми внутрішньої медицини – удосконалення лікування дисліпідемії та корекції серцево-судинного ризику на основі визначення ферментативної активності кишкової бактеріальної ГСЖК та її модифікації ГСЖК-експресуючими пробіотичними препаратами на основі *Lactobacillus plantarum*.

1. Відносна загальна активність кишкової бактеріальної ГСЖК була вірогідно вищою у практично здорових учасників порівняно з пацієнтами з дисліпідемією ($0,01 \pm 0,05$ Од/мл проти $0,22 \pm 0,12$ Од/мл). Відносна активність кишкової бактеріальної ГСЖК негативно корелювала із ЗХ, ЛПНЩ (із наявністю лінійного зв'язку), КА та рівнями ССР, оціненого за 5 шкалами. Була виявлена негативна асоціація між ризиком дисліпідемії та відносною активністю кишкової бактеріальної ГСЖК.
2. Капсули з досліджуваними пробіотичними бактеріями *Lactobacillus plantarum* мали більше ніж в 30 разів більшу ферментативну активність ГСЖК порівняно зі штамом даних бактерій з попередньо елімінованими генами ГСЖК ($1,0006 \pm 0,037$ Од/мл проти $0,033 \pm 0,009$ Од/мл).
3. Комбінація симвастатину та капсул із *Lactobacillus plantarum* на 12 тижні прийому призводила до вірогідного збільшення активності кишкової бактеріальної ГСЖК ($0,2 \pm 0,07$ Од/мл) порівняно з вихідними рівнями ($0,1$ ($0,06-0,14$) Од/мл) та з монотерапією симвастатином ($0,1 \pm 0,06$ Од/мл).
4. Комбінація симвастатину та капсул із *Lactobacillus plantarum* була більш ефективною в зниженні ЗХ, ЛПНЩ, починаючи з 8 і надалі до 12 тижня прийому (в середньому на $24,4 \pm 12,5\%$ та $28,3\%$ ($23,4\%-38,5\%$) через 12 тижнів, відповідно) порівняно з монотерапією симвастатином (в середньому на $12,9 \pm 15\%$ та $18,4\%$ ($7,2\%-27,1\%$) через 12 тижнів, відповідно). Комбіноване лікування було більш ніж в 2 рази ефективнішим відносно досягнення кінцевих цілей терапії: $\geq 20\%$ зниження ЗХ та ЛПНЩ. Збільшення

відносної активності кишкової бактеріальної ГСЖК було асоційоване із вищими шансами досягти кінцевих цілей терапії.

5. Комбінація симвастатину та капсул із *Lactobacillus plantarum* була вірогідно більш ефективною в зниженні рівня ССР за шкалою PROCAM через 12 тижнів дослідження порівняно із монотерапією симвастатином (37 (31-41) балів проти 45,5 (38-50,5) балів). Динаміка зменшення рівнів ССР по всім 5 шкалам через 12 тижнів була вірогідно більш вираженою у пацієнтів на комбінованому лікуванні. Комбіноване лікування було більш ніж в 2 рази ефективнішим відносно досягнення кінцевих цілей терапії: $\geq 20\%$ зниження рівнів ССР за всіма шкалами, окрім Globorisk. Збільшення відносної активності кишкової бактеріальної ГСЖК було асоційоване із вищими шансами досягти кінцевих цілей терапії відносно модифікації ССР за Фремінгемською шкалою оцінки 10-річного ССР, ACC/АНА алгоритмом 2013 року та шкалою PROCAM.
6. Додаткове до середніх доз статинів (20 мг симвастатину 1 раз на добу) призначення пробіотичних капсул із *Lactobacillus plantarum* у кількості $2 \cdot 10^9$ КУО в одній капсулі (1 капсула раз на добу) впродовж не менше 12 тижнів призводить до кращої корекції дисліпідемії, модифікації 10-річного ризику гострих коронарних подій за шкалою PROCAM, пришвидшення темпів модифікації нефатального та фатального ССР за всіма шкалами, а також досягнення визначених цілей лікування.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Рекомендовано застосування пробіотичних препаратів на основі ГСЖК-продукуючого штаму *Lactobacillus plantarum* як додаткової гіполіпідемічної терапії з метою корекції дисліпідемії та модифікації серцево-судинного ризику.
2. Доцільно призначати капсули із вмістом *Lactobacillus plantarum* $2 \cdot 10^9$ КУО в одній капсулі (1 капсула 1 раз на добу) у комбінації із середніми дозами статинів (симвастатин 20 мг 1 раз на добу) протягом не менше 12 тижнів.
3. Для оцінки прогноз-модифікуючої ефективності комбінації пробіотика на основі *Lactobacillus plantarum* та симвастатину рекомендовано розраховувати серцево-судинний ризик за шкалою PROCAM, що оцінює 10-річний ризик гострих коронарних подій. Для додаткової оцінки серцево-судинного ризику можливе використання Фремінгемської шкали, ACC/AHA алгоритму 2013 року, алгоритму ВООЗ та шкали Globorisk.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Mensah GA, Roth GA, Fuster V. The Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors: 2020 and Beyond. *J Am Coll Cardiol*. 2019;74(20):2529-2532. doi:10.1016/j.jacc.2019.10.009.
2. The WHO CVD Risk Chart Working Group. World Health Organization cardiovascular disease risk charts: revised models to estimate risk in 21 global regions. *Lancet Glob Health* 2019; 7: e1332–45. Published Online September 2, 2019. doi: 10.1016/ S2214-109X(19)30318-3.
3. GBD 2017 Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex-specific mortality for 282 causes of death in 195 countries and territories, 1980-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*. 2018 Nov 10;392(10159):1736-1788. doi: 10.1016/S0140-6736(18)32203-7.
4. Wilkins E, Wilson L, Wickramasinghe K, et al. *European Cardiovascular Disease Statistics 2017*. Brussel: European Heart Network AISBL; 2017. 188p.
5. Townsend N, Wilson L, Bhatnagar T, et al. Cardiovascular disease in Europe: epidemiological update 2016. *European Heart Journal*. 2016 Nov 7;37(42):3232-3245. doi: [10.1093/eurheartj/ehw334](https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehw334).
6. Herrington W, Lacey B, Sherliker P, et al. Epidemiology of Atherosclerosis and the Potential to Reduce the Global Burden of Atherothrombotic Disease. *Circ Res*. 2016;118(4):535-546. doi:10.1161/CIRCRESAHA.115.307611.
7. Pencina MJ, Navar AM, Wojdyla D, et al. Quantifying Importance of Major Risk Factors for Coronary Heart Disease. *Circulation*. 2019;139(13):1603-1611. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.117.031855.
8. Ference BA, Ginsberg HN, Graham I, et al. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease. 1. Evidence from genetic, epidemiologic, and clinical studies. A consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. *Eur Heart J*. 2017;38(32):2459-2472. doi:10.1093/eurheartj/ehx144.

9. Mach F, Baigent C, Catapano AL, et al. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur Heart J*. 2020;41(1):111-188. doi:10.1093/eurheartj/ehz455.
10. Cholesterol Treatment Trialists' Collaboration. Efficacy and safety of statin therapy in older people: a meta-analysis of individual participant data from 28 randomised controlled trials. *Lancet*. 2019;393(10170):407-415. doi:10.1016/S0140-6736(18)31942-1.
11. Silverman MG, Ference BA, Im K, et al. Association Between Lowering LDL-C and Cardiovascular Risk Reduction Among Different Therapeutic Interventions: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA*. 2016; 316(12):1289-1297. doi:10.1001/jama.2016.13985.
12. Hajifathalian K, Ueda P, Lu Y, et al. A novel risk score to predict cardiovascular disease risk in national populations (GloboRisk): a pooled analysis of prospective cohorts and health examination surveys. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2015;3(5):339-355. doi:10.1016/S2213-8587(15)00081-9.
13. D'Agostino RB Sr, Vasan RS, Pencina MJ, et al. General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2008;117(6):743-753. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.107.699579.
14. Goff DC Jr, Lloyd-Jones DM, Bennett G, et al. 2013 ACC/AHA guideline on the assessment of cardiovascular risk: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines [published correction appears in *Circulation*. 2014 Jun 24;129(25 Suppl 2):S74-5]. *Circulation*. 2014;129(25 Suppl 2):S49-S73. doi:10.1161/01.cir.0000437741.48606.98.
15. Assmann G, Cullen P, Schulte H. Simple scoring scheme for calculating the risk of acute coronary events based on the 10-year follow-up of the prospective cardiovascular Münster (PROCAM) study [published correction appears in *Circulation* 2002 Feb 19;105(7):900]. *Circulation*. 2002;105(3):310-315. doi:10.1161/hc0302.102575.

16. Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) та третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги. Профілактика серцево-судинних захворювань. Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 13.06.2016 No 564.
17. Grundy SM, Stone NJ, Bailey AL, et al. 2018 AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APhA/ASPC/NLA/PCNA Guideline on the Management of Blood Cholesterol: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines [published correction appears in J Am Coll Cardiol. 2019 Jun 25;73(24):3237-3241]. J Am Coll Cardiol. 2019;73(24):e285-e350. doi:10.1016/j.jacc.2018.11.003.
18. Martin G, Kolida S, Marchesi JR, Want E, Sidaway JE, Swann JR. In Vitro Modeling of Bile Acid Processing by the Human Fecal Microbiota. Front Microbiol. 2018;9:1153. Published 2018 Jun 5. doi:10.3389/fmicb.2018.01153.
19. Lye HS, Rusul G, Liong MT. Removal of cholesterol by lactobacilli via incorporation and conversion to coprostanol. J Dairy Sci. 2010;93:1383–1392. doi: 10.3168/jds.2009-2574.
20. Lew LC, Choi SB, Khoo BY, Sreenivasan S, Ong KL, Liong MT. Lactobacillus plantarum DR7 Reduces Cholesterol via Phosphorylation of AMPK That Down-regulated the mRNA Expression of HMG-CoA Reductase. Korean J Food Sci Anim Resour. 2018;38(2):350-361. doi:10.5851/kosfa.2018.38.2.350.
21. Kim SJ, Park SH, Sin HS, et al. Hypocholesterolemic Effects of Probiotic Mixture on Diet-Induced Hypercholesterolemic Rats. Nutrients. 2017;9(3): e293. doi: 10.3390/nu9030293.
22. Su D, Liang L, Li Z, et al. Genome analysis of two Lactobacillus plantarum strains, LLY-606 and pc-26, for evaluating their potential as probiotics [published online ahead of print, 2020 Jan 23]. J Microbiol Biotechnol. 2020;10.4014/jmb.1907.07010. doi:10.4014/jmb.1907.07010.

23. Qu T, Yang L, Wang Y, et al. Reduction of serum cholesterol and its mechanism by *Lactobacillus plantarum* H6 screened from local fermented food products. *Food Funct.* 2020 Feb 26;11(2):1397-1409. doi: 10.1039/c9fo02478f.
24. Yao C, Tian W, Song J, et al. Antihyperlipidaemic effect of microencapsulated *Lactobacillus plantarum* LIP-1 on hyperlipidaemic rats. *J Sci Food Agric.* 2020 Mar 30;100(5):2007-2017. doi: 10.1002/jsfa.10218.
25. Sharma S, Kurpad AV, Puri S. Potential of probiotics in hypercholesterolemia: A meta-analysis. *Indian J. Public Health.* 2016;60(4):280-286. doi:10.4103/0019— 557X.195859.
26. Wang L, Guo MJ, Gao Q, et al. The effects of probiotics on total cholesterol: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Medicine (Baltimore).* 2018;97(5):e9679. doi: 10.1097/ MD.00000000000009679.
27. Urdaneta V, Casadesús J. Interactions between Bacteria and Bile Salts in the Gastrointestinal and Hepatobiliary Tracts. *Front Med (Lausanne).* 2017 Oct 3;4:163. doi: 10.3389/fmed.2017.00163.
28. Wang G, Huang W, Xia Y, et al. Cholesterol-lowering potentials of *Lactobacillus* strain overexpression of bile salt hydrolase on high cholesterol diet-induced hypercholesterolemic mice. *Food Funct.* 2019 Mar 20;10(3):1684-1695. doi: 10.1039/c8fo02181c.
29. Huang CH, Ho CY, Chen CT, et al. Probiotic BSH Activity and Anti-Obesity Potential of *Lactobacillus plantarum* Strain TCI378 Isolated from Korean Kimchi. *Prev Nutr Food Sci.* 2019 Dec;24(4):434-441. doi: 10.3746/pnf.2019.24.4.434.
30. Geng W, Lin J. Bacterial bile salt hydrolase: an intestinal microbiome target for enhanced animal health. *Anim Health Res Rev.* 2016 Dec;17(2):148-158. doi: 10.1017/S1466252316000153.
31. Tsai C-C, Lin P-P, Hsieh Y-M, et al. Cholesterol-Lowering Potentials of Lactic Acid Bacteria Based on Bile-Salt Hydrolase Activity and Effect of Potent Strains on Cholesterol Metabolism In Vitro and In Vivo. *The Scientific World Journal.* 2014;2014(Article ID 690752):10 p. doi: 10.1155/2014/690752.

32. Sivamaruthi BS, Fern LA, Rashidah Pg Hj Ismail DSN, Chaiyasut C. The influence of probiotics on bile acids in diseases and aging. *Biomed Pharmacother.* 2020;128:110310. doi:10.1016/j.biopha.2020.110310.
33. He X, Zheng N, He J, et al. Gut Microbiota Modulation Attenuated the Hypolipidemic Effect of Simvastatin in High-Fat/Cholesterol-Diet Fed Mice. *J Proteome Res.* 2017;16(5):1900-1910. doi:10.1021/acs.jproteome.6b00984.
34. Wang L, Wang Y, Wang H, et al. The influence of the intestinal microflora to the efficacy of Rosuvastatin. *Lipids Health Dis.* 2018;17:151. doi:10.1186/s12944-018-0801-x
35. Luo J, Yang H, Song B. Mechanisms and regulation of cholesterol homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2020; 21: 225–245. doi:10.1038/s41580-019-0190-7.
36. Gliozzi M, Musolino V, Bosco F, et al. Cholesterol homeostasis: Researching a dialogue between the brain and peripheral tissues. *Pharmacol Res.* 2021;163:105215. doi:10.1016/j.phrs.2020.105215.
37. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 5997, Cholesterol. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Cholesterol>. Accessed Feb. 5, 2021.
38. Charach G, Argov O, Geiger K, et al. Diminished bile acids excretion is a risk factor for coronary artery disease: 20-year follow up and long-term outcome. *Therap Adv Gastroenterol.* 2017;11:1756283X17743420. Published 2017 Dec 4. doi:10.1177/1756283X17743420.
39. Soliman GA. Dietary Cholesterol and the Lack of Evidence in Cardiovascular Disease. *Nutrients.* 2018;10(6):780. Published 2018 Jun 16. doi:10.3390/nu10060780
40. Šarenac TM, Mikov M. Bile Acid Synthesis: From Nature to the Chemical Modification and Synthesis and Their Applications as Drugs and Nutrients. *Front Pharmacol.* 2018;9:939. Published 2018 Sep 25. doi:10.3389/fphar.2018.00939.

41. Chiang JYL, Ferrell JM. Bile Acid Metabolism in Liver Pathobiology. *Gene Expr.* 2018;18(2):71-87. doi:10.3727/105221618X15156018385515.
42. Winston JA, Theriot CM. Diversification of host bile acids by members of the gut microbiota. *Gut Microbes.* 2020;11(2):158-171. doi:10.1080/19490976.2019.1674124.
43. Molinero N, Ruiz L, Sánchez B, Margolles A, Delgado S. Intestinal Bacteria Interplay With Bile and Cholesterol Metabolism: Implications on Host Physiology. *Front Physiol.* 2019;10:185. Published 2019 Mar 14. doi:10.3389/fphys.2019.00185.
44. Chiang JYL, Ferrell JM. Bile Acids as Metabolic Regulators and Nutrient Sensors. *Annu Rev Nutr.* 2019;39:175-200. doi:10.1146/annurev-nutr-082018-124344.
45. Evans M, Gardell S. Farnesoid X receptor as a therapeutic target for dyslipidemia. *Clinical Lipidology.* 2009; 4(5):587-594. doi:10.2217/clp.09.51.
46. Chambers KF, Day PE, Aboufarrag HT, et al. Polyphenol Effects on Cholesterol Metabolism via Bile Acid Biosynthesis, CYP7A1: A Review. *Nutrients.* 2019;11(11):2588. Published 2019 Oct 28. doi:10.3390/nu11112588.
47. Gonzalez FJ, Jiang C, Xie C, et al. Intestinal Farnesoid X Receptor Signaling Modulates Metabolic Disease. *Dig Dis.* 2017;35(3):178-184. doi:10.1159/000450908.
48. Ticho AL, Malhotra P, Dudeja PK, et al. Intestinal Absorption of Bile Acids in Health and Disease. *Compr Physiol.* 2019;10(1):21-56. Published 2019 Dec 18. doi:10.1002/cphy.c190007.
49. Zou B, Yang W, Tang Y, et al. Intestinal microbiota-farnesoid X receptor axis in metabolic diseases. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry.* 2020 Oct;509:167-171. doi: 10.1016/j.cca.2020.06.006.
50. Lye HS, Rahmat-Ali GR, Liong MT. Mechanisms of cholesterol removal by lactobacilli under conditions that mimic the human gastrointestinal tract. *International Dairy Journal.* 2010 Mar;20(3):169-175. doi:0.1016/j.idairyj.2009.10.003.

51. Song Z, Cai Y, Lao X, et al. Taxonomic profiling and populational patterns of bacterial bile salt hydrolase (BSH) genes based on worldwide human gut microbiome. *Microbiome*. 2019;7:9. doi:10.1186/s40168-019-0628-3.
52. Urdaneta V, Casadesús J. Interactions between Bacteria and Bile Salts in the Gastrointestinal and Hepatobiliary Tracts. *Front Med (Lausanne)*. 2017 Oct 3;4:163. doi: 10.3389/fmed.2017.00163.
53. Yao L, Seaton SC, Ndousse-Fetter S, et al. A selective gut bacterial bile salt hydrolase alters host metabolism. *Elife*. 2018;7:e37182. Published 2018 Jul 17. doi:10.7554/eLife.37182.
54. Tian Y, Gui W, Koo I, et al. The microbiome modulating activity of bile acids. *Gut Microbes*. 2020;11(4):979-996. doi: 10.1080/19490976.2020.1732268.
55. Liu W, Zhang J, Wu C, et al. Unique Features of Ethnic Mongolian Gut Microbiome revealed by metagenomic analysis. *Sci Rep*. 2016;6:34826. doi:10.1038/srep34826.
56. Kaur K, Khatri I, Akhtar A, et al. Metagenomics analysis reveals features unique to Indian distal gut microbiota. *PLoS One*. 2020 Apr 8;15(4):e0231197. doi: 10.1371/journal.pone.0231197.
57. Brooks AW, Priya S, Blekhman R, et al. Gut microbiota diversity across ethnicities in the United States. *PLoS Biol*. 2018;16(12):e2006842. doi:10.1371/journal.pbio.2006842.
58. Jones BV, Begley M, Hill C, et al. Functional and comparative metagenomic analysis of bile salt hydrolase activity in the human gut microbiome. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Sep 9;105(36):13580-5. doi: 10.1073/pnas.0804437105.
59. Jia B, Park D, Hahn Y, et al. Metagenomic analysis of the human microbiome reveals the association between the abundance of gut bile salt hydrolases and host health. *Gut Microbes*. 2020 Sep 2;11(5):1300-1313. doi: 10.1080/19490976.2020.1748261.

60. Dong Z, Lee BH. Bile salt hydrolases: structure and function, substrate preference, and inhibitor development. *Protein Sci.* 2018;27(10):1742–1754. doi:10.1002/pro.3484.
61. Labbé A, Ganopolsky JG, Martoni CJ, et al. Bacterial bile metabolising gene abundance in Crohn's, ulcerative colitis and type 2 diabetes metagenomes. *PLoS One.* 2014 Dec 17;9(12):e115175. doi: 10.1371/journal.pone.0115175.
62. Joyce SA, MacSharry J, Casey PG, et al. Regulation of host weight gain and lipid metabolism by bacterial bile acid modification in the gut. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;111(20):7421-7426. doi:10.1073/pnas.1323599111.
63. Bi J, Fang F, Lu S, et al. New insight into the catalytic properties of bile salt hydrolase. *J Mol Catal B-Enzym.* 2013;96:46–51. doi: 10.1016/j.molcatb.2013.06.010.
64. Sridevi N, Vishwe P, Prabhune A. Hypocholesteremic effect of bile salt hydrolase from *Lactobacillus buchneri* ATCC 4005. *Food Res. Int.* 2009;42:516-520. doi: 10.1016/j.foodres.2009.02.016.
65. Reis SA, Conceição LL, Rosa DD, et al. Mechanisms responsible for the hypocholesterolaemic effect of regular consumption of probiotics. *Nutr Res Rev.* 2017;30(1):36-49. doi:10.1017/S0954422416000226.
66. He M, Shi B. Gut microbiota as a potential target of metabolic syndrome: the role of probiotics and prebiotics. *Cell Biosci.* 2017;7:54. doi: 10.1186/s13578-017-0183-1.
67. Matey-Hernandez ML, Williams FMK, Potter T, et al. Genetic and microbiome influence on lipid metabolism and dyslipidemia. *Physiol Genomics.* 2018;50(2):117-126. doi:10.1152/physiolgenomics.00053.2017.
68. Morgan AE, Mooney KM, Wilkinson SJ, et al. Investigating cholesterol metabolism and ageing using a systems biology approach. *Proc Nutr Soc.* 2017;76(3):378-391. doi:10.1017/S0029665116002822.
69. He Y-J, You C-G. The Potential Role of Gut Microbiota in the Prevention and Treatment of Lipid Metabolism Disorders. *International Journal of*

- Endocrinology. 2020;2020(Article ID 8601796):9 p. doi: 10.1155/2020/8601796.
70. Ramasamy K, Abdullah N, Wong MC, et al. Bile salt deconjugation and cholesterol removal from media by *Lactobacillus* strains used as probiotics in chickens. *J Sci Food Agric*. 2010;90(1):65-69. doi:10.1002/jsfa.3780.
71. Al-Saleh AA, Metwalli A, Abu-Tarboush HM, et al. Bile Salts and Acid Tolerance and Cholesterol Removal from Media by some Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria. *Journal of Saudi Society for Food and Nutrition*. 2006;1(1):1-17.
72. Lim FT, Lim SM, Ramasamy K. *Pediococcus acidilactici* LAB4 and *Lactobacillus plantarum* LAB12 assimilate cholesterol and modulate ABCA1, CD36, NPC1L1 and SCARB1 in vitro. *Benef Microbes*. 2017;8(1):97-109. doi:10.3920/BM2016.0048.
73. Sharma S, Puri S, Kurpad AV. Potential of Probiotics in Hypercholesterolemia: A Review of In Vitro and In Vivo Findings. *Altern Ther Health Med*. 2018;24(2):36-43.
74. Syakila RN, Lim SM, Agatonovic-Kustrin S, et al. In vitro assessment of pediococci- and lactobacilli-induced cholesterol-lowering effect using digitally enhanced high-performance thin-layer chromatography and confocal microscopy. *Anal Bioanal Chem*. 2019;411(6):1181-1192. doi:10.1007/s00216-018-1544-2.
75. Michael DR, Moss JW, Calvente DL, et al. *Lactobacillus plantarum* CUL66 can impact cholesterol homeostasis in Caco-2 enterocytes. *Benef Microbes*. 2016;7(3):443-451. doi:10.3920/BM2015.0146.
76. Liu Y, Zhao F, Liu J, et al. Selection of cholesterol-lowering lactic acid bacteria and its effects on rats fed with high- cholesterol diet. *Current Microbiology*. 2017;74(5):623-631. doi: 10.1007/s00284-017-1230-1.
77. Ichim TE, Patel AN, Shafer KA. Experimental support for the effects of a probiotic/digestive enzyme supplement on serum cholesterol concentrations and

- the intestinal microbiome. *J Transl Med.* 2016;14(1):184. Published 2016 Jun 22. doi:10.1186/s12967-016-0945-2.
78. Park S, Kang J, Choi S, et al. Cholesterol-lowering effect of *Lactobacillus rhamnosus* BFE5264 and its influence on the gut microbiome and propionate level in a murine model [published correction appears in *PLoS One.* 2018 Nov 26;13(11):e0208294]. *PLoS One.* 2018;13(8):e0203150. Published 2018 Aug 28. doi:10.1371/journal.pone.0203150.
79. Lye HS, Kato T, Low WY, et al. *Lactobacillus fermentum* FTDC 8312 combats hypercholesterolemia via alteration of gut microbiota. *J Biotechnol.* 2017;262:75-83. doi:10.1016/j.jbiotec.2017.09.007.
80. Shin JH, Nam MH, Lee H, et al. Amelioration of obesity-related characteristics by a probiotic formulation in a high-fat diet-induced obese rat model. *Eur J Nutr.* 2018;57(6):2081-2090. doi:10.1007/s00394-017-1481-4.
81. Salazar N, Neyrinck AM, Bindels LB, et al. Functional Effects of EPS-Producing *Bifidobacterium* Administration on Energy Metabolic Alterations of Diet-Induced Obese Mice. *Front Microbiol.* 2019;10:1809. Published 2019 Aug 7. doi:10.3389/fmicb.2019.01809.
82. In Kim H, Kim JK, Kim JY, et al. *Lactobacillus plantarum* LC27 and *Bifidobacterium longum* LC67 simultaneously alleviate high-fat diet-induced colitis, endotoxemia, liver steatosis, and obesity in mice. *Nutr Res.* 2019;67:78-89. doi:10.1016/j.nutres.2019.03.008.
83. Chen D, Yang Z, Chen X, et al. Effect of *Lactobacillus rhamnosus* hsryfm 1301 on the Gut Microbiota and Lipid Metabolism in Rats Fed a High-Fat Diet. *J Microbiol Biotechnol.* 2015;25(5):687-695. doi:10.4014/jmb.1409.09085.
84. Yamasaki M, Minesaki M, Iwakiri A, et al. *Lactobacillus plantarum* 06CC2 reduces hepatic cholesterol levels and modulates bile acid deconjugation in Balb/c mice fed a high-cholesterol diet. *Food Sci Nutr.* 2020;8(11):6164-6173. Published 2020 Oct 26. doi:10.1002/fsn3.1909.

85. Palaniyandi SA, Damodharan K, Suh JW, Yang SH. Probiotic Characterization of Cholesterol-Lowering *Lactobacillus fermentum* MJM60397. *Probiotics Antimicrob Proteins*. 2020;12(3):1161-1172. doi:10.1007/s12602-019-09585-y.
86. Chiang JYL, Ferrell JM. Up to date on cholesterol 7 alpha-hydroxylase (CYP7A1) in bile acid synthesis. *Liver Research*. 2020;4:47-63. <https://doi.org/10.1016/j.livres.2020.05.001>.
87. Kasahara K, Tanoue T, Yamashita T, et al. Commensal bacteria at the crossroad between cholesterol homeostasis and chronic inflammation in atherosclerosis. *J Lipid Res*. 2017;58(3):519-528. doi:10.1194/jlr.M072165.
88. Park YH, Kim JG, Shin YW, Kim SH, Whang KY. Effect of dietary inclusion of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121 on cholesterol metabolism in rats. *J Microbiol Biotechnol*. 2007;17(4):655-662.
89. Jiang J, Feng N, Zhang C, et al. *Lactobacillus reuteri* A9 and *Lactobacillus mucosae* A13 isolated from Chinese superlongevity people modulate lipid metabolism in a hypercholesterolemia rat model. *FEMS Microbiol Lett*. 2019;366(24):fnz254. doi:10.1093/femsle/fnz254.
90. Song M, Park S, Lee H, et al. Effect of *Lactobacillus acidophilus* NS1 on plasma cholesterol levels in diet-induced obese mice. *J Dairy Sci*. 2015;98(3):1492-1501. doi:10.3168/jds.2014-8586.
91. Falcinelli S, Picchiatti S, Rodiles A, et al. *Lactobacillus rhamnosus* lowers zebrafish lipid content by changing gut microbiota and host transcription of genes involved in lipid metabolism. *Sci Rep*. 2015;5:9336. doi:10.1038/srep09336.
92. Huang YC, Wu BH, Chu YL, et al. Effects of Tempeh Fermentation with *Lactobacillus plantarum* and *Rhizopus oligosporus* on Streptozotocin-Induced Type II Diabetes Mellitus in Rats. *Nutrients*. 2018;10(9):1143. Published 2018 Aug 22. doi:10.3390/nu10091143.
93. Nagpal R, Wang S, Ahmadi S, et al. Human-origin probiotic cocktail increases short-chain fatty acid production via modulation of mice and human gut microbiome. *Sci Rep*. 2018;8:12649. doi:10.1038/s41598-018-30114-4.

94. Song B, Zhong YZ, Zheng CB, et al. Propionate alleviates high-fat diet-induced lipid dysmetabolism by modulating gut microbiota in mice. *J Appl Microbiol.* 2019;127(5):1546-1555. doi:10.1111/jam.14389.
95. Liang X, Zhang Z, Zhou X, et al. Probiotics improved hyperlipidemia in mice induced by a high cholesterol diet via downregulating FXR. *Food Funct.* 2020;11(11):9903-9911. doi:10.1039/d0fo02255a.
96. Sun Y, Tang Y, Hou X, et al. Novel *Lactobacillus reuteri* HI120 Affects Lipid Metabolism in C57BL/6 Obese Mice. *Front Vet Sci.* 2020;7:560241. Published 2020 Oct 14. doi:10.3389/fvets.2020.560241.
97. Thushara RM, Gangadaran S, Solati Z, et al. Cardiovascular benefits of probiotics: a review of experimental and clinical studies. *Food Funct.* 2016;7(2):632-642. doi:10.1039/c5fo01190f.
98. Ma J, Li H. The Role of Gut Microbiota in Atherosclerosis and Hypertension. *Front Pharmacol.* 2018;9:1082. Published 2018 Sep 25. doi:10.3389/fphar.2018.01082.
99. Lam V, Su J, Koprowski S, et al. Intestinal microbiota determine severity of myocardial infarction in rats. *FASEB J.* 2012;26(4):1727-1735. doi:10.1096/fj.11-197921.
100. Lam V, Su J, Hsu A, et al. Intestinal Microbial Metabolites Are Linked to Severity of Myocardial Infarction in Rats. *PLoS One.* 2016;11(8):e0160840. Published 2016 Aug 9. doi:10.1371/journal.pone.0160840.
101. Tang WH, Kitai T, Hazen SL. Gut Microbiota in Cardiovascular Health and Disease. *Circ Res.* 2017;120(7):1183-1196. doi:10.1161/CIRCRESAHA.117.309715
102. Suresh A, Ponce de Leon M (March 14th 2018). Probiotics and Its Relationship with the Cardiovascular System. In: Enany S. Probiotics - Current Knowledge and Future Prospects. London: IntechOpen; 2018. [cited 2021 Feb 15]. Available from: <https://www.intechopen.com/books/probiotics-current-knowledge-and-future-prospects/probiotics-and-its-relationship-with-the-cardiovascular-system>. doi: 10.5772/intechopen.75077.

103. Gan XT, Ettinger G, Huang CX, et al. Probiotic administration attenuates myocardial hypertrophy and heart failure after myocardial infarction in the rat. *Circ Heart Fail.* 2014;7(3):491-499. doi:10.1161/CIRCHEARTFAILURE.113.000978.
104. Forkosh E, Ilan Y. The heart-gut axis: new target for atherosclerosis and congestive heart failure therapy. *Open Heart.* 2019;6:e000993. doi:10.1136/openhrt-2018-000993.
105. Ettinger G, MacDonald K, Reid G, et al. The influence of the human microbiome and probiotics on cardiovascular health. *Gut Microbes.* 2014;5(6):719-728. doi: 10.4161/19490976.2014.983775.
106. Gómez-Guzmán M, Toral M, Romero M, et al. Antihypertensive effects of probiotics *Lactobacillus* strains in spontaneously hypertensive rats. *Mol Nutr Food Res.* 2015;59(11):2326-2336. doi:10.1002/mnfr.201500290.
107. Dias AM, Cordeiro G, Estevinho MM, et al. Gut bacterial microbiome composition and statin intake. A systematic review. *Pharmacol Res Perspect.* 2020;8(3):e00601. doi:10.1002/prp2.601.
108. Wang K, Yu X, Li Y, et al. *Bifidobacterium bifidum* TMC3115 Can Characteristically Influence Glucose and Lipid Profile and Intestinal Microbiota in the Middle-Aged and Elderly. *Probiotics Antimicrob Proteins.* 2019;11(4):1182-1194. doi:10.1007/s12602-018-9441-8.
109. Costabile A, Buttarazzi I, Kolida S, et al. An in vivo assessment of the cholesterol-lowering efficacy of *Lactobacillus plantarum* ECGC 13110402 in normal to mildly hypercholesterolaemic adults. *PLoS One.* 2017;12(12):e0187964. doi:10.1371/journal.pone.0187964.
110. Gadelha CJMU, Bezerra AN. Effects of probiotics on the lipid profile: systematic review. *J Vasc Bras.* 2019;18:e20180124. doi:10.1590/1677-5449.180124.
111. Sivamaruthi BS, Kesika P, Chaiyasut C. A Mini-Review of Human Studies on Cholesterol-Lowering Properties of Probiotics. *Scientia Pharmaceutica.* 2019; 87(4):26. <https://doi.org/10.3390/scipharm87040026>.

112. Mo R, Zhang X, Yang Y. Effect of probiotics on lipid profiles in hypercholesterolaemic adults: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Med Clin (Barc)*. 2019;152(12):473-481. doi:10.1016/j.medcli.2018.09.007.
113. Jiang J, Wu C, Zhang C. Effects of probiotic supplementation on cardiovascular risk factors in hypercholesterolemia: A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trial. *Journal of Functional Foods*. 2020;74: 104177. doi: 10.1016/j.jff.2020.104177.
114. Gao Y, Liu Y, Sun M, et al. Physiological function analysis of *Lactobacillus plantarum* Y44 based on genotypic and phenotypic characteristics. *J Dairy Sci*. 2020;103(7):5916-5930. doi:10.3168/jds.2019-18047.
115. Kim E, Chang HC, Kim HY. Complete Genome Sequence of *Lactobacillus plantarum* EM, A Putative Probiotic Strain with the Cholesterol-Lowering Effect and Antimicrobial Activity. *Curr Microbiol*. 2020;77(8):1871-1882. doi:10.1007/s00284-020-02000-8.
116. Khare A, Gaur S. Cholesterol-Lowering Effects of *Lactobacillus* Species. *Curr Microbiol*. 2020;77:638–644. doi:10.1007/s00284-020-01903-w.
117. Fuentes MC, Lajo T, Carrión JM, et al. Cholesterol-lowering efficacy of *Lactobacillus plantarum* CECT 7527, 7528 and 7529 in hypercholesterolaemic adults. *Br J Nutr*. 2013;109(10):1866-1872. doi:10.1017/S000711451200373X.
118. Wu Y, Zhang Q, Ren Y, et al. Effect of probiotic *Lactobacillus* on lipid profile: A systematic review and meta-analysis of randomized, controlled trials. *PLoS One*. 2017;12(6):e0178868. Published 2017 Jun 8. doi:10.1371/journal.pone.0178868.
119. Jones ML, Martoni CJ, Prakash S. Cholesterol lowering and inhibition of sterol absorption by *Lactobacillus reuteri* NCIMB 30242: a randomized controlled trial. *Eur J Clin Nutr*. 2012;66(11):1234-1241. doi:10.1038/ejcn.2012.126.
120. Jones ML, Martoni CJ, Parent M, et al. Cholesterol-lowering efficacy of a microencapsulated bile salt hydrolase-active *Lactobacillus reuteri* NCIMB

- 30242 yoghurt formulation in hypercholesterolaemic adults. *Br J Nutr.* 2012;107(10):1505-1513. doi:10.1017/S0007114511004703.
121. Xu H, Wang X, Feng W, et al. The gut microbiota and its interactions with cardiovascular disease. *Microb Biotechnol.* 2020;13(3):637-656. doi:10.1111/1751-7915.13524.
122. Sanchez-Rodriguez E, Egea-Zorrilla A, Plaza-Díaz J, et al. The Gut Microbiota and Its Implication in the Development of Atherosclerosis and Related Cardiovascular Diseases. *Nutrients.* 2020;12(3):605. Published 2020 Feb 26. doi:10.3390/nu12030605.
123. Trøseid M, Andersen GØ, Broch K, et al. The gut microbiome in coronary artery disease and heart failure: Current knowledge and future directions. *EBioMedicine.* 2020;52:102649. doi:10.1016/j.ebiom.2020.102649.
124. Dixon A, Robertson K, Yung A, et al. Efficacy of Probiotics in Patients of Cardiovascular Disease Risk: a Systematic Review and Meta-analysis. *Curr Hypertens Rep.* 2020;22(9):74. Published 2020 Aug 29. doi:10.1007/s11906-020-01080-y.
125. Costanza AC, Moscovitch SD, Faria Neto HC, et al. Probiotic therapy with *Saccharomyces boulardii* for heart failure patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot trial. *Int J Cardiol.* 2015;179:348-350. doi:10.1016/j.ijcard.2014.11.034.
126. Sun B, Li L, Zhou X. Comparative analysis of the gut microbiota in distinct statin response patients in East China. *J Microbiol.* 2018;56(12):886-892. doi:10.1007/s12275-018-8152-x.
127. Williams B, Mancia G, Spiering W, et al. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology and the European Society of Hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology and the European Society of Hypertension [published correction appears in *J Hypertens.* 2019

- Jan;37(1):226]. J Hypertens. 2018;36(10):1953-2041. doi:10.1097/HJH.0000000000001940.
128. Knuuti J, Wijns W, Saraste A, et al. 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes. *Eur Heart J*. 2020;41(3):407-477. doi:10.1093/eurheartj/ehz425.
129. Buse JB, Wexler DJ, Tsapas A, et al. 2019 update to: Management of hyperglycaemia in type 2 diabetes, 2018. A consensus report by the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD) [published correction appears in *Diabetologia*. 2020 Aug;63(8):1667]. *Diabetologia*. 2020;63(2):221-228. doi:10.1007/s00125-019-05039-w.
130. Purnell JQ. Definitions, Classification, and Epidemiology of Obesity. [Updated 2018 Apr 12]. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, et al., editors. *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279167/>.
131. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate [published correction appears in *Ann Intern Med*. 2011 Sep 20;155(6):408]. *Ann Intern Med*. 2009;150(9):604-612. doi:10.7326/0003-4819-150-9-200905050-00006.
132. Akici N, Onal ZE, Gürbüz T, Sağ C, Kiliç S. Atherogenic indices in the assessment of cardiovascular disease risk in children with obesity and subclinical hypothyroidism. *Acta Endocrinol (Buchar)*. 2020;16(3):334-338. doi:10.4183/aeb.2020.334.
133. Huijghebaert SM, Hofmann AF. Influence of the amino acid moiety on deconjugation of bile acid amidates by cholyglycine hydrolase or human fecal cultures. *J Lipid Res*. 1986;27(7):742-752.
134. Neverovskyi A, Chernyavskyi V, Shypulin V, et al. Gut bacterial bile salt hydrolase activity correlates with cardiovascular risk: a case-control study. *Gastroenterologia*. 2020;54(4):228-223. doi: 10.22141/2308-2097.54.4.2020.216711.

135. Шипулін ВП, Чернявський ВВ, Неверовський АВ, та інші. Гіполіпідемічна ефективність пробіотика *Lactobacillus plantarum* у пацієнтів з ішемічною хворобою серця. Український терапевтичний журнал. 2018;3(4):27-33.
136. Neverovskyi A, Chernyavskyi V, Shypulin V, et al. Modification of gut bacterial bile salt hydrolase activity and cardiovascular risk: a randomized study. *Ukrainian Scientific Medical Youth Journal*. 2020;3(117):36-45. doi: 10.32345/USMYJ.3(117).2020.36-45.
137. Neverovskyi A, Chernyavskyi V, Shypulin V, et al. Probiotic *Lactobacillus plantarum* may reduce cardiovascular risk: An experimental study. *ARYA Atheroscler* 2021; 17: 2156. doi: 10.22122/arya.v17i0.2156.
138. Roth GA, Mensah GA, Johnson CO, et al. Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors, 1990-2019: Update From the GBD 2019 Study. *J Am Coll Cardiol*. 2020;76(25):2982-3021. doi:10.1016/j.jacc.2020.11.010.
139. Virani SS, Alonso A, Benjamin EJ, et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2020 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*. 2020;141(9):e139-e596. doi:10.1161/CIR.0000000000000757.
140. Korman MJ, Retterstøl K, Kristiansen IS, et al. Are PCSK9 Inhibitors Cost Effective?. *Pharmacoeconomics*. 2018;36(9):1031-1041. doi:10.1007/s40273-018-0671-0.
141. Hlatky MA. A Pound of Prevention? Assessing the Value of New Cholesterol-Lowering Drugs. *Ann Intern Med*. 2019;170(4):264-265. doi:10.7326/M18-3632.
142. Graham I, Shear C, De Graeff P, et al. New strategies for the development of lipid-lowering therapies to reduce cardiovascular risk. *Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother*. 2018;4(2):119-127. doi:10.1093/ehjcvp/pvx031.
143. Guo CF, Li JY. Hypocholesterolaemic action of *Lactobacillus casei* F0822 in rats fed a cholesterol-enriched diet. *International Dairy Journal*. 2013;32(2):144-149. doi: 10.1016/j.idairyj.2013.04.001.

144. Li H, Xu G, Shang Q, et al. Inhibition of ileal bile acid transport lowers plasma cholesterol levels by inactivating hepatic farnesoid X receptor and stimulating cholesterol 7 alpha-hydroxylase. *Metabolism*. 2004;53(7):927-932. doi:10.1016/j.metabol.2004.01.017.
145. Charach G, Grosskopf I, Rabinovich A, et al. The association of bile acid excretion and atherosclerotic coronary artery disease. *Therap Adv Gastroenterol*. 2011;4(2):95-101. doi:10.1177/1756283X10388682.
146. Park YE, Kim MS, Shim KW, et al. Effects of *Lactobacillus plantarum* Q180 on Postprandial Lipid Levels and Intestinal Environment: A Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled, Parallel Trial. *Nutrients*. 2020;12(1):255. Published 2020 Jan 19. doi:10.3390/nu12010255.
147. Kumar R, Grover S, Batish VK. Bile Salt Hydrolase (Bsh) Activity Screening of Lactobacilli: In Vitro Selection of Indigenous *Lactobacillus* Strains with Potential Bile Salt Hydrolysing and Cholesterol-Lowering Ability. *Probiotics Antimicrob Proteins*. 2012 Sep;4(3):162-72. doi: 10.1007/s12602-012-9101-3.
148. Prete R, Long SL, Gallardo AL, et al. Beneficial bile acid metabolism from *Lactobacillus plantarum* of food origin. *Sci Rep*. 2020;10(1):1165. Published 2020 Jan 24. doi:10.1038/s41598-020-58069-5.
149. Wang G, Chen X, Wang L, et al. Diverse conditions contribute to the cholesterol-lowering ability of different *Lactobacillus plantarum* strains [published online ahead of print, 2020 Dec 24]. *Food Funct*. 2020;10.1039/d0fo02073g. doi:10.1039/d0fo02073g.
150. Culpepper T, Rowe CC, Rusch CT, et al. Three probiotic strains exert different effects on plasma bile acid profiles in healthy obese adults: randomised, double-blind placebo-controlled crossover study. *Benef Microbes*. 2019;10(5):497-509. doi:10.3920/BM2018.0151.
151. Malik M, Suboc TM, Tyagi S, et al. *Lactobacillus plantarum* 299v Supplementation Improves Vascular Endothelial Function and Reduces

- Inflammatory Biomarkers in Men With Stable Coronary Artery Disease. *Circ Res.* 2018;123(9):1091-1102. doi:10.1161/CIRCRESAHA.118.313565.
152. Cole TB. Smoking Cessation and Reduction of Cardiovascular Disease Risk. *JAMA.* 2019;322(7):651. doi:10.1001/jama.2019.11166.
153. Sudano I, Barthelmes J, Kubli B. Smoking, smoking cessation and cardiovascular risk. *Cardiovasc Med.* 2018;21(11):274–277. doi:10.4414/cvm.2018.00588.

ДОДАТКИ

Додаток А

Список публікацій здобувача

1. Шипулін ВП, Чернявський ВВ, Неверовський АВ, та інші. Гіполіпідемічна ефективність пробіотика *Lactobacillus plantarum* у пацієнтів з ішемічною хворобою серця. Український терапевтичний журнал. 2018;3(4):27-33. *(Автором формувались концепція та дизайн дослідження, проводилось обстеження пацієнтів, аналіз та узагальнення результатів, статистична обробка результатів, написання тексту статті).*
2. Neverovskyi A, Chernyavskyi V, Shypulin V, et al. Gut bacterial bile salt hydrolase activity correlates with cardiovascular risk: a case-control study. *Gastroenterologia*. 2020;54(4):228-223. doi: 10.22141/2308-2097.54.4.2020.216711. *(Автором формувались концепція та дизайн дослідження, проводилось обстеження пацієнтів та збір матеріалу, аналіз та інтерпретація отриманих результатів, статистична обробка результатів, написання тексту статті)*
3. Neverovskyi A, Chernyavskyi V, Shypulin V, et al. Modification of gut bacterial bile salt hydrolase activity and cardiovascular risk: a randomized study. *Ukrainian Scientific Medical Youth Journal*. 2020;3(117):36-45. doi: 10.32345/USMYJ.3(117).2020.36-45. *(Автором формувались концепція та дизайн дослідження, проводилось обстеження пацієнтів та збір матеріалу, аналіз та інтерпретація отриманих результатів, статистична обробка результатів, написання тексту статті)*
4. Neverovskyi A, Chernyavskyi V, Shypulin V, et al. Probiotic *Lactobacillus plantarum* may reduce cardiovascular risk: An experimental study. *ARYA Atheroscler* 2021; 17: 2156. doi: 10.22122/arya.v17i0.2156. *(Автором формувались концепція та дизайн дослідження, проводилось обстеження пацієнтів та збір матеріалу, аналіз та інтерпретація отриманих результатів, статистична обробка результатів, написання тексту статті).*

Продовження додатка А

Апробація результатів дисертації

Результати дисертаційної роботи було представлено на наступних міжнародних та вітчизняних наукових форумах та конференціях: «UEG Week Virtual 2020» - онлайн, 11 жовтня 2020 р. (постерна презентація та публікація тез); «VIII наукова сесія Інституту гастроентерології НАМН України. Новітні технології в теоретичній та клінічній гастроентерології» - м. Дніпро, 26-27 листопада 2020 р. (постерна презентація); «Щорічні терапевтичні читання. Неінфекційні захворювання: профілактика та зміцнення здоров'я України» - м. Харків, 22-23 квітня 2021 р. (публікація тез); «Українська фахова on-line школа. Хронічні хвороби печінки, ентеропатії, коморбідна патологія» - онлайн, 16-17 червня 2021 р. (усна доповідь); «IX наукова сесія Інституту гастроентерології НАМН України. Новітні технології в теоретичній та клінічній гастроентерології» - м. Дніпро, 17-18 червня 2021 р. (публікація тез). Дисертаційну роботу було апробовано на засіданні кафедри внутрішньої медицини №1 та фаховому семінарі Національного медичного університету імені О. О. Богомольця.

Додаток Б



MEMORANDUM OF UNDERSTANDING



BETWEEN THE

Laboratory of Bioorganic Chemistry and Molecular Imaging (LCBIM)

Institute of Chemical Sciences and Engineering (ISIC)

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

AND THE

Department of Internal Medicine #1

Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

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

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

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

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

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

Lausanne, 14.03.2018
(PLACE) (DATE)

(SIGNATURE)

Kyiv, 8 MAY 2018
(PLACE) (DATE)

(SIGNATURE)

Додаток В

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
та інновацій

Національного медичного університету

імені О. О. Богомольця

д. мед. н., професор Земсков С. В.



2021 р.

Акт впровадження

1. Пропозиції для впровадження.

- 1) У практично здорових людей та пацієнтів з дисліпідемією доцільно визначати відносну загальну активність кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот (ГСЖК) з метою: оцінки ризику дисліпідемії; оцінки ризику недосягнення кінцевих цілей ефективності лікування дисліпідемії; оцінки ризику недосягнення кінцевих цілей ефективності модифікації різних категорій серцево-судинного ризику.
 - 2) Перед призначенням пробіотичних препаратів доцільно визначати ферментативну активність бактеріальної ГСЖК даних препаратів з метою селекції потенційно найбільш ефективних штамів пробіотичних бактерій відносно корекції дисліпідемії та серцево-судинного ризику.
 - 3) Рекомендовано застосування пробіотичних препаратів на основі ГСЖК-продукуючого штаму *Lactobacillus plantarum* як додаткової гіполіпідемічної терапії з метою корекції дисліпідемії та модифікації різних категорій серцево-судинного ризику, оціненого за валідованими шкалами. Доцільно використовувати капсули із вмістом *Lactobacillus plantarum* 2*10⁹ КУО в одній капсулі (1 капсула 1 раз на добу) у комбінації із препаратами статинів протягом не менше 12 тижнів.
2. **Ким запропоновано, адреса виконавця:** Неверовський А. В., аспірант кафедри внутрішньої медицини №1 НМУ імені О. О. Богомольця (бульв. Тараса Шевченка, 17).
 3. **Джерело інформації:**
 - 1) Шипулін ВП, Чернявський ВВ, Неверовський АВ, та інші. Гіполіпідемічна ефективність пробіотика *Lactobacillus plantarum* у пацієнтів з ішемічною хворобою серця. Український терапевтичний журнал. 2018;3(4):27-33.
 - 2) Neverovskiy A, Chernyavskiy V, Shypulin V, et al. Gut bacterial bile salt hydrolase activity correlates with cardiovascular risk: a case-control study. *Gastroenterologia*. 2020;54(4):228-223. doi: 10.22141/2308-2097.54.4.2020.216711.
 - 3) Neverovskiy A, Chernyavskiy V, Shypulin V, et al. Modification of gut bacterial bile salt hydrolase activity and cardiovascular risk: a randomized study. *Ukrainian Scientific Medical Youth Journal*. 2020;3(117):36-45. doi: 10.32345/USMJ.3(117).2020.36-45.
 4. **Де і коли впроваджено:** кафедра внутрішньої медицини №1 НМУ імені О. О. Богомольця
 5. **Термін впровадження:** грудень 2018 – грудень 2020.
 6. **Форма впровадження:** використання матеріалів у науково-дослідній роботі, впровадження у лікувальну роботу та навчальний процес кафедри внутрішньої медицини №1, в тому числі в навчальні плани лікарів-інтернів.
 7. **Зауваження та пропозиції:** зауважень немає. Матеріали дисертаційної роботи рекомендовані для використання в клінічній практиці та навчальному процесі на кафедрі внутрішньої медицини №1.

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

В. П. Шипулін

Додаток Г

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Заступник директора КНП «КМКЛ 18»

Алексеевко Н. В.

« 09 » листопада 2021 р.

Акт впровадження

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

1. **Пропозиції для впровадження:** удосконалення лікування пацієнтів з дисліпідемією та модифікації серцево-судинного ризику на основі визначення та корекції ферментативної активності кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот (ГСЖК) шляхом призначення в якості додаткової терапії пробіотичних капсул із ГСЖК-продукуючим штамом *Lactobacillus plantarum*.
2. **Ким запропоновано, адреса виконавця:** Неверовський А. В., аспірант кафедри внутрішньої медицини №1 НМУ імені О. О. Богомольця (бульв. Тараса Шевченка, 17).
3. **Джерело інформації:**
 - 1) Шипулін ВП, Чернявський ВВ, Неверовський АВ, та інші. Гіполіпідемічна ефективність пробіотика *Lactobacillus plantarum* у пацієнтів з ішемічною хворобою серця. Український терапевтичний журнал. 2018;3(4):27-33.
 - 2) Neverovskiy A, Chernyavskiy V, Shypulin V, et al. Gut bacterial bile salt hydrolase activity correlates with cardiovascular risk: a case-control study. *Gastroenterologia*. 2020;54(4):228-223. doi: 10.22141/2308-2097.54.4.2020.216711.
 - 3) Neverovskiy A, Chernyavskiy V, Shypulin V, et al. Modification of gut bacterial bile salt hydrolase activity and cardiovascular risk: a randomized study. *Ukrainian Scientific Medical Youth Journal*. 2020;3(117):36-45. doi: 10.32345/USMYJ.3(117).2020.36-45.
4. **Де і коли впроваджено:** КНП «Київська міська клінічна лікарня №18», терапевтичне відділення, гастроентерологічне відділення
5. **Термін впровадження:** січень 2019 – січень 2021.
6. **Форма впровадження:** використання матеріалів у науково-дослідній роботі, впровадження у лікувальну роботу.
7. **Зауваження та пропозиції:** зауважень немає. Матеріали дисертаційної роботи рекомендовані для використання в клінічній практиці.

Дата 09.12.2021

Додаток Г



Медичний центр
«RCLIN Ukraine»
 Товариство з обмеженою
 відповідальністю
«КАРДІОКОМ» «19»
 Код ЄДРПОУ 32249852

МЕДИЧНИЙ ЦЕНТР
 «RCLIN UKRAINE» ТОВ
 «КАРДІОКОМ»

(Назва закладу охорони здоров'я)

КВІТНЯ 2021 р.

Акт впровадження

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

1. **Пропозиції для впровадження:** удосконалення лікування пацієнтів з дисліпідемією та модифікації серцево-судинного ризику на основі визначення та корекції ферментативної активності кишкової бактеріальної гідролази солей жовчних кислот (ГСЖК) шляхом призначення в якості додаткової терапії пробіотичних капсул із ГСЖК-продукуючим штамом *Lactobacillus plantarum*.
2. **Ким запропоновано, адреса виконавця:** Неверовський А. В., аспірант кафедри внутрішньої медицини №1 НМУ імені О. О. Богомольця (бульв. Тараса Шевченка, 17).
3. **Джерело інформації:**
 - 1) Шипулін ВП, Чернявський ВВ, Неверовський АВ, та інші. Гіполіпідемічна ефективність пробіотика *Lactobacillus plantarum* у пацієнтів з ішемічною хворобою серця. Український терапевтичний журнал. 2018;3(4):27-33.
 - 2) Neverovskyi A, Chernyavskyi V, Shypulin V, et al. Gut bacterial bile salt hydrolase activity correlates with cardiovascular risk: a case-control study. *Gastroenterologia*. 2020;54(4):228-223. doi: 10.22141/2308-2097.54.4.2020.216711.
 - 3) Neverovskyi A, Chernyavskyi V, Shypulin V, et al. Modification of gut bacterial bile salt hydrolase activity and cardiovascular risk: a randomized study. *Ukrainian Scientific Medical Youth Journal*. 2020;3(117):36-45. doi: 10.32345/USMYJ.3(117).2020.36-45.
4. **Де і коли впроваджено:** «RCLIN UKRAINE» ТОВ «КАРДІОКОМ» (08711, Київська обл., Обухівський р-н, смт Козин, вул. Київська, б. 107-б)
5. **Термін впровадження:** грудень 2020 – березень 2021.
6. **Форма впровадження:** використання матеріалів у науково-дослідній роботі, впровадження у лікувальну роботу медичного центру.
7. **Зауваження та пропозиції:** зауважень немає. Матеріали дисертаційної роботи рекомендовані для використання в клінічній практиці.

Відповідальний за впровадження

Головний лікар

МЦ «RCLIN UKRAINE» ТОВ «КАРДІОКОМ»

Нечипуренко Т. Б.