

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
И.М.СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

На правах рукописи



Халаиджева Ксения Николаевна

**Влияние пробиотиков на уровень зонулина и состав микробиоты кишечника
у больных с функциональными заболеваниями ЖКТ**

3.1.18. Внутренние болезни

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор

Дроздов Владимир Николаевич

доктор медицинских наук, профессор

Ших Евгения Валерьевна

Москва – 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1. Функциональные заболевания кишечника.....	13
1.2. Влияние функциональных заболеваний кишечника на качество жизни.....	15
1.3. Патогенез функциональных заболеваний кишечника.....	16
1.4. Применение пробиотиков при функциональных заболеваниях кишечника	20
1.5. Кишечная проницаемость и зонулин	23
1.6. Заболевания, ассоциированные с повышением уровня зонулина.....	24
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	35
2.1. Клиническая часть исследования.....	35
2.2. Клиническая характеристика больных	36
2.3. Методы исследования.....	43
2.4. Критерии постановки диагноза.....	45
2.5. Проводимая терапия функциональных заболеваний кишечника.....	45
2.6. Оценка клинических проявлений функциональных заболеваний кишечника и клинической эффективности терапии.....	46
2.7. Лабораторные методы исследования	47
2.7.1. Общий анализ крови.....	47
2.7.2. Биохимический анализ крови.....	47
2.7.3. Исследование микробиоты	48
2.7.4. Исследование уровня зонулина	49
2.8. Инструментальные исследования	50
2.8.1. Ультразвуковое исследование органов брюшной полости	50
2.8.2. Эзофагогастродуоденоскопия.....	50
2.8.3. Видеоколоноскопия	50
2.9. Методы статистического анализа.....	51
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	52

3.1. Уровень зонулина в кале у пациентов с функциональными заболеваниями кишечника	52
3.2. Микробиота кишечника у пациентов с синдромом раздраженного кишечника	57
3.3. Взаимосвязь микробиоты кишечника и уровня зонулина в кале у больных функциональными заболеваниями кишечника	65
3.4. Влияние терапии пробиотиком на клинические проявления, уровень зонулина в кале и микробиоту кишечника у больных с функциональными заболеваниями кишечника	75
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ СОБСТВЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ	101
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	108
ВЫВОДЫ.....	110
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	112
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	113

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

В настоящее время важную роль в прогрессировании различных заболеваний отводят изменению качественного и количественного состава микробиоты человека. Благодаря использованию современных способов выявления и подсчета количества микроорганизмов (секвенирование, проточная цитофлуориметрия), появилась возможность более детального описания и исследования микробного состава. Описано влияние кишечной микробиоты на патогенез различных заболеваний как у пациентов гастроэнтерологического, так и негастроэнтерологического профиля.

Функциональные заболевания кишечника (ФЗК) широко распространены по всему миру [1,2,3,4]. Патогенез данной группы заболеваний обусловлен множеством причин и изучен не полностью. Были опубликованы результаты нескольких исследований, описывающие увеличение кишечной проницаемости у пациентов с ФЗК по результатам биопсии при сравнении со здоровыми людьми [5,6,7].

Эпителий желудочно-кишечного тракта является естественным барьером, который обладает избирательной проницаемостью. Избирательная проницаемость находится под контролем специализированных межклеточных структур - плотных контактов, вклад которых в транспорт питательных веществ в желудочно-кишечном тракте ранее был недостаточно оценен [8]. Межклеточные плотные контакты (МПК) регулируют параклеточный трафик антигенов (АГ78) [9]. МПК представляют собой чрезвычайно динамичные структуры, которые выполняют несколько ключевых функций кишечного эпителия как при физиологических, так и при патологических обстоятельствах.

Одним из главных достижений в понимании роли проницаемости кишечника в норме и при патологии стало открытие зонулина - физиологического модулятора

проницаемости. Наиболее мощными триггерами для секреции зонулина являются глютен и бактерии [10].

Имеются данные об увеличении уровня зонулина у пациентов с ФЗК, что может говорить об изменении кишечной проницаемости в данной нозологической группе [11,12].

Ведущая роль в нормализации состава и функций кишечной микробиоты принадлежит пробиотикам. В процессе своей жизнедеятельности пробиотические штаммы синтезируют метаболиты, участвующие в поддержании гомеостаза макроорганизма. В первую очередь к ним относят короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК), поддерживающие регуляцию энергетического гомеостаза, а также являющиеся сигнальными молекулами для клеток иммунной системы, определяя их дифференцировку и противовоспалительную активность. Кроме этого, микроорганизмы, содержащиеся в составе пробиотических препаратов, продуцируют различные медиаторы - допамин, норадреналин, серотонин гамма-аминомасляную кислоту, гистамин, а также триптофан, витамины группы В (В2, В12) и фолиевую кислоту [13].

Недавние клинические исследования продемонстрировали потенциальную пользу от приема пробиотических препаратов для пациентов с ФЗК [14,15,16].

Принимая во внимание имеющиеся данные, назначение пробиотиков в составе комплексной терапии может быть оправдано. Однако, роль зонулина в патогенезе ФЗК требует дальнейшего уточнения. Кроме того, требуются дальнейшие исследования для определения клинической возможности коррекции уровня зонулина и, соответственно, кишечной проницаемости у пациентов с ФЗК.

Степень ее разработанности

В настоящее время подолжается изучение влияния изменений кишечной проницаемости, а также влияния микробиоты на патогенез ФЗК. Описаны повышение уровня зонулина из изменения кишечной проницаемости у пациентов

с ФКЗ [5,6,7,11,12], однако его роль в патогенезе данной группы заболевания изучена не до конца.

Учитывая хорошо известный факт о том, что секреция зонулина в большей степени происходит при провокации глютенем или бактериями, можно сделать вывод о необходимости включения пробиотиков в состав комплексного лечения ФЗК. Недавно было опубликовано несколько исследований, описывающих пользу применения пробиотиков у данной категории пациентов [14,15,16].

Цели и задачи

Повышение эффективности лечения функциональных заболеваний кишечника за счет коррекции пробиотическими препаратами повышенной эксперсии зонулина и микробиоты кишечника.

1. Определить уровень зонулина в кале у пациентов с функциональными заболеваниями кишечника.
2. Изучить состав микробиоты кишечника у пациентов с функциональными заболеваниями кишечника методом секвенирования.
3. Установить взаимосвязь между особенностями микробиоты кишечника и уровнем зонулина.
4. Оценить изменение уровня зонулина у больных с функциональными нарушениями ЖКТ, принимающих пробиотические препараты.
5. Оценить изменение микробиоты кишечника у больных с функциональными заболеваниями кишечника на фоне приема пробиотика.
6. Установить влияние применения пробиотических препаратов на клинические проявления функциональных заболеваний кишечника.

Научная новизна

В данном исследовании доказано, что у больных с функциональными заболеваниями кишечника отмечается нарушение межклеточных взаимодействий в

кишечнике, что подтверждается повышением маркера нарушения внеклеточных взаимоотношений – зонулина в кале. Повышение уровня зонулина в кале доказано у большинства больных с функциональными заболеваниями с симптомами диареи и у более половины больных с симптомами запора.

Установлено, что для больных с СРК состояние микробиоты кишечника характеризуется преобладанием бактерии типа *Proteobacteria* до 53,1%, относительно бактерий типа *Firmicutes* - 37,2%. Показано, что основным отличием микробиоты у больных СРК-З и СРК-Д, является микробное разнообразие, которое у больных с СРК-З было статистически значимо ниже.

Была установлена взаимосвязь между повышением экспрессии зонулина и составом микробиоты кишечника. Установлено, что снижение бактерий типа *Firmicutes*, в т.ч. рода *Clostridia* и увеличение доли бактерий типа *Proteobacteria* в т.ч. порядка *Enterobacteriales* приводит к повышению уровня зонулина в кале.

Доказано, что коррекция микробиоты кишечника мультиштаммовым пробиотиком изменяет ее состав, что сопровождается нормализацией уровня зонулина и это свидетельствует об уменьшении кишечной проницаемости и коррекции основных симптомов СРК.

Теоретическая и практическая значимость работы

Установлены уровни зонулина в кале, характерные для больных с функциональными заболеваниями кишечника.

Определены критические изменения микробиоты кишечника, сопряженные с повышением уровня зонулина в кале больных с функциональными заболеваниями кишечника.

Определен уровень риска значительного повышения уровня зонулина в кале в зависимости от доли бактерий типа *Firmicutes*, *Proteobacteria*, их соотношения, уровня *Clostridia* и *Gammaproteobacteria* в микробиоте кишечника.

Подтверждена, клиническая эффективность мультиштаммового пробиотика у больных с СРК.

Доказано, что положительная динамика клинических симптомов обусловлена изменением состава микробиоты и восстановлением уровня зонулина в кале.

Обосновано применение в клинической практике определения уровня зонулина в кале как дополнительного критерия оценки тяжести функциональных изменений у больных с функциональными заболеваниями кишечника и показателя клинической эффективности терапии пробиотиками.

Методология и методы исследования

Данная работа была произведена в соответствии с правилами и принципами доказательной медицины. В диссертационной работе использовались лабораторные и клинические методы исследования. В данном исследовании приняли участие 108 пациентов с ФЗК в возрасте от 18 лет мужского и женского пола, которым был предложен прием пробиотиков в течение 28 дней, а также заполнение опросника выраженности симптомов до и после приема.

Диссертационная работа была проведена согласно Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2013 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. No 266.

Положения, выносимые на защиту

- У пациентов с функциональными заболеваниями кишечника отмечается повышение уровня зонулина в кале, наиболее выраженные изменения отмечаются у больных при наличии диарейного синдрома.
- Функциональные заболевания кишечника характеризуются изменениями состава кишечной микробиоты, наиболее характерным изменением является преобладание бактерий типа *Proteobacteria* по отношению к бактериям типа *Firmicutes*.

- Изменение состава микробиоты у больных с функциональными заболеваниями кишечника способствует повышению экспрессии маркера кишечной проницаемости и межклеточных взаимодействий.
- Применение мультиштаммового пробиотика у больных с функциональными заболеваниями кишечника способствует снижению экспрессии зонулина и нормализации его уровня в кале.
- Пробиотики у больных с функциональными заболеваниями кишечника модифицируют микробиоту кишечника и приводят к снижению преобладания бактерий *Proteobacteria* повышение уровня бактерий типа *Firmicutes*. Мультиштаммовые пробиотики у больных с функциональными заболеваниями кишечника повышают эффективность терапии независимо от типа функциональных нарушений.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту научной специальности 3.1.18. Внутренние болезни: п. 1 - изучение этиологии и патогенеза заболеваний внутренних органов: дыхания, сердечно-сосудистой системы, пищеварения, почек, соединительной ткани и суставов во всем многообразии их проявлений и сочетаний; п. 2 - изучение клинических и патофизиологических проявлений патологии внутренних органов с использованием клинических лабораторных, лучевых, иммунологических, генетических, патоморфологических, биохимических и других методов исследований; п. 3 - совершенствование лабораторных, инструментальных и других методов обследования терапевтических больных, совершенствование диагностической и дифференциальной диагностики болезней внутренних органов; п. 4 - изучение механизмов действия, эффективности и безопасности лекарственных препаратов и немедикаментозных способов воздействия; п. 5 - совершенствование и оптимизация лечебных мероприятий и профилактики возникновения или обострения заболеваний внутренних органов; п. 8 - совершенствование методов

персонализации лечения на основе внедрения пациент-ориентированного подхода в клиническую практику; и паспорту научной специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (медицинские науки): п.13 - изучение клинической эффективности лекарственных средств у пациентов с различными заболеваниями в открытых, двойных слепых, рандомизированных, сравнительных и плацебо-контролируемых исследованиях; п. 17 - изучение влияния лекарственных средств на качество жизни пациентов и здоровых добровольцев; п. 20 - разработка и оптимизация методов фармакотерапии и профилактики заболеваний у различных групп пациентов с учетом индивидуальных особенностей, включая исследование приверженности фармакотерапии (комплаентности).

Результаты проведенного исследования соответствуют областям исследования специальностей.

Степень достоверности и апробация результатов

Необходимая степень достоверности представленных результатов достигнута и обусловлена достаточным количеством 108 больных, включенных в исследование, а также полнотой современного лабораторного и клинического обследований, включающих использование опросника GSRS. Применялись современные методы исследования: оценка состояния микробиоты методом секвенирования 16S рРНК и иммуноферментного исследования уровня зонулина в кале.

Обработка полученных результатов исследования произведена в соответствии с рекомендуемыми методами статистического анализа медико - биологических исследований. Используемые методы научного анализа отвечают поставленным цели и задачам. Практические рекомендации и выводы соответствуют цели и задачам диссертационного исследования и полученным результатам лабораторных исследований и клинического наблюдения.

Данное исследование было одобрено локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), протокол № 05-22 от 03.03.2022.

Апробация работы состоялась на заседании кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней, ИКМ им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) «6 мая» 2024 г.

Личный вклад автора

Автор выполнял основную роль в проведении данной работы на всех этапах: определение направления исследования, анализ научной литературы по изучаемой теме. Халаиджева К.Н. самостоятельно проводила обследование больных для постановки диагноза, включение в исследование, назначала лечение, осуществляла амбулаторное наблюдение и оценку эффективности терапии. Автор самостоятельно выполняла отбор проб на проведение секвенирования микробиоты, подготовку проб и определение уровня зонулина в кале методом иммуноферментного анализа.

Автором была сформирована электронная база результатов исследования, проведена их статистическая обработка и сформулированы основные научные положения диссертации, выводы и практические рекомендации. Автор самостоятельно подготовила и опубликовала основные результаты работы в научных публикациях и внедрила их в клиническую практику и образовательный процесс для студентов, ординаторов.

Связь диссертации с основными научными темами

Диссертационная работа выполнена в соответствии с научно-исследовательской программой кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней Института клинической медицины им. Н.В.

Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Утверждение темы диссертации осуществлено на заседании кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (протокол №2 от 02.10.2021).

Внедрение результатов исследования

Основные положения данного исследования нашли практическое применение в учебном процессе и научной деятельности кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского Сеченовского Университета и практической деятельности амбулаторной службы ООО «Юни Медика».

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 6 печатных работ, из них 1 научная статей в изданиях из Перечня Университета/Перечня ВАК при Минобрнауки; 5 статей в журналах, включенных в международную базу Scopus (из них 1 - обзор).

Структура и объем работы

Диссертационная работа изложена на 133 страницах машинописного текста, состоит из введения, 4 глав, которые содержат обзор литературы, сведения о больных и методах исследования, результаты проведенных исследований и обсуждение полученного материала, выводы, практические рекомендации и список литературы. Работа иллюстрирована 21 таблицей и 14 рисунками. Список литературы включает 185 работ, из них на русском языке – 20 источников, 165 работ на английском языке.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Функциональные заболевания кишечника

Согласно современной классификации, функциональные нарушения кишечника можно разделить на 5 отдельных категорий: синдром раздраженного кишечника (СРК), функциональный запор (ФЗ), функциональная диарея (ФД), функциональное вздутие/вздутие живота и неуточненное функциональное нарушение кишечника. Для постановки диагноза жалобы должны присутствовать в течение не менее 6 месяцев и беспокоить больного на момент установления диагноза в течение последних 3х месяцев [17].

Синдром раздраженного кишечника (СРК) — это функциональное нарушение желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), основным симптомом которого является рецидивирующая боль в животе, связанная с изменением формы или частоты стула, а также вздутия живота [17].

В зависимости от вида стула, СРК можно подразделить на 4 подтипа:

1. СРК с преобладанием запоров (СРК-З) - более 25% стула, согласно Бристольской шкале, относятся к 1 или 2 типу и менее 25% дефекации к 6 или 7.
2. СРК с преобладанием диареи (СРК-Д): более 25% стула, согласно Бристольской шкале, относятся к 6 или 7 типу и менее 25 % дефекаций к 1 или 2.
3. СРК со смешанным характером стула (СРК-С): более 25% дефекаций 1 или 2 типа и более 25% дефекации 6 или 7 типа по Бристольской шкале.
4. Неклассифицированный СРК (СРК-Н): пациенты, соответствующие диагностическим критериям СРК, но чьи изменения дефекации невозможно точно отнести к вышеуказанным подтипам [17].

При ФЗ преобладают симптомы затрудненной, редкой или неполной дефекации, боль и/или вздутие живота могут присутствовать, но не должны преобладать [17].

При постановке диагноза учитывают:

1. Наличие 2 или более из следующих пунктов: натуживание во время более чем четверти (25%) дефекаций; комковатый или твердый стул (1-2 тип согласно Бристольской шкале формы кала) более чем в четверти (25%) случаев дефекации; Ощущение неполного опорожнения более четверти (25%) дефекаций; ощущение аноректальной обструкции/блокировки более чем в четверти (25%) случаев дефекации; ручные маневры, облегчающие более четверти (25%) дефекации (пальцевая эвакуация, поддержка тазового дна); менее 3 спонтанных дефекаций в неделю.

2. Жидкий стул редко бывает без применения слабительных средств.

3. Недостаточно критериев для постановки СРК [17].

Диагностическим критерием ФД является жидкий или водянистый стул без преобладающих болей в животе или вздутия живота, встречающийся более 25% случаев стула [17].

Функциональное вздутие живота проявляется симптомами рецидивирующего переполнения живота, давления или ощущения повышенного газообразования и/или увеличения обхвата живота [17].

Распространенность СРК в мире различна и в зависимости от страны насчитывает от 1,1 до 45,0%, составляя в среднем около 11% [3]. Согласно результатам Российского многоцентрового наблюдательного исследования ROMERUS, которое было проведено в 35 клинических центрах и в конечном итоге включало 790 пациентов, средний возраст составлял $34,0 \pm 7,5$ года и преобладал женский пол (70,4%) [2].

По данным метаанализа, включающего в себя исследования с 1 января 1990 по 31 декабря 2020 года, в которых участвовало 275260 пациентов, общая распространенность функционального запора составила 15,3%. Как и при СРК, ФЗ был диагностирован чаще у женщин [1].

Данные, собранные с помощью интернет-опросов, а также с помощью личных интервью в 33 странах (Аргентина, Австралия, Бангладеш, Бельгия, Бразилия, Канада, Китай, Колумбия, Египет, Франция, Германия, Гана, Голландия, Индия, Индонезия, Иран, Израиль, Италия, Япония, Малайзия, Мексика, Нигерия,

Польша, Румыния, Россия, Сингапур, Южная Африка, Южная Корея, Испания, Швеция, Турция, Великобритания и США), говорят о 4,7% людей, страдающих функциональной диареей и 3,5% и 1,2% функциональным вздутием/вздутием живота соответственно [4].

1.2. Влияние функциональных заболеваний кишечника на качество жизни

Нельзя не отметить существенное влияние ФЗК на качество жизни пациентов. Обращает на себя внимание исследование, в котором было опрошено 1966 людей (83% женщины, 91% европеоиды, 78% из США/Канады) с диагнозом СРК. Пациентам в среднем на 73 дня в году приходилось ограничивать свою повседневную физическую активность из-за развития симптомов. Большинство готово было пожертвовать ожидаемой продолжительностью жизни около 15 лет (25% от оставшейся жизни) ради получения лечения, которое избавит их от симптомов, а 14% готовы принять риск смерти с вероятностью 1/1000 [18].

В.Е. Lacy et al. (2019 г.) также сообщают о готовности пациентов с СРК согласиться со средним риском внезапной смерти в 1%, если гипотетическое лекарство с 99% вероятностью излечит их симптомы [19].

В 2015 году был проведен опрос «Жизнь с СРК». Данные были собраны у 3254 человек (средний возраст 47 лет; 81% женщины; 90% европеоиды), которые соответствовали Римским критериям III для СРК с преобладанием запора или диареи. В результате люди, которые работали или учились (1885 человек), сообщили, о влиянии симптомов на их работоспособность, в среднем, на 8 дней в месяц и пропуск около 1,5 дней работы или учебы в месяц из-за СРК. Лица с СРК-Д чаще избегали мест без ванных комнат, им было трудно строить планы, они не хотели выходить из дома и путешествовать [20].

G. Fond, A. Loundou et al. (2014 г.) провели систематический обзор и метаанализ с использованием пяти электронных баз данных и пришли к выводу о значительно более высоком уровне тревоги и депрессии у пациентов с СРК в сравнении с здоровыми людьми из контрольной группы [21].

Кроме того, описываемая группа заболеваний связана с значительными затратами для пациентов, системы здравоохранения и общества. Например, J. A Doshi et al. (2014 г.) в своем исследовании рассчитали среднегодовые расходы на лечение всех симптомов для пациентов с СРК-3, которые в результате составили 11182 доллара США, при этом расходы, связанные с симптомами, влияющими на желудочно-кишечный тракт (4456 долларов США), составили 39,8% от общих, а траты, связанные с СРК-3 (1335 долларов США), составили 11,9%, что позволяет сделать вывод о значительном экономическом бремени с точки зрения прямых затрат на здравоохранение среди застрахованного на коммерческой основе населения [22].

Также описано, что ежегодные общие прямые затраты здравоохранения на одного пациента с СРК составляют: в США – 742–7547 долларов, в Великобритании – 90–316 фунтов стерлингов, во Франции – 567–862 евро, в Канаде – 259 долларов США, в Германии – 791 евро, в Норвегии – 2098 норвежских крон и в Иране – 92 доллара США, а расходы для промышленности на международном уровне из-за невыходов сотрудников на работу, связанных с обострением СРК, оцениваются от 400 до 900 фунтов стерлингов на пациента в год [23].

1.3. Патогенез функциональных заболеваний кишечника

Патогенез функциональных заболеваний состоит из множества звеньев и изучен не до конца. Одним из основных является нарушение оси «кишечник-мозг». В результате, эмоции (например, страх, гнев, тревога), болевые раздражители или физический стресс могут влиять на моторику кишечника, усиливая или замедляя ее, тем самым вызывая диарею или запор [24]. Нарушение связи между кишечником и мозгом также может вызывать висцеральную гиперчувствительность (ВГ) - изменение восприятия сигналов от внутренних органов в ответ на физиологические раздражители (растяжение или сокращение), что можно описать как снижение порогового восприятия раздражителей, генерируемых ЖКТ. ВГ можно охарактеризовать аллодинией – повышением

ноцицептивных восприятий в ответ на нормальные раздражители или гипералгезией – усилением болевых ощущений в результате воздействия раздражителей, вызывающих боль [25].

Большую роль в патогенезе отводят изменению качественного и количественного состава микробиоты кишечника.

L. Crouzet, E. Gaultier (2013 г.) провели эксперимент, в котором оценили роль кишечной микробиоты в развитии висцеральной гиперчувствительности у пациентов с СРК. Безмикробным крысам пересаживали фекальную микробиоту от крыс с СРК, толстая кишка которых характеризовалась гиперчувствительностью, или от здоровых крыс с нормочувствительностью. Авторы пришли к выводу, что передача фекального микробиома от крыс с СРК к безмикробным сопровождается передачей висцеральной гиперчувствительности. Это позволяет говорить об участии кишечной микробиоты в висцеральной гиперчувствительности у пациентов с СРК [26].

При поиске информации в электронных базах данных, можно найти большое количество исследований, описывающих различия микробного состава у пациентов с функциональными заболеваниями кишечника и здоровых людей [27,28,29,30,31,32].

R. Pittayanon, J.T. Lau et al. (2019 г.) выполнили систематический обзор, включавший 24 исследования. Был сделан вывод о повышенном уровне бактерий семейств Enterobacteriaceae, Lactobacillaceae и Bacteroidales у пациентов с СРК и снижении Bifidobacterium, Faecalibacterium и Clostridiales по сравнению с количествами микроорганизмов названных сообществ у здоровых людей из контрольных групп [33].

При исследовании микробиома 113 пациентов с СРК и 66 здоровых людей из контрольной группы с целью выявления специфических признаков было обнаружено, что для пациентов с СРК характерно снижение количества бактерий, продуцирующих бутират и метан [34].

На состав микробиоты кишечника здорового человека влияет множество факторов, таких как географическое положение, этническая принадлежность, тип

питания, использование лекарств и патогенные микроорганизмы. Все это делает ее неоднородной и затрудняет определение четкого микробного состава у пациентов с функциональными заболеваниями желудочно-кишечного тракта [35].

Однако, мы можем выделить несколько важных особенностей «Здоровой микробиоты»: высокое разнообразие, благоприятное количество микробов, продуцирующих бутират и метан, способность противостоять нарушениям, изменяющим состав, а также способность возвращаться к исходному составу после этих нарушений [35,36].

И напротив, во время болезни теряется баланс между хозяином и микроорганизмами, а также снижается микробное разнообразие [36].

Имеются данные, что не только хозяин может общаться с микробиотой с помощью нейроактивных молекул, но и бактерии способны нарушать работу кишечника и мозга, высвобождая биологически активные молекулы через различные пути (гуморальные, эндокринные, иммунные, нейрональные). Учитывая ключевую роль микробиоты кишечника в поддержании местного и системного гомеостаза, ранее называвшегося «осью кишечник-мозг», теперь это понятие переименовано в «ось микробиота-кишечник-мозг». Микроорганизмы способны продуцировать различные нейроактивные молекулы: глутамат, норадреналин, дофамин, серотонин (5-НТ), γ -аминомасляную кислоту (ГАМК). Например, известно, что глутамат является возбуждающим нейротрансмиттером в центральной и периферической нервной системе, включая кишечную, а изменение глутаматергической нейротрансмиссии оказывает влияние на висцеральную гиперчувствительность и моторику кишечника и может являться потенциальной терапевтической мишенью в лечении СРК [37].

В 2021 году опубликован систематический обзор и метаанализ исследований «случай-контроль», в которых оценивались уровни короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК) и серотонина у пациентов с СРК. Было обнаружено повышение концентрации 5-НТ в крови пациентов с СРК, а существенных различий в содержании КЦЖК в образцах кала между пациентами с СРК и здоровыми добровольцами не было [38].

C. Cremon, G. Carini (2011 г.) описали повышенное спонтанное высвобождение 5-НТ, а также корреляцию между количеством тучных клеток и тяжестью болей в животе у пациентов с СРК [39].

Описано снижение уровня ГАМК и изменение ГАМКергической сигнальной системы у пациентов с СРК-Д [40].

Описано иммунное взаимодействие между микробиотой и хозяином. Наблюдаются повышенные уровни цитокинов, индуцированных агонистами toll-подобных рецепторов (молекул распознавания образов, регулирующие врожденный иммунитет) на периферии у пациентов с синдромом раздраженного кишечника [41,42].

Кроме того, еще одним провоцирующим фактором развития функциональных заболеваний кишечника являются острые гастроэнтериты (ОГЭ). В 2017 году опубликован систематический обзор и метаанализ, в который входило 45 исследований, включающих 21421 человек с энтеритом, за которыми наблюдали в течение от 3 месяцев до 10 лет на предмет развития СРК. Риск развития СРК был в 4 раза выше, чем у лиц, не болевших инфекционным энтеритом. Женщины, особенно с тяжелым энтеритом, люди с психологическим стрессом и лица, принимавшие антибиотики во время энтерита, имели повышенный риск развития СРК [43].

В еще одном исследовании авторы определяли факторы риска развития постинфекционного СРК (ПИ-СРК) после эпизода острого инфекционного гастроэнтерита, при котором с помощью лабораторных исследований был выделен этиологический агент. В качестве группы контроля были взяты люди с острой инфекцией верхних дыхательных путей (ОРВИ). В результате ПИ-СРК развивался в 4,16 раза чаще у людей после ОГЭ, чем в контрольной группе, а заболеваемость ПИ-СРК была самой высокой у пациентов, у которых выявлялся *Campylobacter jejuni*, по сравнению с другими возбудителями [44].

Также фактором развития функциональных заболеваний желудочно-кишечного тракта может являться предшествующий курс антибиотикотерапии [45,46].

Сообщается о более высокой распространённости синдрома избыточного бактериального роста в тонкой кишке (СИБР) у пациентов с СРК. В 2010 году опубликован метаанализ, где были проанализированы исследования, в которых проводились дыхательные тесты с лактулозой у пациентов с СРК. Тесты чаще выявляли отклонения от нормы среди людей с СРК, чем в контрольной группе [47]. Е. Giamarellos-Bourboulis, J. Tang et al. провели секвенирование 16S ДНК и подтвердили избыточный микробный рост в тонкой кишке при СРК, а также снижение микробного разнообразия [48].

Систематический обзор и метаанализ исследований «случай-контроль», включавший в себя 25 исследований (3192 пациентов с СРК и 3320 человек из контрольной групп) подтвердили более высокую распространенность СИБР в тонкой кишке у людей с СРК [49].

1.4. Применение пробиотиков при функциональных заболеваниях кишечника

Принимая во внимание важность микробиоты в патогенезе функциональных заболеваний кишечника, назначение пробиотиков в составе комплексной терапии вполне оправдано.

Е. Simon, L.Călinoiu et al. выполнили обзор литературы, посвященный различным патофизиологическим механизмам действия пробиотиков, пребиотиков и синбиотиков при СРК, включая изменение бактериального состава кишечника, улучшение барьерной функции слизистой оболочки кишечника, увеличение слоя слизи и продукцию белков плотных контактов, противовоспалительные эффекты, улучшение иммунитета кишечной стенки, и влияние на ось «кишечник-мозг» [50].

D. Silk, A. Davis et al. изучили эффективность пребиотика на основе трансгалактоолигосахарида в изменении микробиоты толстой кишки и улучшении симптомов у больных СРК. Согласно результатам исследования, пребиотик значительно увеличил количество фекальных бифидобактерий. При приеме в дозе 3,5 г/день значительно изменял консистенцию стула ($p < 0,05$), уменьшал метеоризм

($p < 0,05$), вздутие живота ($p < 0,05$), совокупную оценку симптомов ($p < 0,05$.) и субъективную глобальную оценку ($p < 0,05$), а в дозе 7 г/день значительно улучшил показатели субъективной глобальной оценки ($p < 0,05$) и тревожности ($p < 0,05$) [51].

Эффективность приема синбиотиков у пациентов с функциональными заболеваниями требует дальнейшего изучения. Рассматривалось влияние синбиотической кисломолочной продукции, содержащей *Lactobacillus acidophilus* La-5, *Bifidobacterium Animalis* ssp. *Lactis* BB-12, *Streptococcus thermophilus* и пищевые волокна (90% инулина, 10% олигофруктозы) на состав фекальной микробиоты взрослых с синдромом раздраженного кишечника. Авторы отметили лишь кратковременное влияние на количество и долю La-5-подобных штаммов и *B. animalis* ssp. *lactis* в фекальном микробиоме [52]. С. Bucci, F. Tremolattera, et al., напротив, отметили ослабление симптомов у пациентов с СРК после 4 недель лечения заболевания синбиотической смесью, которое сохранялось в течение 6-месячного периода терапии [53].

Большинство исследований посвящено изучению пробиотиков. Согласно данным Российских клинических рекомендаций по диагностике и лечению СРК, пациентам с данным состоянием рекомендовано назначение противодиарейных препаратов биологического происхождения, регулирующих равновесие кишечной микрофлоры, или биологически активных добавок к пище (БАД) — пробиотиков, для облегчения боли в животе, нормализации частоты и консистенции стула (уровень убедительности рекомендаций — А) [54].

Описан положительный эффект применения пробиотика, в состав которого входят бифидобактерии животного происхождения *Lactis* HN019 (HN019), у пациентов с функциональным запором. 228 взрослых, у которых был диагностирован функциональный запор в соответствии с Римскими критериями III, рандомизированы в двойное слепое плацебо-контролируемое исследование. В результате 28-дневный курс приема HN019 увеличивал частоту стула, а также уменьшал степень напряжения [55].

В еще одном РКИ, включавшем 94 здоровых взрослых в возрасте от 18 до 65 лет с симптомами функционального запора, участники получали плацебо или

пробиотический продукт ($1,5 \times 10^{10}$ КОЕ/день), состоящий из *Lactobacillus acidophilus* DDS-1, *Bifidobacterium Animalis* subsp. *Lactis* UABla-12, *Bifidobacterium longum* UABl-14 и *Bifidobacterium bifidum* UABb-10 в течение 4 недель. Никаких существенных различий в симптомах авторы не отметили: в обеих группах наблюдалось улучшение более чем на 20%. Однако, в отличие от плацебо, пробиотик нормализовывал частоту и консистенцию стула раньше [56].

В 2015 году был опубликован систематический обзор с метаанализом, направленный на изучение эффективности пробиотиков у пациентов с синдромом раздраженного кишечника СРК, включавший 1793 человека. Согласно данным публикации, пробиотики уменьшали боль и тяжесть симптомов в сравнении с плацебо [16].

Y. Wen, J. Li et al (2020 г) проанализировали 17 РКИ с участием 1469 человек с СРК-3, в которых пробиотики сравнивали с плацебо или отсутствием терапии. Сделан вывод об улучшении времени прохождения транзита по кишечнику, частоты и консистенции стула. Кроме того, побочные эффекты, связанные с приемом таких препаратов, оказались менее опасными по сравнению со многими другими вариантами терапии, используемыми в настоящее время [15].

В самом крупном метаанализе (2018г), включавшем 53 РКИ пробиотиков с участием 5545 пациентов вновь подтвердилось благотворное влияние на общие симптомы СРК и боль в животе, но из-за сильной неоднородности между исследованиями определить конкретную комбинацию, виды или штаммы пробиотических культур, эффективных при СРК, авторам не удалось [57].

В 2023 году впервые опубликован систематический обзор и метаанализ эффективности и безопасности пробиотиков при лечении синдрома раздраженного кишечника среди рандомизированных клинических исследований с использованием критериев ROME IV. В статью вошло 6 РКИ и 970 участников. Назначение пробиотических препаратов пациентам с СРК продемонстрировало положительный эффект на боль и вздутие живота, однако из-за значительной гетерогенности и мешающих факторов, которые не были изучены во включенных исследованиях, однозначное утверждение сделать невозможно, что говорит о

необходимости более крупных РКИ у пациентов с различными вариантами СРК, диагностированными в соответствии с Римскими критериями IV [14].

Использование в исследованиях отдельно или в комбинациях различных штаммов бактерий, а также разные сроки лечения приводят к сильным различиям результатов исследований эффективности данной терапии, что говорит о необходимости дальнейшего изучения видо- и штаммоспецифических эффектов микроорганизмов, входящих в состав пре-, про- и синбиотиков [58].

1.5. Кишечная проницаемость и зонулин

Кишечная проницаемость является важным звеном в оси «мозг-кишечник-микробиота». В норме кишечный барьер предотвращает потерю воды, электролитов и попадание антигенов и микроорганизмов в организм, одновременно обеспечивая обмен молекул между хозяином и окружающей средой и поглощение питательных веществ из пищи [59].

Как известно, эпителиальные клетки удерживаются вместе при помощи плотных контактов (*zonula occludens*), спаек и десмосом [8]. А регулирование *zonula occludens* имеет важное значение для поддержания баланса как внутри организма, так и между организмом и окружающей средой.

Ранее плотные контакты рассматривали как непроницаемый барьер, блокирующий межклеточную миграцию макромолекул. В настоящее время установлено, что это динамические структуры, участвующие в физиологической и патологической регуляции кишечного эпителиального антигенсвязывания [9] и состоящие из трансмембранных белков: окклюдина [60], клаудины [61], соединительные молекулы адгезии [62], трицеллулин [63] и ангулины [64].

Во время разработки вакцины против *Vibrio cholerae*, исследователи обнаружили, что ослабленные вакцинные штаммы, специфически мутировавшие в генах, кодирующих холерный токсин, все еще способны вызывать жидкий стул. Культуральные супернатанты штаммов *V. Cholerae* исследовали в камерах Уссинга и обнаружили токсин *zonula occludens* (ZOT) – обратимый, термолабильный,

чувствительный к расщеплению протеазами энтеротоксин, способный обратимо действовать на межклеточные плотные контакты (МПК) [65]. При дальнейшем тестировании удалось установить: супернатанты, содержащие ZOT, индуцировали перераспределение F-актинового цитоскелета, что сопровождалось увеличением проницаемости тканей, предварительная обработка специфическим ингибитором протеинкиназы C полностью устраняла влияние ZOT как на проницаемость тканей, так и на полимеризацию актина [66].

A. Fasano, T. Not et al. предположили, что ZOT может имитировать эндогенный белок, который способен влиять на плотные контакты. В ходе экспериментов был распознан человеческий аналог ZOT с молекулярной массой около 47 кДа, названный зонулином. Помимо этого, установлена повышенная экспрессия зонулина у людей с целиакией [10].

A. Tripathi, K. Lammers et al провели протеомный анализ сывороток пациентов с целиакией и установили, что зонулин является пре-гаптоглобином-2 (pre-HP2) – предшественником зрелого гаптоглобина-2(HP2), основной ролью которого является связывание свободного гемоглобина (Hb) для ингибирования его окислительной активности. Ранее pre-HP2 никогда не приписывалась никакая функция [67].

Известно, что наиболее мощные провокаторы для продукции зонулина это бактерии и глютен. R. Asmar, P. Panigrahi et al. подвергали воздействию патогенных и непатогенных энтеробактерий тонкий кишечник млекопитающих *ex vivo* и монослои кишечных клеток. В результате этого эксперимента авторы обнаружили секрецию зонулина, при чем она не зависела ни от видовой принадлежности экспериментальной животной модели, ни от вирулентности микроорганизма [68].

1.6. Заболевания, ассоциированные с повышением уровня зонулина

Повышенный уровень зонулина описан при различных заболеваниях как гастроэнтерологического, так и не связанных с органами желудочно-кишечного тракта.

Целиакия – иммуноопосредованное, генетически детерминированное системное заболевание, возникающее в ответ на употребление глютена или соответствующих проламинов и характеризующееся развитием атрофической энтеропатии, появлением в сыворотке крови специфических антител и широким спектром глютензависимых клинических проявлений [69].

Роль зонулина в патогенезе целиакии описана уже в 2000 году [10].

В ходе эксперимента в камерах Уссинга (2003), инкубация клеток с глиадином приводила к обратимой полимеризации актина, опосредованной протеинкиназой С и высвобождению зонулина. После добавления глиадина на слизистую оболочку кишечника кролика наблюдалось значительное снижение трансэпителиальной кишечной резистентности [70].

Взаимодействие глиадина с эпителием кишечника увеличивает его проницаемость за счет связи с хемокиновыми рецепторами CXCR3 и MyD88-зависимого высвобождения зонулина и увеличения кишечной проницаемости, что, в свою очередь, приводит к параклеточной транслокации глиадина и его последующему взаимодействию с макрофагами в подслизистой оболочке кишечника [71,72].

Sh. Gopalakrishnan, A. Tripathi et al разработали 8-мерный пептид - модулятор плотных контактов, способный ингибировать их разборку и дисфункцию, вызванную эндогенными и экзогенными стимулами в эпителиальных клетках кишечника и назвали его ларазотида ацетат (AT-1001) [73].

В ходе исследований ларазотида ацетата описана его эффективность и безопасность у людей с целиакией [74–77].

Относительно недавно описано такое состояние, как чувствительность к глютену без целиакии. При употреблении глютена у пациента появляются клинические симптомы целиакии, однако аутоиммунная энтеропатия не развивается [78,79]. J. Hollon, E. Puppa et al оценили биоптаты кишки у пациентов с нецелиакийной чувствительностью к глютену и обнаружили повышение проницаемости кишечника при воздействии глиадина [80]. M. Barbaro, C. Cremon et al провели многоцентровое исследование, включающее 86 пациентов с

подтвержденной нецелиакийной чувствительностью к глютену и также отметили повышение уровня зонулина [81].

В 2012 году было обследовано 318 больных гастроэнтерологического профиля, поступивших на лечение в ЦНИИ гастроэнтерологии на уровень антител против глиадина (AGA). У 41 пациента был обнаружен более высокий уровень AGA, что составило 12,9%, при этом диагноз целиакии был установлен по результатам гистологического исследования двенадцатиперстной кишки лишь у троих (0,94%). Можно сделать вывод о распространенности повышенной чувствительности к глютену среди больных с заболеваниями органов пищеварения до 12,9% [82].

Нарушение барьерной функции кишечника играет важную роль и в патофизиологии воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК) [83,84,85,86,87,88,89].

М. Arrieta, К. Madsen et al (2008) лечили с помощью АТ-1001 мышей, имеющих дефицит гена интерлейкина 10, из-за которого у них спонтанно развивался колит после 12-недельного возраста. В результате, у обработанных животных наблюдалось заметное снижение проницаемости тонкого кишечника и явное снижение заболеваемости колитом [90].

В одном из исследований, целью которого было изучение фекального и сывороточного зонулина у пациентов с ВЗК и его связи с локализацией заболевания, поведением и статусом курения, приняли участие 40 пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника и 40 здоровых добровольцев. Было установлено, что уровни зонулина в кале и сыворотке крови повышены у пациентов с активной болезнью Крона (БК), а также повышен уровень фекального зонулина у курильщиков сигарет. Связи с язвенным колитом (ЯК), локализацией и поведением ВЗК обнаружено не было [91].

В еще одном исследовании с участием 118 пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника (86 - с БК, 32 - с ЯК и 23 – группа контроля), концентрация зонулина в сыворотке крови была выше у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника по сравнению с пациентами из

контрольной группы. Различий в концентрациях зонулина сыворотки между БК и ЯК обнаружено не было. Наблюдалась обратная корреляция между концентрацией зонулина в сыворотке и продолжительностью заболевания, а корреляции между сывороточным и фекальным зонулином отмечено не было [92].

Е. Szymanska, А. Wierzbicka провели исследование уровня зонулина в кале у детей с ВЗК. Авторы обращают внимание на повышение его уровня у детей с ВЗК при сравнении с группой контроля. Различий в концентрации зонулина между болезнью Крона и язвенным колитом отмечено не было. Отмечена незначительная корреляция между активностью БК и уровнем зонулина, а также отмечена взаимосвязь между зонулином и фекальным кальпротектином [93].

Помимо оси «микробиота-кишечник-мозг» ученые выделяют ось «кишечник-печень», которая играет решающую роль в развитии и прогрессировании неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП).

Т. Munck, Р. Хи опубликовали обзор, в котором изучили связь кишечной проницаемости с наличием или тяжестью НАЖБП. Кишечная проницаемость, согласно выводам авторов, увеличивается у пациентов с НАЖБП по сравнению со здоровыми людьми из контрольной группы и связана со степенью стеатоза печени [94].

Л. Pacífico, Е. Bonci изучили потенциальную связь циркулирующего зонулина со стадией заболевания печени у детей с ожирением и НАЖБП, подтвержденной биопсией. Уровень циркулирующего зонулина был повышен у детей и подростков с НАЖБП и связан с тяжестью стеатоза [95].

Был оценен уровень зонулина у 140 мужчин с ожирением без воспалительных заболеваний кишечника, аутоиммунных заболеваний и тяжелых заболеваний печени. Авторы отметили повышение концентрации зонулина в плазме у этой категории людей. Была обнаружена значительная связь между концентрациями зонулина и тяжестью жировой дистрофии печени. Повышение кишечной проницаемости возникает в начале заболевания, т.е. до развития стадии цирроза [96].

Основными подходами к профилактике и лечению НАЖБП являются здоровый образ жизни и снижение веса. Доказано снижение уровня маркеров повышенной кишечной проницаемости после 12-месячного питания согласно принципам средиземноморской диеты [97].

Представлена способность пробиотиков стабилизировать иммунную функцию слизистой оболочки и защищать пациентов с НАЖБП от повышенной кишечной проницаемости, что делает возможным использование этой группы препаратов в качестве дополнительного лечения этой группы больных [98].

Хорошо описана взаимосвязь между развитием хронического воспаления и ожирением [99,100,101], также у этой группы людей отмечено повышение уровня зонулина и менее богатый состав микробиоты [102,103,104,105,106].

S. Mörk, S. Lackner изучили проницаемость кишечника, отражаемую зонулином в сыворотке крови, и разнообразие микробиома кишечника женщин с разной активностью и уровнями индекса массы тела (ИМТ) и пришли к выводу, что кишечные бактерии, продуцирующие бутират, такие могут уменьшить проницаемость кишечника и воспаление [107].

У людей с избыточной массой тела, принимавших в течение 3 месяцев синбиотик, наблюдалось увеличение бактериального разнообразия и снижение концентрации зонулина в образцах фекалий [108].

Появились данные о высоком уровне зонулина у пациенток с синдромом поликистозных яичников (СПКЯ), а также отмечена взаимосвязь с инсулинорезистентностью, ожирением, дислипидемией и тяжестью нарушений менструального цикла [109].

Позже опубликованы результаты исследований, в которых отмечено, что у женщин с СПКЯ без метаболического синдрома повышенного уровня зонулина не наблюдалось [109,110].

Принимая во внимание изменение кишечной микробиоты пациентов с функциональными заболеваниями кишечника, закономерно предположить у них изменения кишечной проницаемости. В исследовании, включавшем 50 человек с СРК-Д, 50 человек с СРК-З, 53 человека с целиакией и 42 здоровых добровольцев

авторы пришли к выводу о повышении уровня зонулина при СРК, причем его уровни были сопоставимы с таковыми при целиакии. Также авторы подчеркнули: уровни зонулина коррелировали с тяжестью нарушений стула при синдроме раздраженного кишечника с преобладанием диареи [11].

В еще одном недавнем исследовании (2022 г.) с участием пациентов с СРК-Д вновь отмечены повышенные уровни зонулина, а также обратная корреляция с когнцентрациями цинка в крови [12].

Экологическая энтеропатия (тропическая энтеропатия) – состояние, повсеместно распространенное среди людей, живущих в антисанитарных условиях, и связанное с постоянным фекально-оральным загрязнением, в результате приводящее к хроническому воспалению и атрофии ворсинок, чаще в проксимальных отделах кишечника. Следствием это состояния является мальабсорбция, которая приводит к задержке роста у детей [111,112,113].

R. Guerrant, A. Leite оценили фекальные, мочевые и системные биомаркеры энтеропатии и предикторы роста у 375 детей в возрасте 6–26 месяцев с различной степенью недостаточности питания. Как и предполагалось, был выявлен повышенный уровень зонулина, который также коррелировал и с задержкой роста [114].

Некротический энтероколит (НЭК) представляет собой одно из самых тяжелых осложнений у недоношенных новорожденных, характеризующееся значительной заболеваемостью и смертностью.

Повышенная проницаемость кишечника играет важную роль в патогенезе вышеуказанного заболевания [115,116,117,118].

Предварительная обработка бифидобактериями монослоев Сасо-2 перед воздействием на них липополисахарида (ЛПС) - компонента внешней стенки грамотрицательных бактерий, который индуцирует барьерную дисфункцию, активируя провоспалительные медиаторы, снижала межклеточную проницаемость за счет уменьшения высвобождения зонулина и сохранения целостности МПК [119].

В 1999 году группа исследователей отметила повышение кишечной проницаемости у пациентов с сахарным диабетом (СД) 1 типа [120].

У вида крыс, характеризующихся склонностью к спонтанному развитию СД 1 типа, отмечается повышение тонкокишечной проницаемости. Причем эта особенность обнаружена уже за 1 месяц до снижения толерантности к глюкозе, причем гистологическая картина клеток поджелудочной железы, на момент увеличения проницаемости, была в норме [121].

В модели СД 1 типа на крысах, склонных к диабету, внутрипросветные уровни зонулина в кишечнике были повышены в 35 раз по сравнению с контрольными крысами, резистентными к диабету. При введении блокаторов рецептора зонулина частота СД снижалась на 70%, несмотря на сохранение внутрипросветной активации зонулина [122].

A. Sapone, L. Magistris et al сообщают, что приблизительно у 50% людей СД 1 типа и у 25 их родственников первой степени родства отмечается увеличение зонулина в крови. Что интересно, данные изменения зафиксированы у некоторых уже на стадии преддиабета [123].

Проведено РКИ с участием детей в возрасте от 8 до 17 лет с СД 1 типа с использованием плацебо или пребиотика инулина, обогащенного олигофруктозой, в течение 12 недель. Через 3 месяца отмечалось снижение кишечной проницаемости, а также увеличение относительной численности бифидобактерий на фоне приема инулина [124].

При остром повреждении легких (ОПЛ) и остром респираторном дистресс-синдроме (ОРДС) характерна усиленная миграция компонентов плазмы в легкие, что понижает способность легких к расширению и участию в газообмене с кровью и приводит к дыхательной недостаточности.

Описано, что прегаптоглобин-2 и его агонист – АТ-1002 увеличивают проницаемость легких и усиливают острое повреждение легких. Важно, что блокировка зонулинового пути с помощью АТ-1001 или антител, нейтрализующих зонулин, способна снижать ОПЛ [125].

Хорошо известно о повышении проницаемости кишечника у людей с бронхиальной астмой (БА) [126,127]. Открывший ранее зонулин, А. Fasano описал его повышение у пациентов с БА, причем 40% из них имели повышенную кишечную проницаемость [128].

Shereen A. Baioumy et al. провели исследование «случай-контроль», в котором приняли участие пациенты с астмой, и группа контроля. Между двумя исследуемыми группами была обнаружена статистически значимая разница по уровням сывороточного IgE и сывороточного зонулина. Сделан вывод о том, что дисфункция кишечного барьера вносит вклад в патогенез аллергической астмы, а зонулин действует как прогностический фактор тяжести астмы [129].

Дисфункция кишечного барьера и развитие хронического воспаления, описаны при многих инфекциях, вызванных вирусами, к которым также относится и вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) [130,131,132]. Уменьшение уровня зонулина имеет прогностическую ценность в отношении смертности у людей с ВИЧ-инфекцией и СПИДом [133].

При лечении мышей, инфицированных адаптированным к мышам вирусом гриппа, с помощью AT1001, была отмечена более выраженная противовирусная защита и менее выраженные клинические проявления [134].

Зафиксированы более высокие уровни зонулина и липополисахаридов (ЛПС) в сыворотке крови пациентов с новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) при сравнении с группой контроля, которые значимо коррелировали. ЛПС и D-димер предсказывали тромбозы, авторы пришли к выводу, что эндотоксемия низкой степени выявляется у пациентов с COVID-19 и связана с тромботическими явлениями. Сосуществование эндотоксемии низкой степени тяжести с повышенным уровнем зонулина может указывать на повышенную проницаемость кишечника как на основной механизм [135]. Было предложено использовать AT1001 (ларазотида ацетат) в качестве терапии для пациентов с пневмонией, вызванной вирусом SARS-CoV-2 [136]. S. Micco, S. Musella et al. предложили использовать пептид AT1001 для дальнейшей разработки новых поколений противовирусных агентов для лечения COVID-19 [137]. Применение пробиотиков

может повлиять на восстановление кишечной проницаемости у пациентов с COVID-19 [138].

Ch. Li, M. Gao et al. при обследовании больных с ишемической болезнью сердца (ИБС) обнаружили не только повышение зонулина, но и бактериемию. Сделано предположение о транслокации бактерий из кишечника, учитывая его повышенную проницаемость [139].

Наблюдалось скудное микробное разнообразие у пациентов с ИБС и сахарным диабетом 2 типа (СД 2), а также более высокий уровень зонулина при сравнении с пациентами с ИБС без СД 2 [140].

У больных, страдающих рассеянным склерозом (РС), повышенная проницаемость гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) сопряжена с повышенной проницаемостью кишечника. Также отмечено, что прогрессия заболевания повышает уровни зонулина в крови, в отличие от больных с РС в момент ремиссии, у которых значения данного маркера не отличаются от здоровых добровольцев [128].

M. Nouri, A. Bredberg et al. показали на прототипной модели рассеянного склероза у мышей повышенную кишечную проницаемость, высокие уровни белка плотных контактов и изменения в морфологии кишечника (увеличение глубины крипт и толщины подслизистого и мышечного слоев) еще до появления неврологических симптомов [141].

Также описано, что концентрации зонулина связаны с прогрессированием заболевания и точно отражают разрушение ГЭБ [142].

В другом исследовании была оценена микробиота кишечника у пациентов с рецидивирующим ремиттирующим рассеянным склерозом, получающих терапию, модифицирующую заболевание, и обнаружили преобладание *Akkermansia muciniphila* и *Bacteroides vulgatus* и снижение количества *Bifidobacterium*. Авторы пришли к выводу, что изменения в микробном составе могут быть связаны с повышенной проницаемостью кишечника и влиять на клинический ответ от лечения [143].

При гистологическом исследовании ткани подвздошной кишки больных HLA-B27+ -ревматоидным спондилоартритом отмечено, что бактериальный илеит, нарушение барьера слизистой оболочки кишки и ее сосудистого барьера связаны с высоким уровнем зонулина и продуктов жизнедеятельности бактерий в кровяном русле. Кроме того отмечено, что продукты жизнедеятельности бактерий, а также зонулин оказывают влияние на активность моноцитов [144,145,146].

Количество зонулина в сыворотке было значительно повышено как при циррозе печени (ЦП), так и при гепатоцеллюлярной карциноме (ГЦК) и коррелировало с поздней стадией ЦП и ГЦК при HBV-ассоциированном хроническом гепатите. Также отмечено, что уровни зонулина и альфа-фетопротеина (АФП) существенно повышают точность диагностики при разграничении ЦП от ГЦК [147].

Экспрессия зонулина связана с разрушением гематоэнцефалического барьера и уровнем злокачественности при глиомах [148].

М. Díaz-Coránguez, J. Segovia обнаружили в линии клеток глиомы выделение большого объема зонулина, а также запуск им трансмиграции нейрональных клеток-предшественников через ГЭБ [149].

Описано увеличение концентраций зонулина и сильная их корреляция с увеличением уровня IgA (грамотрицательных бактерий) у пациентов с шизофренией. Важно отметить, что отношение IgM к зонулин + окклюдин / талин + актин + викулин значительно выше при дефицитной, чем при недефицитной шизофрении [150].

При исследовании зонулина и клаудина-5 в сыворотке крови у людей с шизофренией были отмечены их высокие уровни и снижение клаудина-5, что также говорит о возможной роли этих маркеров в патогенезе данного заболевания [151].

Предположена роль зонулина в развитии симптомов детского аутизма, учитывая наличие взаимосвязи между повышением зонулина и результатами шкалы оценки детского аутизма [152]. Дети с расстройствами аутистического спектра и желудочно-кишечными симптомами имеют повышенные уровни провоспалительных цитокинов и сниженные уровни регулярных [153]. Позднее S.

Karagözlü, B. Dalgıç, E. İşeri также описали связь между тяжестью желудочно-кишечных симптомов и тяжестью аутизма у детей [154].

Bruce R Stevens et al. описали изменение микробного разнообразия кишечника у людей с депрессивными или тревожными расстройствами. Кроме того, были отмечены повышенные уровни ЛПС, зонулина и кишечного белка-2, связывающего жирные кислоты (FABP2) в крови, что предполагает роль повышенной эпителиальной проницаемости кишечника в патогенезе развития этих заболеваний [155].

Были обследованы 22 пациента с большими депрессивными расстройствами (БДР) без сопутствующих заболеваний и 14 здоровых людей обоего пола. У пациентов с БДР обнаружены изменения в циркулирующих моноцитах с увеличением промежуточной подгруппы и увеличением частоты клеток, продуцирующих IL-1 β и IL-6. Также у данной группы наблюдалось системное провоспалительное состояние, которое характеризовалось повышением TNF- α и IL-1 β в сыворотке. Кроме того, у пациентов с БДР наблюдались повышенные уровни LPS-связывающего белка и белка, связывающего кишечные жирные кислоты по сравнению со здоровыми людьми, что говорит об усиленной бактериальной транслокации и нарушении кишечной проницаемости [156].

Отмечены значительно более высокие концентрации зонулина в плазме у пациентов с сепсисом по сравнению с группой послеоперационного контроля, а также с группой здоровых добровольцев [157].

Описано, что лечение пробиотиками до и после операции может снизить уровень зонулина в сыворотке крови и частоту послеоперационной септицемии [158].

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Клиническая часть исследования

Критерии включения пациентов в исследование:

1. Наличие письменного информированного согласия пациента на участие
2. Мужчины и женщины в возрасте старше 18 лет;
3. Установленный диагноз функционального заболевания ЖКТ (СРК-Д, СРК-З, ФЗ, ФД);

Критерии невключения пациентов в исследование:

1. Пациенты моложе 18 лет;
2. Беременность, кормление грудью;
3. Применение в течение последних 4х недель: антибактериальных препаратов, глюкокортикостероидов (ГКС), пре- и пробиотиков; ингибиторов протонной помпы, метформина.
4. Прочие условия, которые по мнению исследователя препятствуют включению добровольца в исследование или могут привести к досрочному выбыванию добровольца из исследования;
5. Онкологические заболевания;
6. Тяжелые заболевания печени и почек;

Критерии исключения пациентов из исследования:

1. Отказ пациента от дальнейшего участия в исследовании;
2. Беременность;
3. Возникновение в ходе исследования иных причин, препятствующих проведению исследования;
4. Несоблюдение рекомендованно режима применения препарата;

2.2. Клиническая характеристика больных

В рамках исследования был обследован 131 пациент. Согласно критериям включения и невключения, в исследование было включено и успешно его завершило 108 человек, клиническая характеристика которых представлена в Таблице 1.

Таблица 1 - Общая клиническая характеристика больных, включенных в исследование

Показатель	Количество в группе	Доля от всей группы (%)
Средний возраст, М (σ)	63,16 лет (19,41)	
В т.ч.		
22-40 лет	21	19,44
41-60 лет	48	44,44
61-80 лет	30	27,78
Старше 81 года	9	8,33
Мужчины	40	37,04
Женщины	68	62,96

Основная возрастная категория пациентов, включенных в исследование - от 41 до 60 лет, составила 48 пациентов или 44,44%, что составляет практически половину от общего числа включенных в исследование. Вторая по численности группа – 61-80 лет - 27,78% от общего количества. 21(19,44%) пациент соответствовал возрастной категории от 22 до 40 лет, а самой малочисленной оказалась группа старше 81 года и в процентном соотношении равнялась 8,33%. Средний возраст всех пациентов равен 63,16 (19,41) годам. Женщины составляли 62,96% (68 человек) от общей доли, мужчины – 37,04% (40) соответственно.

Далее, в таблице 2, представлена клиническая характеристика пациентов, согласно исследуемым функциональным заболеваниям кишечника.

Таблица 2 - Клиническая характеристика пациентов, включенных в исследование

Показатель	СРК-Д	СРК-З	ФД	ФЗ
Средний возраст М (σ)	45(5,4)	47(3,6)	66(6,1)	71(5,8)
Количество пациентов	28	27	27	26
В том числе:				
от 22 до 40 лет	11	7	1	2
от 41 до 60 лет	16	19	6	7
от 61 до 80 лет	-	-	14	16
Старше 81 года	-	-	7	2
Мужчины	11	8	9	12
Женщины	16	18	19	15
Длительность заболевания				
От 3 до 6 месяцев	-	-	8	4
От 6 месяцев до 1 года	19	17	16	13
От 1 года до 3 лет	8	9	4	10
Количество пациентов с болевым синдромом	27	26	7	11
Частота возникновения боли				

Продолжение таблицы 2

Реже 1 раза в неделю	-	-	2	5
1 раз в неделю	3	4	1	2
Более 1 раза в неделю	10	12	3	3
Каждый день	13	10	1	1
Тип стула по Бристольской шкале				
Более чем в 25 % дефекаций форма стула 1–2 тип	-	26	-	27
Более 25% дефекаций форма стула 6-7 тип	27	-	28	-
Частота стула				
1 раз в 3-4 дня	-	15	-	6
1 раз в 4-7 дней	-	7	-	13
Реже 1 раза в неделю	-	4	-	8
3-4 раза в сутки	18	-	21	-
Более 4 раз в сутки	9	-	7	-

53 больным был установлен диагноз СРК (27 с СРК-Д и 26 с СРК-3), 28 – страдали ФД и 27 – ФЗ соответственно. На каждое из заболеваний приходилось около 25% больных.

Длительность течения заболеваний колебалась от 3 месяцев до 3 лет. Основной группе пациентов диагноз был установлен в течение 6-12 месяцев.

Одним из основных синдромов у больных с функциональными заболеваниями кишечника является болевой. Согласно нашим данным, 71 человек

отметил появление жалоб на боль в животе: все пациенты с СРК (53 человека), 7 пациентов с ФД и 11 с ФЗ соответственно. Стоит отметить, что для ФЗ и ФД эта жалоба не была основной, однако значительно снижала качество жизни. При оценке частоты возникновения боли, 28 пациентов отмечали ее более 1 раза в неделю, а 25 – каждый день.

Мы проанализировали тип стула согласно Бристольской шкале: более чем в 25 % дефекаций форма стула 1–2 тип был у СРК-З и ФЗ и более 25% дефекаций форма стула 6 -7 тип у СРК-Д и ФД, что соответствовало Римским критериям IV постановки вышеуказанных диагнозов. Также мы оценили частоту стула, которая варьировала от 1 раза в 3-4 дня до более чем 4 раза в сутки. Более подробно распределение частоты стула среди пациентов можно оценить в таблице.

Проведен анализ сопутствующих заболеваний, ранее диагностированных и отраженных в медицинской документации: более половины пациентов имели гипертоническую болезнь – 62 человека (57,41%), у 31 (29,63%) встречалась ишемическая болезнь сердца (ИБС), 10 (9,26%) – СД 2 типа и около 20% в общей сумме приходилось на бронхиальную астму, хроническую обструктивную болезнь легких, гипотиреоз, мочекаменную болезнь, нарушения ритма и проводимости сердца.

Среди сопутствующих заболеваний гастроэнтерологического профиля вне обострения отмечены: 21 человек с дивертикулярной болезнью (19,44%), 10 человек с гиперпластическими полипами толстой кишки (9,26%), 2 пациента с желчекаменной болезнью (1,85%), 4 с гастроэзофагельной рефлюксной болезнью (3,70%), а также 6 человек с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки в анамнезе (5,56%).

Более наглядно данные о сопутствующих заболеваниях представлены в таблице 3.

Таблица 3 - Сопутствующие заболевания

Заболевание	Количество человек	Доля от всей группы (%)

Продолжение таблицы 3

Гипертоническая болезнь	62	57,41
Ишемическая болезнь сердца	31	29,63
Сахарный диабет II типа	10	9,26
Бронхиальная астма	3	2,78
Хроническая обструктивная болезнь легких	5	4,63
Гипотиреоз	7	6,48
Дивертикулярная болезнь толстой кишки (вне обострения)	21	19,44
Гиперпластический полип толстой кишки	10	9,26
Желчекаменная болезнь (вне обострения)	2	1,85
Мочекаменная болезнь	3	2,78
АВ-блокада	2	1,85
Гастроэзофагельная рефлюксная болезнь (вне обострения)	4	3,70
Язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки (в анамнезе)	6	5,56
Мерцательная аритмия	14	2,96

Все сопутствующие заболевания находились вне обострения и не требовали дополнительной терапии или изменения проводимого лечения. В таблице 4 описаны препараты, принимаемые пациентами, включенными в исследование.

Таблица 4 - Принимаемые препараты

Принимаемые препараты	Количество человек	Доля от всей группы (%)
-----------------------	--------------------	-------------------------

Продолжение таблицы 4

Антагонисты рецепторов ангиотензина II (лозартан, валсартан, олмесартан); Ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента (периндоприл, эналаприл, каптоприл)	62	57,41
В-блокаторы (бисопролол)	18	16,67
Блокаторы кальциевых каналов (амлодипин, нифедипин)	45	41,67
Антагонист рецепторов глюкагона (семаглутид)	2	0,93
Диуретики (индапамид, фуросемид, торасемид)	38	35,19
L-тироксин	7	6,48
Ингибиторы ГМГ-КоА-редуктазы (аторвастатин, симвастатин)	34	31,48
Препараты инсулина	8	4,63
Антиагреганты (Клопидогрел, ацетилсалициловая кислота)	15	13,89
Антикоагулянты (апиксабан, ривароксабан)	14	2,96
Гликозиды (дигоксин)	1	0,93

Учитывая наличие гипертонической болезни у большей части пациентов, наиболее часто отмечен прием антагонистов рецепторов ангиотензина II и ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента (57,41%), В-блокаторов (16,67%), блокаторов кальциевых каналов (41,67%). Также для лечения заболеваний со стороны сердечно-сосудистой системы использовались диуретики (35,19%), ингибиторы ГМГ-КоА-редуктазы (31,48%), антиагреганты (13,89%), антикоагулянты (2,96%), гликозиды (0,93%). Менее 10 % доли от общей группы приходилось на L-тироксин (6,48%), антагонист рецепторов глюкагона (1,86%), препараты инсулина (7,4%).

Всем пациентам, включенным в исследование, были проведены общий клинический и биохимический (общий белок, билирубин общий и прямой, аспартатаминотрансфераза (АСТ), аланинаминотрансфераза (АЛТ), щелочная фосфатаза (ЩФ), гамма-глутамилтрансфераза (ГГТ), глюкоза, креатинин) анализы крови.

Лабораторные показатели не выходили за референсные значения или в целом отражали состояния больных, связанные с сопутствующими заболеваниями.

Средние значения показателей общего анализа крови представлены в таблице 5.

Таблица 5 - Клинический анализ крови

Показатель	Среднее значение	SD
НВ (г/л)	129,88	11,42
Лейкоциты ($10^9/\text{л}$)	5,48	1,69
Лимфоциты($10^9/\text{л}$)	1,86	0,64
Тромбоциты $10^9/\text{л}$)	246,66	51,04
СОЭ (мм/ч)	14,07	9,89
Гематокрит (%)	43,03	5,43
Эритроциты ($10^{12}/\text{л}$)	4,54	1,15

Результаты исследования клинического анализа крови свидетельствуют об отсутствии значимой для исследования патологии при включении в исследование.

Средние значения показателей биохимического анализа крови представлены в Таблице 6.

Таблица 6 - Биохимический анализ крови

Показатель	Среднее значение	SD
------------	------------------	----

Продолжение таблицы 6

АЛТ(МЕ/л)	19,67	7,81
АСТ(МЕ/л)	20,90	5,82
ГГТ(МЕ/л)	29,10	21,61
ЩФ(МЕ/л)	125,43	44,94
Креатинин (мкмоль/л)	84,93	12,79
Глюкоза (мкмоль/л)	4,63	0,68
Билирубин общий (мкмоль/л)	16,58	3,64
Билирубин прямой (мкмоль/л)	3,69	1,82
Общий белок (мкмоль/л)	72,83	7,77

Результаты исследования биохимического анализа крови находятся в пределах референсных значений и свидетельствуют об отсутствии значимой для исследования патологии при включении в исследование.

Также всем пациентам были выполнены инструментальные методы обследования: ультразвуковое исследование органов брюшной полости (УЗИ ОБП), эзофагогастродуоденоскопия (ЭГДС), видеоколоноскопия с осмотром терминального отдела подвздошной кишки. Было исключено наличие сопутствующей патологии со стороны пищевода, желудка, двенадцатиперстной кишки, терминального отдела подвздошной и толстой кишки, и обострение ранее установленных хронических заболеваний органов ЖКТ, приведенных ранее в таблице 3.

2.3. Методы исследования

Дизайн исследования представлен на Рисунке 1.

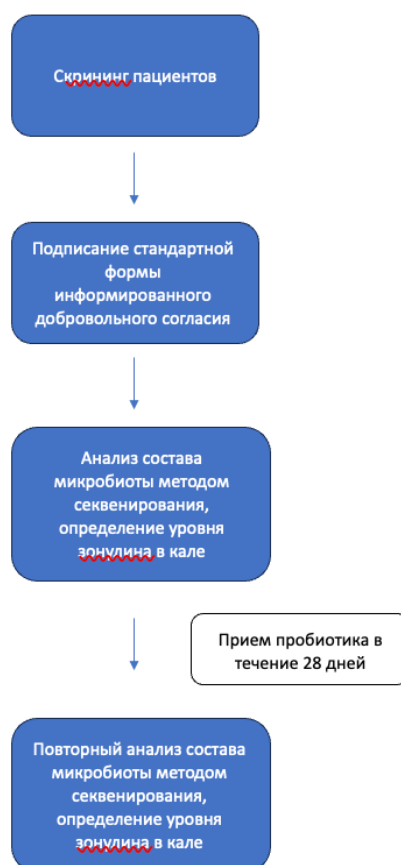


Рисунок 1 - Дизайн исследования

Всем пациентам, включенным в исследование, был проведен клинический осмотр со сбором жалоб, анамнеза жизни и заболевания, общий и биохимический анализ крови (общий белок, билирубин общий и прямой, АСТ, АЛТ, ЩФ, ГГТ, глюкоза, креатинин,), исследование уровня зонулина в кале до и через месяц после приема пробиотика, а также 17 пациентам с СРК выполнено секвенирование микробиоты до и через месяц после приема пробиотиков.

С целью динамики симптомов заболеваний до и после приема пробиотиков, пациентам было предложено заполнить гастроэнтерологический опросник качества жизни (GSRS).

Также всем пациентам было выполнено ультразвуковое исследование органов брюшной полости и колоноскопия с осмотром терминального отдела подвздошной кишки. Объем дополнительных лабораторных и инструментальных исследований определялся диагнозами пациентов.

2.4. Критерии постановки диагноза

Основными критериями для установки диагнозов являлись:

- Наличие характерных симптомов заболевания в течение последних 3х месяцев и не менее 6 месяцев всего.
- Возраст от 18 до 50 лет для пациентов с установленным диагнозом СРК.
- Отсутствие органических заболеваний по данным лабораторных и инструментальных методов исследования, которые могут послужить причиной возникновения этих симптомов

Диагнозы установлены согласно Римским критериям IV [17], а также клиническим рекомендациям по диагностике и лечению синдрома раздраженного кишечника Российской гастроэнтерологической ассоциации и Ассоциации колопроктологов России [159], клиническим рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению взрослых пациентов с хроническим запором [160], клиническим рекомендациям по лечению хронических диареи у взрослых [161].

2.5. Проводимая терапия функциональных заболеваний кишечника

Лечение функциональных заболеваний кишечника проводилось согласно клиническим рекомендациям по диагностике и лечению синдрома раздраженного кишечника Российской гастроэнтерологической ассоциации и Ассоциации колопроктологов России [159], клиническим рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению взрослых пациентов с хроническим запором [160], клиническим рекомендациям по лечению хронических диареи у взрослых [161]. Медикаментозные препараты, назначенные для лечения функциональных заболеваний кишечника представлены в таблице 7.

Таблица 7 - Препараты, назначенные для лечения функциональных заболеваний кишечника

Принимаемые препараты	Количество человек	Доля от всей группы (%)
Миотропные спазмолитики (мебеверин, дротаверин)	60	55,56
Подорожника овального семян оболочка	53	49,07
Смектит диоктаэдрический	55	50,93

С целью купирования болевого синдрома у 60 человек (55,56%) применялись миотропные спазмолитики, а для коррекции стула - подорожника овального семян оболочка и смектит диоктаэдрический – 53 и 55 человек (49,07% и 50,93% соответственно) [162].

Кроме того, всем больным на 28 дней назначалась терапия пробиотиком в составе: *Lactobacillus acidophilus* 1,25 x 10⁹ КОЕ, *Bifidobacterium lactis* - 1,25 x 10⁹ КОЕ, *Lactobacillus paracasei* - 1,25 x 10⁹ КОЕ, *Lactobacillus rhamnosus* - 1,25 x 10⁹ КОЕ. Режим назначения – по 1 капсуле 2 раза в сутки после приема пищи.

2.6. Оценка клинических проявлений функциональных заболеваний кишечника и клинической эффективности терапии

Оценка выраженности клинических проявлений и клинической эффективности терапии проводилась при помощи Gastrointestinal Symptom Rating Scale (GSRS).

Использовалась русскоязычная версия опросника GSRS валидизирована исследователями Межнационального центра исследования качества жизни (МЦИКЖ, Санкт-Петербург) [163].

Опросник содержит 15 вопросов, сгруппированных в 5 шкал: абдоминальная боль (1,4,5 вопрос), синдром гастроэзофагеального рефлюкса (2,3 вопрос), диспепсический синдром (6,7,8,9 вопросы), диарейный синдром (11,12,14 вопросы) синдром запора (10,13,15 вопросы). Каждый из вопросов можно оценить по шкале от 1 до 7, где 1 - означает отсутствие неприятных симптомов, а 7 - очень неприятные симптомы. Пациенту предлагается выбрать в каждом разделе утверждение, которое наиболее близко характеризует его состояние. Максимальная сумма баллов составляет 105. После заполнения пациентом опросника все баллы суммируются — общий балл, далее суммируются ответы по шкалам. Более высокие значения соответствуют более выраженным симптомам и более низкому показателю качества жизни.

В нашем исследовании оценивались шкалы абдоминальной боли, диарейного синдрома и синдрома запора.

2.7. Лабораторные методы исследования

2.7.1. Общий анализ крови

Гематологические показатели определяли на автоматическом гематологическом анализаторе «ADVIA 2120» (Siemens, США).

За референсные значения принимались нормальные показатели, принятые лабораторией: количество лейкоцитов – $4,0 - 9,0 \cdot 10^9/\text{л}$, гемоглобин общий – 126 - 174 г/л, гематокрит – 37,0 – 51,0 %, количество эритроцитов – $3,8 - 5,8 \cdot 10^{12}/\text{л}$, количество тромбоцитов – $150 - 400 \cdot 10^9/\text{л}$. Лимфоциты - $1-4,8 \cdot 10^9/\text{л}$, СОЭ - 0-20 мм/час.

2.7.2. Биохимический анализ крови

Биохимические показатели определяли на автоматическом биохимическом анализаторе выборочного действия «Advia-1800» (Siemens, США).

За референсные значения принимались нормальные показатели, принятые лабораторией: общий белок – 66,0 – 83,0 г/л, билирубин общий – 5,0-21,0 мкмоль/л, билирубин прямой ≤ 5 мкмоль/л, глюкоза – 4,1 – 5,9 ммоль/л, АЛТ – 0 – 40 ЕД/л, АСТ – 0 – 40 ЕД/л, ГГТ – 6 – 42 ЕД/л, ЩФ – 40 – 130 ЕД/л, креатинин 58 – 110 мкмоль/л.

2.7.3. Исследование микробиоты

Пробы отбирались в стерильные контейнеры с крышкой для сбора кала и сохранялись в морозильной камере при температуре - 33 °С. За сутки до проведения секвенирования, контейнеры помещались в холодильник температурой + 3°С для постепенной разморозки. Далее необходимое количество материала переносилось в пробирки, предоставленные лабораторией, при помощи стерильного тупфера.

Методика секвенирования: выделение ДНК набором QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit, приготовление библиотек набором BGI (регионы V3-V4), секвенирование на приборе DNBSeg G-400.

Анализ числа, длины и качества прочтений выполнен с помощью программы FastQC v0.11.5.

На этапе предобработки прочтения подвергались фильтрации по следующим этапам:

1. Удаление прочтений со средним QC на протяжении всей длины прочтений менее 32.
2. Удаление участков начиная с позиции 1 до 17.

После предварительной обработки проведен количественный таксономический анализ путем определения - какой известной бактерии принадлежит каждое прочтение 16S рРНК или его региона.

Наиболее точный подход к таксономической классификации опирается на базовое понятие варианта последовательности ампликона (ASV, англ. amplicon sequence variant) – определение бактериального вида или иного таксономического

ранга на основании полной амплифицированной последовательности. Ранее в анализах последовательности предварительно подвергались кластеризации по заданному порогу сходства (обычно 97%), что приводило к потерям таких таксономических групп бактерий, которые различались между собой на 1 или пару нуклеотидов.

Филогенетический состав бактериальных сообществ на разных таксономических уровнях определяли в ходе сравнения нуклеотидных последовательностей 16S рРНК с эталонными последовательностями рРНК из базы данных GTDB.

Для количественной оценки биоразнообразия был произведен расчет индекса разнообразия Шеннона для всех образцов с использованием пакета phyloseq.

Исследование микробиоты было проведено в лаборатории "Геномед". Автор приносит благодарность сотрудникам лаборатории за помощь в проведении исследования.

2.7.4. Исследование уровня зонулина

Для подготовки образцов кала использовался набор Immundiagnostik Stool preparation system.

В пустые пробирки вносили 1,5 мл экстракционного буфера комнатной температуры. Далее при помощи щупа в пробирку переносились 15 мг образца кала. Закрыв пробирки встряхивались до образования суспензии.

В полученной суспензии проводили исследование концентрации зонулина методом иммуноферментного анализа при помощи Human zonulin ELISA kit zonulin, 96 (BlueGene Biotech Shanghai (КНР)). Значения уровня зонулина оценены согласно рекомендациям производителя наборов для определения уровня зонулина:

- в пределах референтных значений – менее 83,5 нг/мл
- повышенный уровень – от 83,5 до 110 нг/мл
- высокий уровень – более 110 нг/мл).

2.8. Инструментальные исследования

При наличии показаний и/или для подтверждения диагноза функционального заболевания кишечника больным проводилось инструментальное обследование

2.8.1. Ультразвуковое исследование органов брюшной полости

УЗИ ОБП проводилось на УЗИ-аппарате Mindray Resona I9.

Во время исследования визуализировались желчный пузырь и желчные протоки, печень, поджелудочная железа, селезенка. Оценивались их размер, эхогенность, толщина стенок, наличие гиперэхогенных включений и различных образований, а также наличие или отсутствие свободной жидкости в брюшной полости.

2.8.2. Эзофагогастродуоденоскопия

ЭГДС выполнялась на гастроинтестинальном видеоскопе Olympus GIF-Q180. При исследовании проводилась визуальная оценка состояния слизистой пищевода, желудка и 12-перстной кишки, оценивалось наличие/отсутствие язвенных и эрозивных дефектов, новообразований. При необходимости проводилась прицельная биопсия слизистой с последующим патоморфологическим исследованием. Для описания результатов эндоскопического исследования использовалась номенклатура OMED.

2.8.3. Видеоколоноскопия

Видеоколоноскопия выполнена на видеоколоноскопе Pentax EC-3890Fi. При проведении исследования проводилась визуальная оценка слизистой толстой кишки, наличие/отсутствие язвенных или эрозивных дефектов, новообразований и других изменений слизистой. При необходимости проводилась прицельная биопсия с последующим патоморфологическим исследованием.

2.9. Методы статистического анализа

Статистическую обработку полученных результатов проводили при помощи пакета статистических программ «MedCalc» версия 18.11. Характер распределения полученных результатов определяли по критерию Шапиро-Уилка. При наличии нормального распределения результаты представляли в виде средней (M) и среднего квадратичного отклонения (σ) и 95% доверительного интервала среднего значения. Достоверность разницы значений определяли по критерию t -Стьюдента для независимых выборок, и парному критерию t -Стьюдента для зависимых выборок данных. При не нормальном распределении результаты представляли в виде медианы (Mo), минимального (Min) и максимального (Max) значения показателей, 95% доверительного интервала медианы и/или 25%-75% процентиля значений. Статистическую значимость разницы значений в данном случае оценивали по критерию Манна-Уитни для независимых групп и критерию Уилкоксона для значений до и после лечения.

Достоверность разницы выборочных дисперсий определяли по критерию χ^2 или критерию Фишера. Для установления статистической зависимости проводили корреляционный анализ по Пирсону и /или ROC анализ зависимости. Для уточнения статистически значимых рисков рассчитывали однофакторный относительный риск (ОР) по формуле $OR = A * (C + DD) / C * (A + B)$, где A , B , C и D – количество наблюдений в ячейках таблицы сопряженности.

Результаты исследования считали статистически значимыми при ошибке первого рода $\alpha \leq 0,05$ и ошибке второго рода $1 - \beta = 0,2$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Уровень зонулина в кале у пациентов с функциональными заболеваниями кишечника

Согласно задачам исследования уровень зонулина был определен в пробах кала у 108 больных с функциональными заболеваниями кишечника. Уровень зонулина в кале колебался от 13,6 до 458,5 нг/мл, статистически значения не подчинялись правилу нормального распределения, график распределения уровня зонулина в обследованной группе больных представлен на рисунке 2.

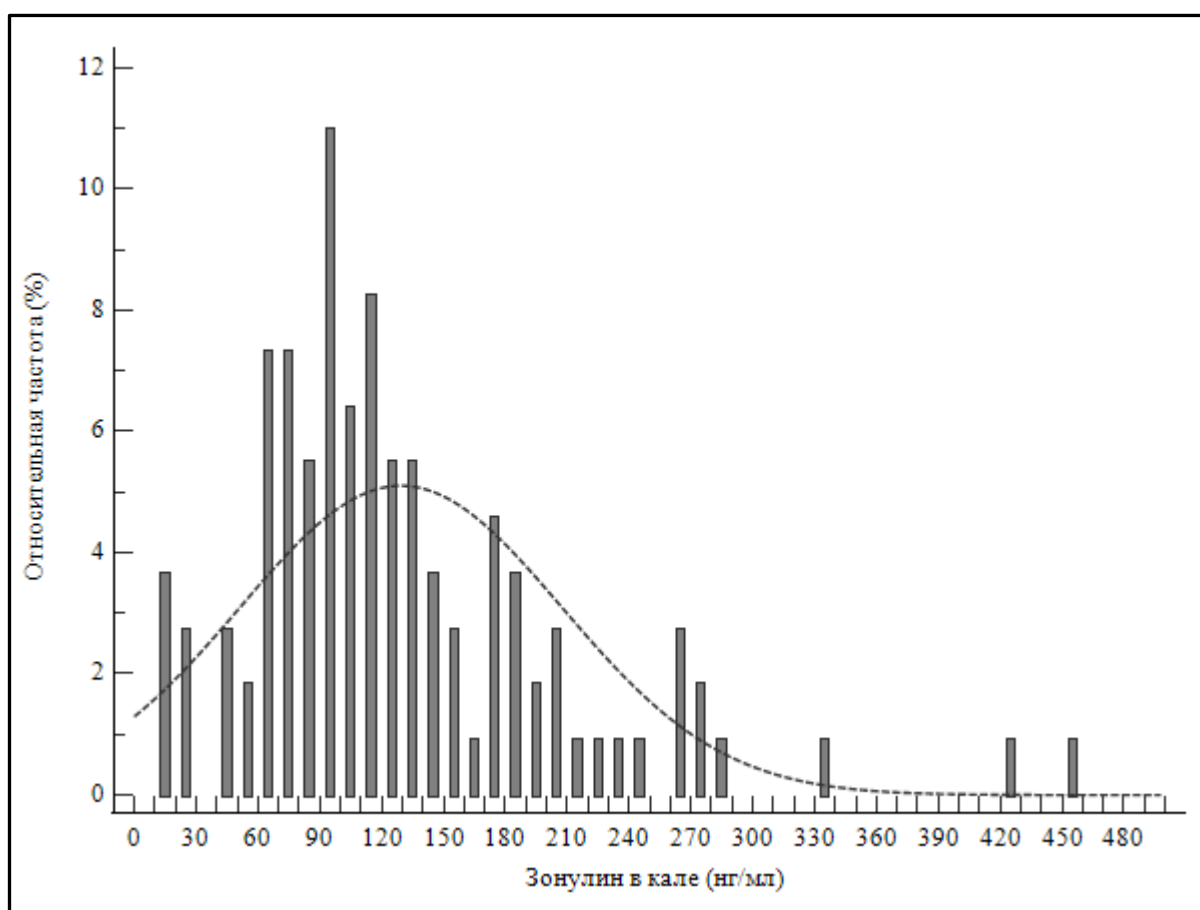


Рисунок 2 - Распределение больных с функциональными заболеваниями кишечника по уровню зонулина

Медиана значений составляла 113,5 (98,6-122,9; ДИ 95%) нг/мл. В таблице 8 представлены результаты статистического анализа уровня зонулина в кале.

Таблица 8 - Уровень зонулина в кале у больных с функциональными заболеваниями кишечника

Статистические показатели	Зонулин (нг/мл)
Количество больных	108
Минимум	13,6
Максимум	458,5
Медиана (Мо)	113,5
95% ДИ для Мо	от 98,6 до 122,9
25%—75 % процентиль	от 79,7 до 167,9
М(σ)	129,3 (78,1)
Достоверность распределения по критерию Шапиро-Уилка	<0,0001

Был проанализирован уровень зонулина в кале в зависимости от установленного диагноза: синдром раздраженного кишечника с диареей (СРК-Д), синдром раздраженного кишечника с запором (СРК-З), функциональная диарея (ФД), функциональный запор (ФЗ). Значения уровня зонулина в кале в данных подгруппах больных представлены в таблице 9.

Таблица 9 - Уровень зонулина в кале у больных с различными функциональными заболеваниями кишечника

Показатели	Зонулин в кале (нг/мл)			
	СРК-Д	СРК-З	ФЗ	ФД
Количество больных	28	27	26	27
Минимум	51,7	20,8	13,6	65,6
Максимум	458,5	244,9	200,4	428,5
М (σ)	148,8(91,9)	98,5(54,2)	105,8(54,3)	161,5(86,2)
95% ДИ для М	от 113,1 до 184,4	от 77,1 до 119,9	от 83,8 до 127,7	от 128,1 до 194,9
Мо	121,7	89,4 ^{1,2}	107,6 ^{1,2}	130,3

Продолжение таблицы 9

95% ДИ для Мо	от 98,2 до 151,5	от 65,9 до 115,1	от 91,8 до 127,7	от 104,3 до 195,7
25—75 процентиль	от 86,4 до 182,6	от 62,6 до 126,3	от 83,8 до 138,9	от 93,0 до 212,3
Достоверность распределения по критерию Шапиро- Уилка	0,0004	0,1382	0,1831	0,0031

1-достоверность разницы среди пациентов с СРК-Д и СРК-З, ФЗ согласно Манна-Уитни, $p \leq 0,05$

2- достоверность разницы среди пациентов с ФД и СРК-З, ФЗ согласно Манна-Уитни, $p \leq 0,05$

Распределение больных с функциональными заболеваниями кишечника представлено на рисунке 3.

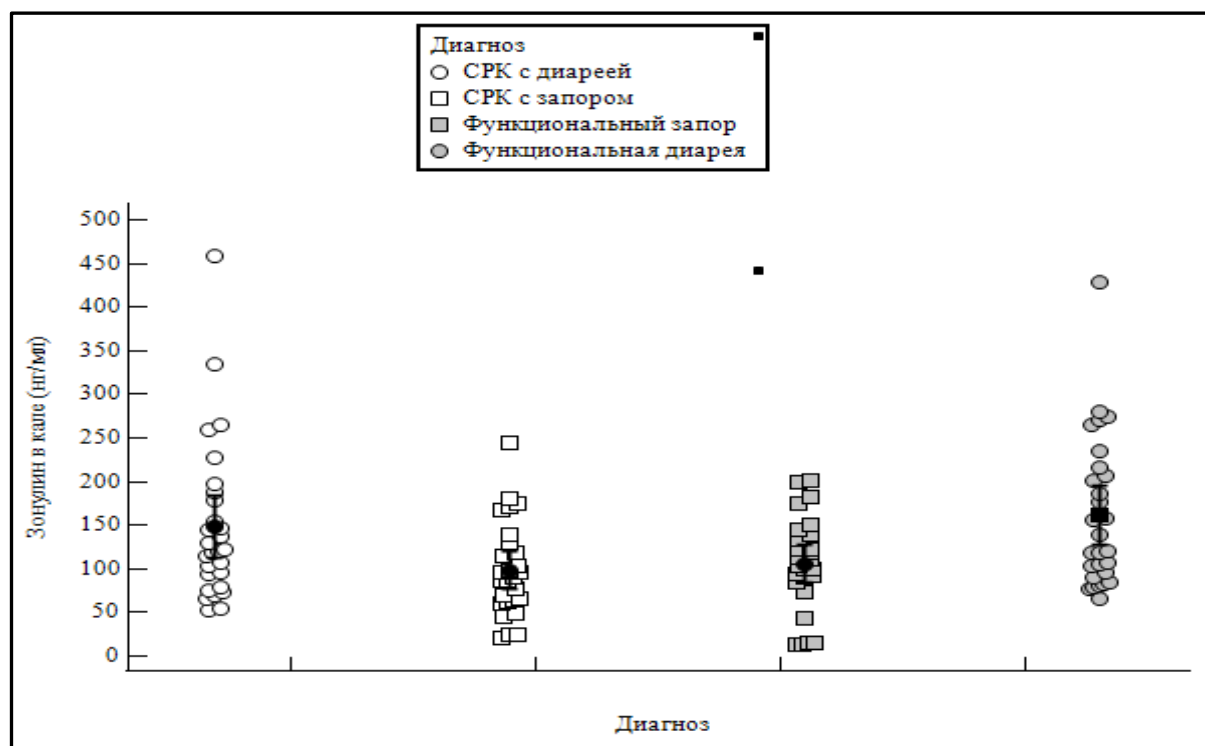


Рисунок 3 - Распределение больных функциональными заболеваниями кишечника по уровню зонулина в кале

У больных с ФД отмечались наиболее высокие значения зонулина, значения колебались от 65,6 до 428,5 нг/мл, медиана значений составляла 130,3(104,3-195,7;

ДИ 95%) нг/мл. У больных с СРК-Д уровень зонулина в кале составлял от 51,7 до 458,5 нг/мл, медиана значений составляла 121,7(98,2 – 151,5; ДИ 95%) нг/мл. Статистически значимой разницы по уровню зонулина между больными ФД и СРК-Д не отмечалось.

Уровень зонулина в кале при ФЗ составлял от 13,6 до 200,4 нг/мл, средние значения составляли 105,8(83,8 – 127,7) нг/мл, и были статистически значимо ниже по сравнению с больными с ФД ($p=0,028$), и больными СРК-Д ($p=0,049$).

У больных с СРК-З был определён уровень зонулина от 20,8 до 244,9 нг/мл и в среднем составлял 98,5(77,1 – 119,9; ДИ 95%), и был статистически значимо ниже, чем у больных с ФД ($p=0,002$) и СРК-Д ($p=0,016$).

Между уровнем зонулина у больных с ФЗ и СРК-З статистически значимой разницы не было ($p=0,71$), но уровень зонулина у больных с ФЗ был выше.

Не отмечалось зависимости уровня зонулина от возраста. Коэффициент корреляции между уровнем зонулина и возрастом больных составил $r_p=-0,173$; $p=0,07$. Так же мы не отмечалось значимой статистической разницы уровня зонулина между мужчинами и женщинами. Медиана зонулина у женщин составляла 139,1(107,9-186,6; ДИ 95%) нг/мл против 128,4 (106,3-178,6; ДИ 95%) нг/мл у мужчин ($p=0,224$).

Согласно рекомендаций производителя наборов для определения уровня зонулина мы распределили больных по трем подгруппам: 1-ая -уровень зонулина в пределах референтных значений (менее 83,5 нг/мл); 2-ая- повышенный уровень (от 83,5 до 110 нг/мл); 3-я-высокий уровень зонулина (более 110 нг/мл).

На рисунке 4 представлено распределение больных относительно референтных значений в подгруппах больных в зависимости от диагноза функционального заболевания кишечника.

Всего из 108 больных с функциональными заболеваниями кишечника уровень зонулина в кале в пределах референтных значений оставался у 30(28%) больных, повышенный уровень отмечался у 24(22%) больных, а высокий уровень зонулина был определен у 54(50%) больных.

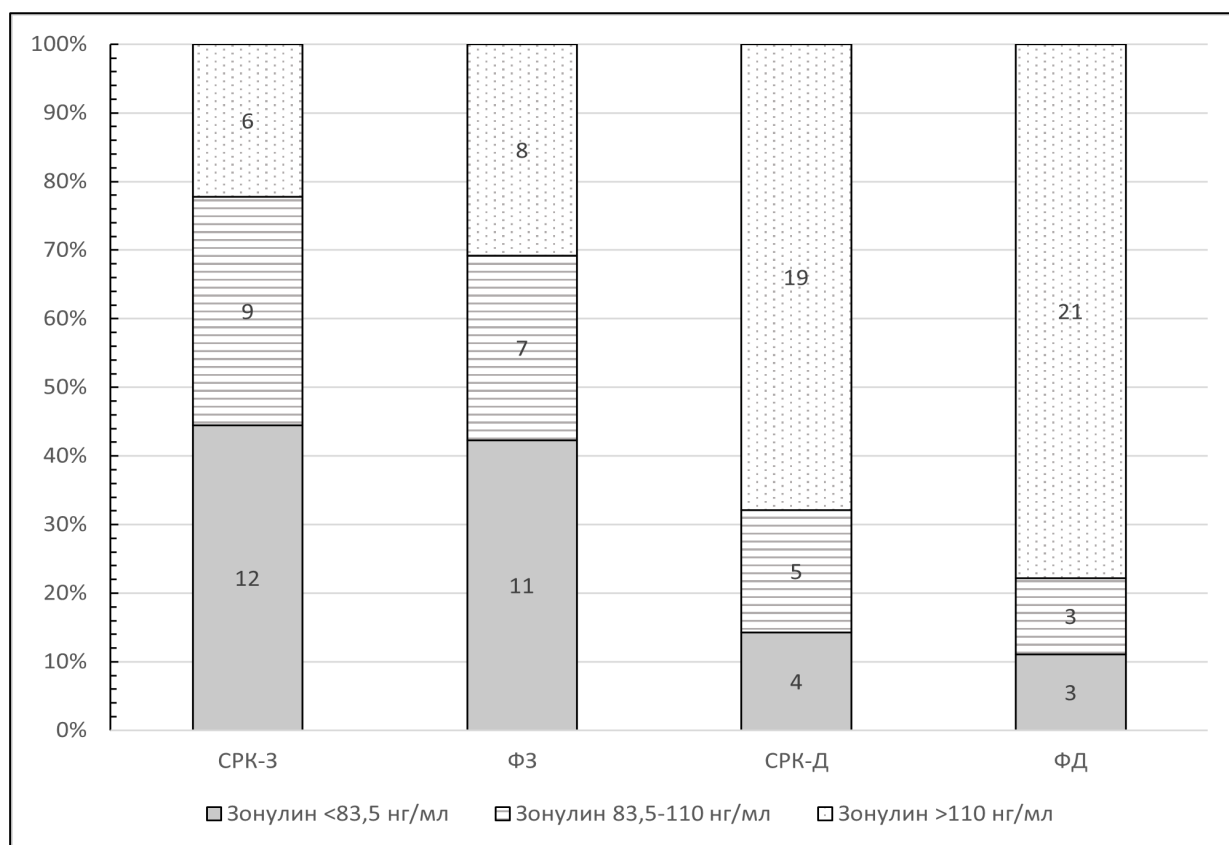


Рисунок 4 – Распределение больных с функциональными заболеваниями кишечника по уровню зонулина в кале

У больных с СРК-З у 12(44,4%) больных уровень зонулина остается в пределах референтных значений, у 9(33,3%) больных уровень зонулина был повышен и у 6(22,3%) был высоким. У больных ФЗ у 11(42,0%) больных сохранялся нормальный уровень зонулина в кале, у 7(27,0%) был повышен, а у 8(31,0%) отмечался высокий уровень зонулина в кале.

У больных СРК-Д преимущественно отмечалось повышение уровня зонулина у 5(18,0%) он был повышен и у 19(68,0%) высокий, уровень зонулина в пределах референтных значений сохранялся у 4(14,0%) больных. Похожая тенденция отмечалась и у больных с ФД у 21(78,0%) больных отмечался высокий уровень зонулина, у 3(11,0%)-повышен, у 3(11,0%) в пределах референтных значений.

Таким образом у больных с СРК-Д статистически значимо чаще отмечалось повышение уровня зонулина выше референтных значений, по сравнению с СРК-З 86,0% vs 55,6% ($p=0,019$; по критерию Фишера) и по сравнению с ФЗ 86,0% vs

58,0% ($p=0,033$; по критерию Фишера). У больных с ФД так же отмечалась статистическая значимая разница по частоте повышения зонулина в кале 81,0% vs 55,6% ($p=0,013$; по критерию Фишера) между больными СРК-З и ФД, и 81% vs 58,0% между больными ФЗ и ФД ($p=0,014$; по критерию Фишера). Между больными с СРК-З и ФЗ, так же как и между больными с СРК-Д и ФД статистически значимой разницы не отмечалось достоверность разницы по критерию Фишера составляла $p=1,0$ в обоих случаях.

Проведенное исследование убедительно показало, что наличие функционального заболевания кишечника сочетается с изменением уровня зонулина в кале. Наиболее значимой тенденция к повышению уровня зонулина была характерна для больных с диарейным синдромом СРК-Д и ФД.

3.2. Микробиота кишечника у пациентов с синдромом раздраженного кишечника

В рамках выполняемого исследования у 17 больных с СРК было проведено исследование микробиоты. Результаты исследования представлены в таблице 10. По результатам метагеномного секвенирования 16S рРНК у всех пациентов были обнаружены бактерии типов: Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroidota, Actinobacteriota, Verrucomicrobiota. Наибольшую долю составляли Proteobacteria – 53,1%. Бактерии типа Firmicutes составляли 37,2%. У 12 человек, что составляет более половины от всей исследуемой группы, обнаружены Patescibacteria, однако, их доля составляла менее 1%. Остальные бактерии типов Chanoflexi, Campylobacterota, Мухосoccota, Acidobacteriota, Deferribacterota, Cyanobacteria у 9 и менее больных, и их доля также составила менее 1%.

При анализе микробиоты до классов было обнаружено присутствие у всех пациентов Actinobacteria, Bacilli, Bacteroidia, Clostridia, Desulfovibrionia, Gammaproteobacteria. Наибольшее количество представлено Gammaproteobacteria – 53,1% и Bacteroidia – 11,7%. У 16 из 17 пациентов в незначительном количестве выделены Coriobacteriia – 0,434%. Alphaproteobacteria, Campylobacteria,

Deferribacteres и Dehalococcoidia встречались не у всех исследуемых и составляли менее 1%.

Также мы проанализировали бактериальный состав на уровне отрядов. Наибольшим и единственным отрядом, обнаруженным у всех больных, был Enterobacterales – 53,1%. Остальные представители микробиоты относились к Burkholderiales, Christensenellales, Clostridia_UCG_014, Coriobacteriales и Erysipelotrichales.

Таблица 10 – Состав микробиоты кишечника у больных СРК

Микробиота	До приема пробиотика		
	К-во больных	Мо (%)	ДИ 95% для Мо
Типы			
Proteobacteria	17	53,1	22,4 – 61,7
Firmicutes	17	37,2	25,7 – 56,8
Bacteroidota	17	11,7	4,19 – 16,0
Actinobacteriota	17	1,52	0,742 – 3,77
Chloroflexi	3	0,208	-
Verrucomicrobiota	17	0,17	0,028 -0,246
Campylobacterota	9	0,077	0,023 -0,12
Мухоскоккота	4	0,0425	-
Acidobacteriota	4	0,024	-
Deferribacterota	4	0,0235	-
Сyanobacteria	4	0,019	-
Patescibacteria	12	0,019	0,0094-0,028
Классы			
Actinobacteria	17	0,642	0,354 - 1,79

Продолжение таблицы 10

Alphaproteobacteria	10	0,042	0,0272 -0,159
Bacilli	17	2,47	1,19 - 3,36
Bacteroidia	17	11,7	4,19 - 16,0
Campylobacteria	9	0,077	0,0231 - 0,120
Clostridia	17	25,1	20,0 - 40,4
Coriobacteriia	16	0,434	0,191 - 0,720
Deferribacteres	4	0,0235	-
Dehalococcoidia	2	0,085	-
Desulfovibrionia	17	0,17	0,0823 -0,214
Gammaproteobacteria	17	53,1	22,4 - 61,7
Отряды			
Burkholderiales	2	1,35	-
Christensenellales	5	2,9	-
Clostridia_UCG_014	5	2,83	-
Clostridia_vadinBB60_group	0	-	-
Coriobacteriales	3	2,32	-
Enterobacterales	17	52,9	21,5 - 61,4
Erysipelotrichales	7	1,38	1,12 - 2,39

Также мы провели сравнение микробиоты отдельно у пациентов СРК-Д и СРК-З. Данные представлены в таблице 11.

Уровень Proteobacteria был приблизительно равен у пациентов с СРК-Д и СРК-З. Также практически не наблюдалось различий в количестве бактерий типа Firmicutes. Выше, однако статистически не значимо, отмечалось количество Bacteroidota – 13,9% у СРК-Д против 8,31% у СРК-З.

Стоит отметить меньшее микробное разнообразие у пациентов с СРК-З. Ни у одного из больных не было обнаружено бактерий типа Campylobacterota,

Deferribacterota, Acidobacteriota, Мухосoccota, хотя они присутствовали у больных с СРК-Д.

Далее было оценено микробное разнообразие среди классов. У всех больных встречались: Gammaproteobacteria, Clostridia, Bacteroidia, Bacilli, Actinobacteria, Verrucomicrobiae и Desulfovibrionia. Приблизительно одинаковый уровень Gammaproteobacteria (52,4% – СРК-Д и 53,8% – СРК-3), Bacilli (1,94% – СРК-Д и 2,94% – СРК-3), Verrucomicrobiae (0,195% – СРК-Д и 0,162% – СРК-3), и Desulfovibrionia (0,179% – СРК-Д и 0,103% – СРК-3) был отмечен среди обеих групп. Clostridia преобладали среди СРК-3 – 35,6% против 21,9% соответственно. Количество Bacteroidia преобладало у СРК-Д – 13,9% (8,31% – СРК-3). Campylobacteria (0,074%), Deferribacteres (0,032%), Vicinamibacteria (0,009%) обнаружены у СРК-Д и отсутствовали у СРК-3.

У всех пациентов в обеих группах присутствовали бактерии отрядов: Enterobacterales, Bacteroidales, Oscillospirales, Verrucomicrobiota. Преобладающим отрядом оказался Enterobacterales - 52,0% у СРК-Д и 53,6% у СРК-3. Lactobacillales (3,92%), Bifidobacteriales (3,2%), Acidaminococcales (1,6%) присутствовали только у пациентов с диарейным синдромом, а Christensenellales (5,91%), напротив, только у пациентов с запором.

Суммарно микробное разнообразие было оценено по индексу Шеннона. Индекс альфа разнообразия Шеннона (ИШ) у больных с СРК-Д колебался от 2,21 до 3,35 медиана значений составила 2,74, в то время как у больных с СРК-Д ИШ колебался от 1,02 до 2,1 медиана значений 1,55 была статистически значима ниже ($p=0,01$, по критерию Манна-Уитни).

Таблица 11 - Сравнение микробиоты у больных с СРК-Д и СРК-3

Микробиота	СРК-Д					СРК-3				
	n	Min-Max (%)	Mo (%)	ДИ 95% для Mo	p*	n	Min-Max (%)	Mo (%)	ДИ 95% для Mo	p*

Продолжение таблицы 11

ТИПЫ										
Proteobacteria	1 0	1,99 – 72,1	52,5	10,0 - 62,2	0, 08 83	7	14,5 – 76,3	53,8	20,9- 70,2	0,568
Firmicutes	1 0	21,4- 75,4	37,8	24,8- 63,8	0, 17 01	7	11,6- 68,8	37,2	20,2- 62,9	0,963
Bacteroidota	1 0	1,45 – 35,8	13,9	3,57 - 19,9	0, 21 29	7	1,42 – 22,0	8,31	03,19- 18,6	0,652
Negativicutes	1 0	0,568 – 11,6	1,89	0,65 - 6,58	0, 00 74	7	0,182 – 5,93	3,39	0,347- 5,51	0,696
Actinobacteriota	1 0	0,334 - 12,4	1,44	0,51 - 5,51	0, 00 57	7	0,299 – 10,4	1,52	0,630- 7,87	0,016
Desulfobacterota	1 0	0,049 – 0,811	0,17 9	0,12 - 0,52	0, 00 04	7	0,023 – 0,492	0,10 3	0,028- 0,451	0,026
Fusobacteriota	3	0,053 – 0,311	0,12 8	-	0, 54 71	5	0,058 – 0,367	0,06 9	-	0,006
Campylobacterota	7	0,011 - 0,181	0,07 4	0,01 - 0,13	0, 10 81	-	-	-	-	-

Продолжение таблицы 11

Deferribacterota	3	0,015 – 0, 033	0,03 2	-	0, 09 44	-	-	-	-	-
Patescibacteria	7	0,008 – 0,041	0,02 4	0,0085- 0,037	0, 63 85	5	0,009 – 0,023	0,01 6	-	0,414
Acidobacteriota	3	0,007 - 0,039	0,00 9	-	0, 10 66	-	-	-	-	-
Myxococcota	3	0,007 – 0,077	0,00 8	-	0, 02 38	-	-	-	-	-
КЛАССЫ										
Gammaproteobact eria	1 0	1,97 – 72,1	52,4	9,93 - 62,2	0, 08 69	7	14,3 – 76,3	53,8	20,8- 70,0	0,573 3
Clostridia	1 0	0,007 – 71,1	21,9	18,3 - 49,8	0, 33 06	7	8,48 – 62,9	35,6	14,2- 55,5	0,996 5
Bacteroidia	1 0	1,45 – 35,8	13,9	3,57 - 19,9	0, 21 29	7	1,42 – 22,8	8,31	3,19- 18,6	0,652 7
Bacilli	1 0	0,334 – 4,4	1,94	1,05 - 3,50	0, 66 24	7	1,01 – 5,11	2,94	1,04- 4,34	0,594

Продолжение таблицы 11

Actinobacteria	1 0	0,154 — 11,7	1,06	0,397 - 4,91	0, 00 16	7	0,19 — 5,04	0,36 7	0,257- 3,30	0,000 5
Coriobacteriia	9	0,061 — 2,32	0,3	0,136 - 0,723	0, 00 13	7	0,109 — 10,1	0,57 9	0,17- 5,67	<0,0 001
Verrucomicrobiae	1 0	0,008 — 3,32	0,19 5	0,0219 - 0,3	<0 ,0 00 1	7	0,01 — 0,443	0,16 2	0,012- 0,311	0,068 9
Desulfovibrionia	1 0	0,049 — 0,811	0,17 9	0,120 - 0,523	0, 00 04	7	0,023 — 0,492	0,10 3	0,028- 0,45	0,026 3
Fusobacteriia	3	0,053 — 0,311	0,12 8	-	0, 54 71	5	0,058 — 0,069	0,06 9	-	0,006
Campylobacteria	7	0,011 — 0,181	0,07 4	0,0169- 0,131	0, 10 81	-	-	-	-	-
Alphaproteobacteria	7	0,022 — 0,131	0,03 8	0,022- 0,118	0, 04 06	3	0,038 — 0,214	0,18 5	-	0,294
Deferribacteres	3	0,015 — 0,033	0,03 2	-	0, 09 44	-	-	-	-	-
Saccharimonadia	7	0,008 — 0,041	0,02 4	0,0085- 0,037	0, 63 85	5	0,009 — 0,023	0,01 6	-	0,414 1

Продолжение таблицы 11

Vicinamibacteria	3	0,007 — 0,031	0,00 9	-	0, 14 36	-	-	-	-	-
ОТРЯДЫ										
Enterobacterales	1 0	1,86 — 71,9	52,0	9,02 - 62,0	0, 08 13	7	14,1 — 76,1	53,6	20,1- 69,9	0,562
Lachnospirales	8	7,18 — 23,8	15,6	9,92 - 23,7	0, 51 15	7	2,83 — 30	14,6	5,95- 25,8	0,991 5
Bacteroidales	1 0	1,45 — 35,8	13,9	3,57 - 19,9	0, 21 25	7	1,42 — 22,8	8,29	3,19- 18,6	0,650 7
Oscillospirales	1 0	3,91 — 44,3	12,8	6,38 - 31,7	0, 24 46	7	2,84 — 27,9	9,5	5,78- 21,2	0,066
Lactobacillales	5	2,36 — 24,9	3,92	-	0, 00 33	-	-	-	-	-
Veillonellales_ Selenomonadales	4	1,82 — 11,2	3,72	-	0, 24 6	5	1,28 — 5,87	2,11	-	0,263 2
Bifidobacteriales	5	1,38 — 11,5	3,2	-	0, 25 04	-	-	-	-	-
Acidaminococcales	3	1,61 — 5,96	1,61	-	0, 00 04	-	-	-	-	-

Продолжение таблицы 11

Erysipelotrichales	3	1,24 — 2,38	1,38	-	0, 20 18	4	1,1 – 2,4	1,34	-	0,203 5
Verrucomicrobiota	1 0	0,008 — 3,32	0,19 5	0,026- 0,300	<0 ,0 00 1	7	0,01 — 0,47	0,16 2	0,012- 0,325	0,050 9
Christensenellales	-	-	-	-	-	3	2,9 - 8,17	5,91	-	0,845 3

*- нормальность распределения по критерию Шапиро -Уилка

3.3. Взаимосвязь микробиоты кишечника и уровня зонулина в кале у больных функциональными заболеваниями кишечника

Для уточнения роли микробиома в экспрессии зонулина в кишечнике был проведен анализ зависимости уровня зонулина и состава микробиоты кишечника. У 17 больных с функциональными заболеваниями кишечника (ФЗК) было дважды проведено параллельное исследование микробиоты кишечника и уровня зонулина в одних и тех же пробах кала. Таким образом, при корреляционном анализе проанализировано 34 случая состава микробиоты и зонулина в кале больных ФЗК. Результаты статистически значимых корреляционных взаимосвязей между уровнем зонулина и составными частями микробиоты представлены в таблице 12.

Таблица 12 - Корреляция между уровнем зонулина и микробиотой кишечника у больных с функциональными заболеваниями кишечника

Микробиота	К-во случаев	Коэффициент корреляции (r_p)	ДИ 95% r_p	Достоверность (p)

Продолжение таблицы 12

Тип Firmicutes	34	-0,379	от-0,636 до - 0,047	0,03
в т.ч. из Firmicutes род Clostridia	34	-0,396	от - 0,648 до 0,067	0,02
в т.ч. из Clostridia порядок Oscillospirales	31	-0,380	От- 0,647 до- 0,03	0,04
в т.ч. из Firmicutes семейство Veillonellales порядок Selenomonadales	18	0,648	от 0,260 до 0,856	0,004
Тип Proteobacteria	34	0,455	от 0,138 до 0,687	0,007
В т.ч. из Proteobacteria порядок Enterobacterales	29	0,340	от-0,03 до 0,628	0,07
в т.ч. из Proteobacteria класс Gammaproteobacteria	34	0,455	от 0,138 до 0,687	0,007
Тип Deferribacteres	10	0,710	от 0,145 до 0,926	0,02
Тип Bacillota порядок Erysipelotrichales	14	-0,577	От- 0,848 до -0,07	0,03

Статистически значимые взаимосвязи отмечались между долей бактерий, относящихся к типу Firmicutes и содержанием зонулина в кале, отмечалась статистически значимая обратная корреляционная взаимосвязь ($r_p = -0,379$).

Следовательно, уменьшение бактерий типа Firmicutes приводило к увеличению экспрессии уровня зонулина. Такая же статистически значимая тенденция отмечалась и с другими представителями этого типа бактерий рода Clostridia, а также бактерий порядка Oscillospirales из рода Clostridia. Между этими представителями микробиоты и уровнем зонулина отмечалась статистически значимая отрицательная корреляционная взаимосвязь. Для бактерий типа Firmicutes семейства Veillonellales порядка Selenomonadales в отличие от других бактерий типа Firmicutes отмечалась положительная корреляционная взаимосвязь, их представители обнаружены в 18 случаях, но их уровень коррелировал с повышением уровня зонулина с высоким коэффициентом корреляции $r_p = 0,648$, $p = 0,004$.

Увеличение в составе микробиоты представителей других типов коррелировало с повышением уровня зонулина в кале. Статистически значимая прямая корреляционная взаимосвязь отмечалась с бактериями типа Proteobacteria и их представителем порядка Enterobacteriales и класса Gammaproteobacteria, а также с бактериями типа Deferribacteres; и бактериями порядка Erysipelotrichales, входящими в тип Bacillota.

Таким образом, изменение микробиоты, связанное с уменьшением бактерий типа Firmicutes, и замещение их бактериями других типов может приводить к увеличению экспрессии синтеза зонулина и его уровня в кале.

Для уточнения значимости такой взаимосвязи был проведен ROC анализ между повышением уровнем зонулина и долей бактерий микробиоты для которых была установлена статистически значимая корреляционная взаимосвязь.

В таблице 13 представлены результаты ROC анализа относительно повышения уровня зонулина выше референсных значений 83,5 нг/мл, а в таблице 14 - относительно высокого уровня зонулина в кале, т.е. более 110 нг/мл.

Статистически значимая ROC взаимосвязь с повышением зонулина более 83,5 нг/мл обнаружена только с изменениями бактерий рода Clostridia: снижение их доли менее 62,5% было сопряжено с повышением концентрации зонулина выше

референтных значений. В остальных случаях не было установлено статистически значимой взаимосвязи.

При проведении анализа ROC взаимосвязи изменения доли бактерий в микробиоте и повышением уровня зонулина выше 110 нг/мл (высокий уровень) отмечалась статистически значимая взаимосвязь между изменениями бактерий типа Firmicutes и типа Proteobacteria. В основном она определялась представителями рода Clostridia (тип Firmicutes) и класса Gammaproteobacteria (тип Proteobacteria).

Снижение бактерий типа Firmicutes менее 68,8% приводило к увеличению уровня зонулина выше 110 нг/мл с чувствительностью 94,4% и специфичностью 56,25%. ROC кривая представлена на рисунке 5.

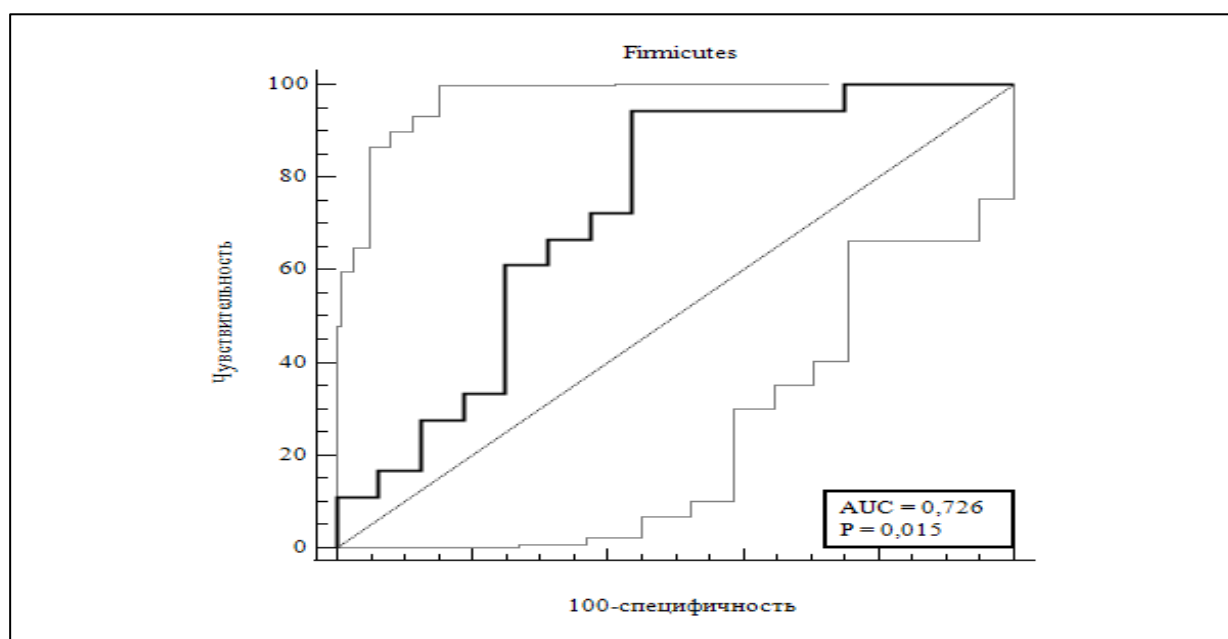


Рисунок 5 - Кривая зависимости повышения зонулина выше 110 нг/мл и доли бактерий типа Firmicutes в микробиоте кишечника

Таблица 13 - Результаты ROC анализа взаимосвязи микробиоты и повышения уровня зонулина выше референтных значений

Микробиота	К-во случаев	AUC	ДИ 95% для AUC	Критическое значение	Чувствительность (%)	Специфичность (%)	Достоверность (p)

Продолжение таблицы 13

Тип Firmicutes	34	0,70 0	от 0,519 до 0,844	≤68,7 %	87,50	70,00	0,0877
в т.ч. из Firmicutes род Clostridia	34	0,71 7	от 0,537 до 0,857	≤62,5%	87,50	70,00	0,0451
в т.ч. из Clostridia порядок	31	0,71 2	от 0,522	≤29,1%	86,96	75,00	0,1108
Oscillospirales			до 0,859				
в т.ч. из Firmicutes семейство Veillonellales порядок Selenomonadales	18	0,60 7	от 0,354 до 0,824	>1,9%	78,5	50,00	0,5741
Тип Proteobacteria	34	0,68 3	от 0,502 до 0,832	>20,2%	70,83	70,00	0,0971
в т.ч. из Proteobacteria порядок Enterobacterales	29	0,66 9	от 0,470 до 0,831	>17,6%	72,73	71,43	0,2618

Продолжение таблицы 13

в т.ч. из Proteobacteria класс Gammaproteobacteria	34	0,68 3	от 0,502 до 0,832	>20,1	70,83	70,00	0,0971
Тип Deferribacteres	10	0,64 6	от 0,300 до 0,905	>0,016%	50,00	100,00	0,4432
Тип Bacillota порядок Erysipelotrichales	14	0,80 0	0,507 до 0,960	≤1,53	90	75	0,0875

Таблица 14 - Результаты ROC анализа взаимосвязи микробиоты и повышения уровня зонулина выше 110 нг/мл.

Микробиота	К-во случаев	AUC	ДИ 95% для AUC	Критическое значение	Чувствительность (%)	Специфичность (%)	Достоверность (p)
Тип Firmicutes	34	0,726	от 0,546 до 0,864	≤68,8%	94,44	56,25	0,0150
в т.ч. из Firmicutes род Clostridia	34	0,760	от 0,584 до 0,889	≤62,9%	94,24	56,15	0,0024

Продолжение таблицы 14

В т.ч. из Clostridia	31	0,664	от 0,472	≤27,9%	82,35	57,14	0,1212
порядок Oscillospirales			до 0,823				
В т.ч. из Firmicutes семейство Veillonellales порядок Selenomonadales	18	0,701	от 0,444 до 0,890	>2,55%	54,55	85,71	0,1258
Тип Proteobacteria	34	0,729	от 0,550 до 0,867	>45,8%	55,56	87,50	0,0099
В т.ч. из Proteobacteria порядок Enterobacterales	29	0,676	от 0,478 до 0,837	>45,7%	52,94	83,33	0,0992
В т.ч. из Proteobacteria класс Gammaproteobacteria	34	0,729	от 0,550 до 0,867	>45,6%	55,54	87,47	0,0099
Тип Deferribacteres	10	0,604	от 0,266 до 0,881	>0,02%	50,00	100,00	0,6664

Продолжение таблицы 14

Тип Bacillota порядок Erysipelotrichal es	14	0,646	от 0,354 до 0,874	$\leq 1,37\%$	83,33	50,00	0,3585
--	----	-------	----------------------	---------------	-------	-------	--------

В отличие от бактерии типа Firmicutes, увеличение доли бактерии типа Proteobacteria более 45,8%, ассоциировалось с увеличением уровня зонулина в кале выше 110 нг/мл с чувствительностью 55,6% и специфичностью 87,5%. Кривая такой ROC зависимости представлена на рисунке 6.

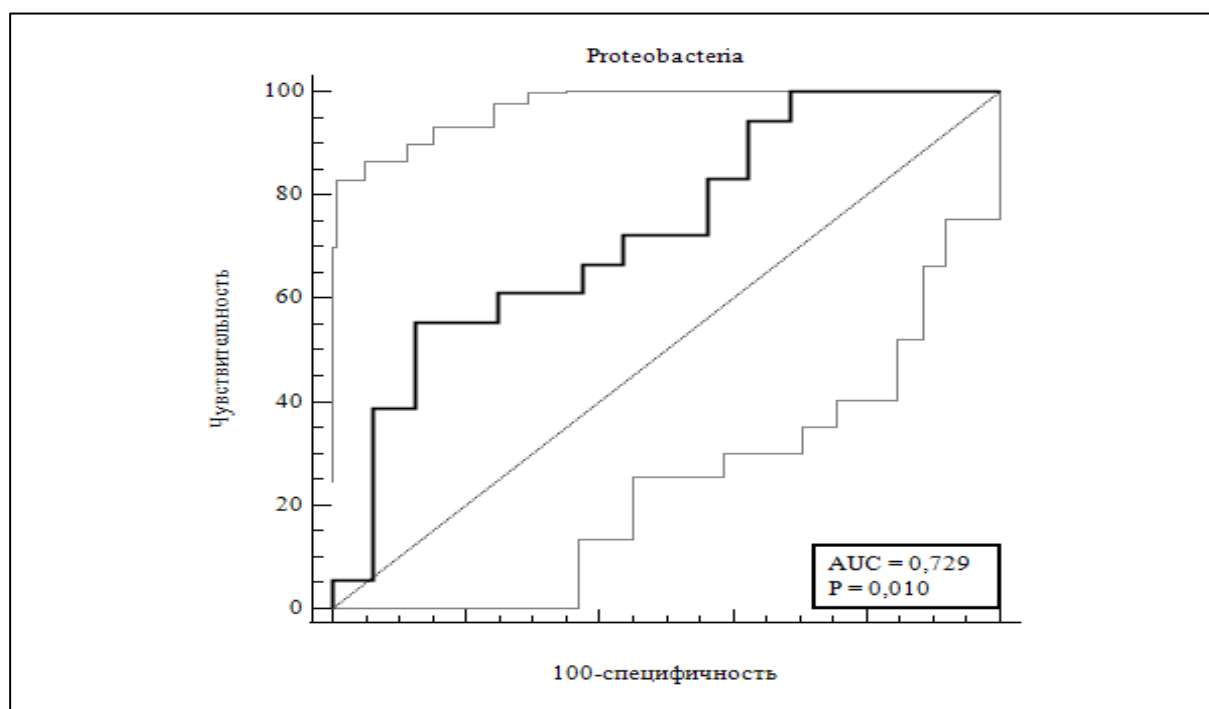


Рисунок 6 - Кривая ROC зависимости повышения зонулина выше 110 нг/мл и доли бактерий типа Proteobacteria в микробиоте кишечника

Таким образом, на повышение уровня зонулина влияло соотношение доли бактерий типа Proteobacteria к бактериям типа Firmicutes в микробиоте кишечника. Для уточнения такой взаимосвязи мы проанализировали ROC взаимосвязь между таким отношением и повышением уровня зонулина. По результатам анализа было установлено, что отношение долей Proteobacteria/ Firmicutes и уровнем зонулина в

кале выше 110 нг/мл отмечалась статистически значимая ROC взаимосвязь – $AUC_{ROC}=0,712(0,531-0,854; \text{ДИ } 95\%), p=0,02$. Кривая такой зависимости представлена на рисунке 7.

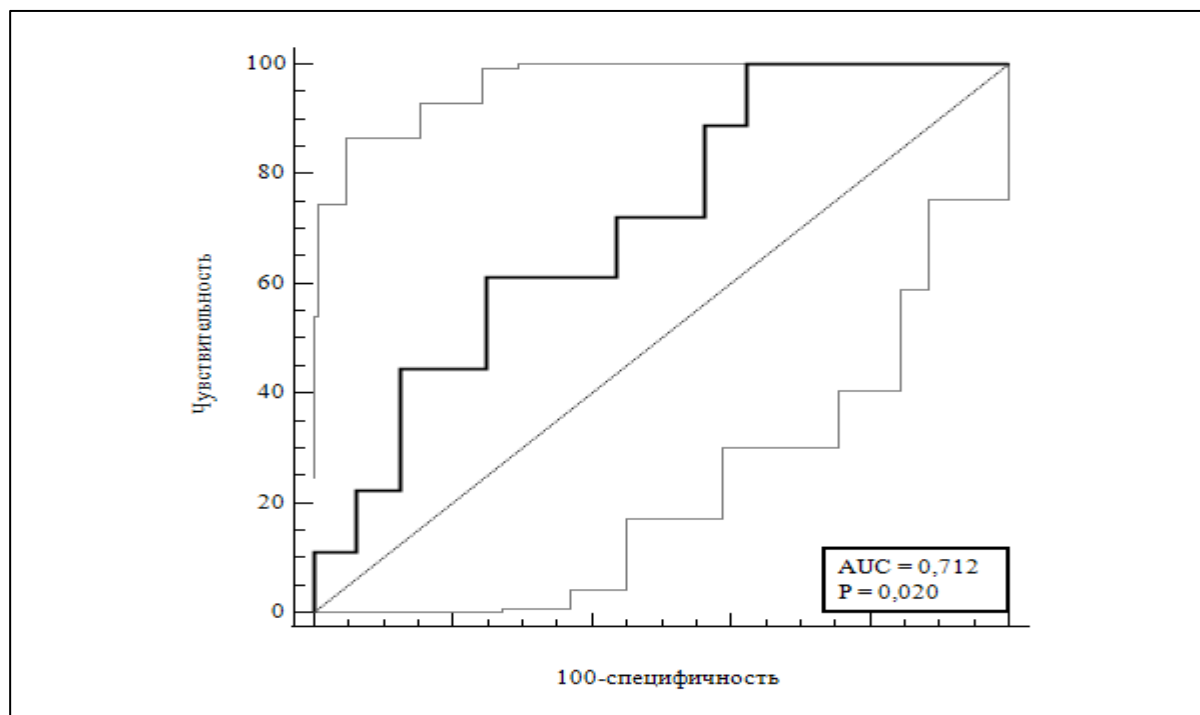


Рисунок 7 - Кривая ROC зависимости повышения зонулина выше 110 нг/мл и отношения доли бактерий типа Proteobacteria/ доли бактерий типа Firmicutes в микробиоте кишечника

У больных с уровнем зонулина в кале менее 110 нг/мл в большинстве случаев преобладали бактерии типа Firmicutes, медиана отношения Proteobacteria/ Firmicutes составляла 0,24(0,05-0,87; ДИ 95%). У больных с содержанием зонулина в кале часто бактерии типа Proteobacteria преобладали над бактериями типа Firmicutes, медиана отношения Proteobacteria/Firmicutes составляла 1,64(0,46-2,28; ДИ 95%). Статистическая значимость разницы в этих группах больных по медиане отношения Proteobacteria/Firmicutes составляла $p=0,0008$ (по критерию Манна-Уитни).

Для уточнения клинического значения выявленных изменений мы рассчитали относительный риск высокого уровня зонулина в кале (более 110 нг/мл) в зависимости от особенностей микробиоты кишечника. Результаты расчетов представлены в таблице 15. Наиболее высокий относительный риск (ОР) отмечался

при снижении Firmicutes менее 68,8% - ОР=7,17, на втором месте по значимости было снижение Clostridia менее 62,9% - ОР=5,25. Менее значимым, но статистически достоверным был ОР, связанный с повышением Proteobacteria более 45,8% - ОР=2,69 и Gammaproteobacteria более 45,6% - ОР=2,38.

Таблица 15 - Относительный риск повышения зонулина в кале в зависимости от изменений микробиоты

Фактор риска	ОР	ДИ 95% для ОР	Достоверность
Firmicutes $\leq 68,8\%$	7,17	1,08-47,6	p=0,041
Proteobacteria $>45,8\%$	2,69	1,29-5,37	p=0,009
Отношение Proteobacteria/ Firmicutes	2,79	1,24-6,28	p=0,013
Clostridia $\leq 62,9\%$	5,25	1,46-18,9	p=0,011
Gammaproteobacteria $>45,6\%$	2,38	1,13-5,02	p=0,023

Увеличение отношения Proteobacteria/ Firmicutes более 1,0 так же было сопряжено с увеличенным риском повышения зонулина более 110 нг/мл - ОР=2,79.

Проведенный анализ показал значение изменений микробиоты для повышения уровня зонулина в кале. Снижение бактерий типа Firmicutes и замещение их бактериями другого типа является основным фактором риска высокого уровня зонулина в кале у больных с функциональными заболеваниями кишечника.

3.4. Влияние терапии пробиотиком на клинические проявления, уровень зонулина в кале и микробиоту кишечника у больных с функциональными заболеваниями кишечника

У больных с ФЗК были проанализированы изменения уровня зонулина в кале в результате приема пробиотика. Уровень зонулина до начала терапии пробиотиком и после ее проведения представлен в таблице 16.

Таблица 16 - Изменение уровня зонулина в кале у больных функциональными заболеваниями кишечника

Группы пациентов	Концентрация зонулина в кале до назначения пробиотиков (нг/мл)			Концентрация зонулина в кале после приема пробиотиков (нг/мл)		
	Мо	ДИ 95% для Мо	p*	Мо	ДИ 95% для Мо	p*
СРК=Д (n=28)	121,7	98,2 - 151,5	0,0004	67,8 ¹	69,5 – 115,3	0,002
СРК-З (n=27)	89,4	65,9 - 115,1	0,1382	79,1 ²	25,8 – 86,5	0,007
ФД (n=27)	130,3	104,3 - 195,7	0,0031	81,1 ¹	65,5-173,7	0,015
ФЗ (n=26)	107,6	83,8 - 138,9	0,1831	92,8 ^{2,3}	43,7- 103,5	0,916

*- нормальность распределения по критерию Шапиро -Уилка

1- достоверность разницы до и после лечения по критерию Уилкоксона, $p \leq 0,05$

2- достоверность разницы до и после лечения по критерию Уилкоксона, $p \leq 0,1$

3- достоверность разницы между больными СРК-Д и ФЗ по критерию Манна-Уитни, $p \leq 0,05$

После применения пробиотика уровень зонулина в кале был определен у всех 108 больных. Уровень зонулина после лечения пробиотиком колебался от 13,6 до 173,7 нг/мл. Средний уровень зонулина составил $86,7 \pm 39,9$ нг/мл, распределение больных по уровню зонулина не отвечало правилам нормальности, медиана значений зонулина составляла 82,3(73,9-93,9) нг/мл. Изменения уровня зонулина отличалась в зависимости от диагноза функционального заболевания кишечника.

У больных с СРК-Д отмечалось значительное, статистически значимое снижение уровня зонулина в кале с 121,7 до 67,8 нг/мл ($p=0,027$). Такая же положительная динамика отмечалась и у больных с ФД, медиана значений зонулина в кале снизилась с 130,7 до 81,1 нг/мл ($p=0,039$).

У больных с СРК-З и ФЗ так же отмечалось снижение медианы содержания зонулина в кале, но эти изменения не достигали необходимой статистической значимости. У больных СРК-З уровень снизился с 89,4 до 79,1 нг/мл ($p=0,089$), а у больных ФЗ с 107,6 до 92,8 нг/мл ($p=0,077$).

Так же был проведен анализ частоты отклонения уровня зонулина в кале от референтных значений до и после лечения. На рисунке 8 представлены результаты такого распределения до и после лечения.

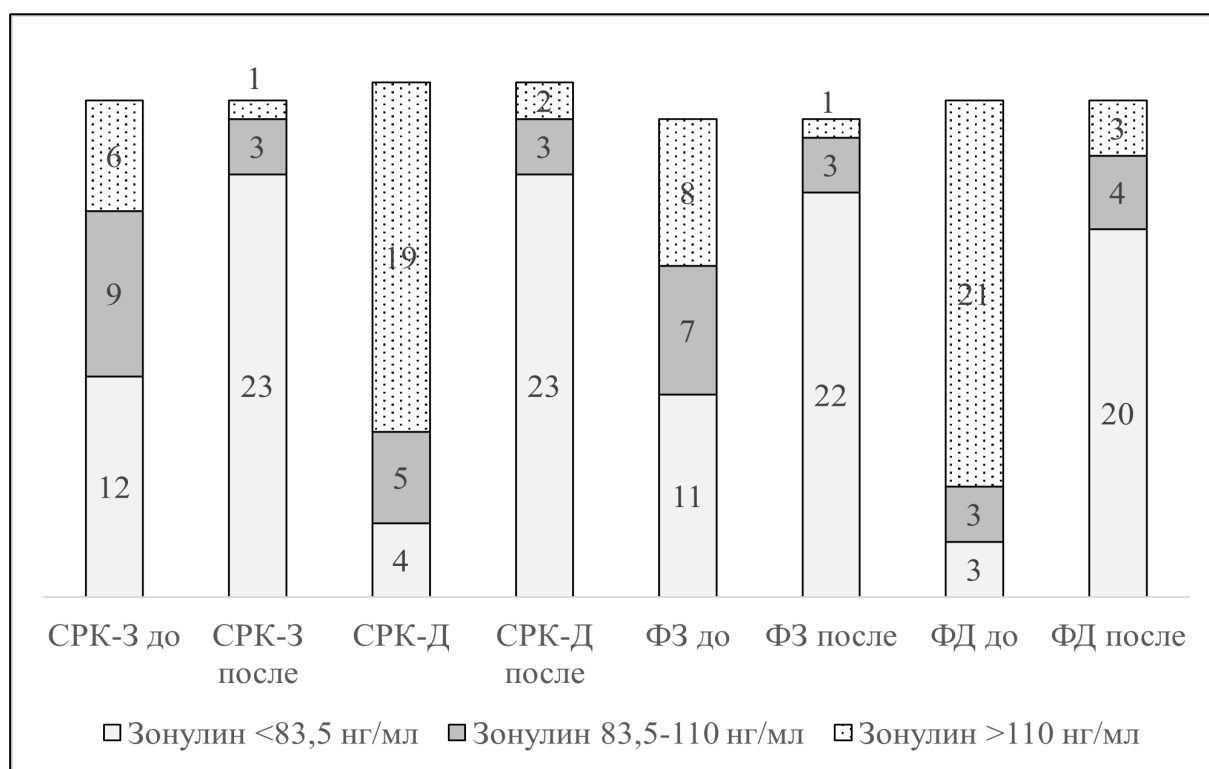


Рисунок 8 - Анализ частоты отклонения уровня зонулина в кале от референтных значений до и после лечения

У больных с СРК-З уровень зонулина в кале восстановился у 23(85%) больных, достоверность разницы по сравнению с показателями до лечения пробиотиками составил $p=0,004$ по критерию Фишера. У 3(11%) больных он

оставался повышенным, а у 1(4%) больного оставался высоким. У больных с ФЗ так же отмечалась схожая динамика: рефересные значения зонулина в кале определялись у 22(85%), что было статистически значимо $p=0,003$ по критерию Фишера, у 3(12%) был повышенным, а у 1(3%) больного высоким

У СРК-Д число больных с уровнем зонулина с референтными значениями увеличилось с 4(14%) до 23(82%) больных, $p=0,0001$ по критерию Фишера. У 3(11%) больных уровень зонулина в кале был повышенным, а у 2(7%) высоким. У больных с ФД количество больных с уровнем зонулина в кале до 83,5 нг/мл увеличилось с 3(11%) до 20(74%), $p=0,0003$ по критерию Фишера, у 4(15%) больных уровень зонулина был повышен, а у 3(11%) сохранялся высокий уровень зонулина в кале.

Полученные нами результаты исследования свидетельствуют о положительном влиянии приема пробиотиков на уровень зонулина в кале. Наиболее выраженная динамика абсолютных значений была выражена у больных с СРК-Д и ФД, у больных с СРК-З и ФЗ изменение абсолютных значений было менее выраженное, но нормализация значений уровня зонулина статистически значимо отмечалась во всех группах больных с функциональными заболеваниями кишечника.

Клиническая эффективность терапии пробиотиком оценивалась согласно динамике симптомов по шкале GSRS. Симптомы были оценены по 7-бальной шкале, где: 1 - отсутствие неприятных симптомов, 7 — очень неприятные симптомы. Результаты исследования до и после приема пробиотиков у пациентов с СРК представлены в таблице 17, а у пациентов с ФД и ФЗ в таблице 18.

Таблица 17 - Динамика симптомов по шкале GSRS у больных синдромом раздраженного кишечника на фоне применения пробиотика

Симптомы Mo(min-max)	СРК-Д до приема пробиотика	СРК-Д после приема пробиотика	СРК-З до приема пробиотика	СРК-З после приема пробиотика

Продолжение таблицы 17

Боли в животе натошак, сопровожающиеся желанием поестъ	6,31(3-7)	1,45(1-3) ¹	5,66(2-7)	1,32(1-3) ¹
Тошнота	3,56(1-4)	1,12(1-2) ¹	2,56(1-4)	1,43(1-3)
Боль в верхней части живота или под ложечкой	4,54(3-7)	2,14(1-3) ¹	5,06(2-6)	1,12(1-2) ¹
Абдоминальная боль	12,36(7-18)	4,56(3-8)¹	13,24(5-17)	3,66(3-8)¹
Учащение стула	5,12(3-7)	2,12(1-3) ¹	1(1-1)	1(1-1)
Наличие неоформленного стула (кашицеобразный, размягченный, разжиженный)	6,06(5-7)	1,94(1-3) ¹	1,47(1-2)	1(1-1)
Потребность безотлагательно опорожнить кишечник	4,41(2-7)	1,59(1-2) ¹	1,12(1-2)	1,06 (1-2)
Диарейный синдром	15,24(10-21)	5,04(3-8)¹	3,12(3-5)	3,04(3-4)
Ощущение неполного опорожнения кишечника	4,50 (1-4)	1,25(1-3) ¹	4,88(2-7)	2,41(1-5) ¹

Продолжение таблицы 17

Запор	1,12(1-2)	1(1-1)	5,82(4-7)	2,12(1-3) ¹
Наличие жесткого стула (крепкий, твердый)	1,23(1-2)	1(1-1)	5,65(4-7)	2,18(1-3) ¹
Синдром запора	3,66(3-8)	3,16(3-4)	15,85(10-21)	4,43(3-9)¹

1- достоверность разницы до и после лечения по критерию Уилкоксона, $p \leq 0,05$

У больных с СРК-Д и СРК-З отмечалась статистически значимое снижение симптомов боли. Интегрированный показатель боли уменьшился у больных СРК-Д с 12,36 до 4,56 баллов ($p \leq 0,05$), а у больных СРК-З с 13,24 до 3,66 баллов. Кроме того, у больных СРК-Д отмечалось значительное снижение проявлений диарейного синдрома с 15,24 до 5,04 баллов ($p \leq 0,05$), а у больных с СРК-З проявление симптомов запора с 15,85 до 4,43 баллов ($p \leq 0,05$).

Таблица 18 - Динамика симптомов по шкале GSRS у больных с функциональным запором и функциональной диарей на фоне применения пробиотика

Симптомы Мо(min-max)	ФД до приема пробиотика	ФД после приема пробиотика	ФЗ до приема пробиотика	ФЗ после приема пробиотика
Боли в животе натошак, сопровождающиеся желанием поест	5,76 (3-6)	2,43 (1-4) ¹	6,12 (3-7)	3,78(2-5)
Тошнота	2,23 (1-3)	1,78 (1-2)	2,11(1-2)	1,89(1-2)
Боль в верхней части живота или под ложечкой	2,74(1-4)	1,57(1-2)	2,26(1-3)	1,68(1-2)

Продолжение таблицы 18

Абдоминальная боль	5,72 (5-13)	3,65(3-8)	5,63 (5-12)	4,59(4-9)
Учащение стула	6,33 (4-7)	3,01 (1-4) ¹	1,18 (1-2)	1,15 (1-2)
Наличие неоформленного стула (кашицеобразный, размягченный, разжиженный)	6,43 (5-7)	2,72 (1-3) ¹	1,45 (1-2)	1,32 (1-2)
Потребность безотлагательно опорожнить кишечник	5,76 (4-7)	2,14 (1-4) ¹	1,23 (1-2)	1,15 (1-2)
Диарейный синдром	17,48 (12-21)	5,76 (3-11)¹	3,17 (3-6)	3,11 (1-2)
Ощущение неполного опорожнения кишечника	2,22 (1-4)	1,55 (1-2)	6,34 (4-7)	3,05 (1-5)
Запор	1 (1-1)	1 (1-1)	6,47 (5-7)	2,96 (1-4) ¹
Наличие жесткого стула (крепкий, твердый)	1 (1-1)	1 (1-1)	6,45 (4-7)	2,54 (1-3) ¹
Синдром запора	3,23 (3-6)	1,24 (3-4)	19,45 (13-21)	6,45 (3-12)¹

¹ - достоверность разницы до и после лечения по критерию Уилкоксона, $p \leq 0,05$

Отмечено статистически значимое снижение жалоб, связанных с диарейным синдромом у группы пациентов с ФД с 17,48 до 5,76 ($p \leq 0,05$) и синдромом запора у пациентов с ФЗ с 19,45 до 6,45 ($p \leq 0,05$).

У 17 больных с СРК, в т. ч. у 10 больных с СРК-Д и 7 больных с СРК-З на фоне применения пробиотика было выполнено повторное секвенирование микробиоты через 14 дней после окончания приема пробиотика. Клиническая характеристика больных с СРК, у которых было выполнено секвенирование представлено в таблице 19.

Таблица 19 - Клиническая характеристика больных синдромом раздраженного кишечника с микробиотой

Показатель	СРК-Д (n=10)	СРК-З (n=7)
Средний возраст, годы (min–max)	38(26-48)	36(22-48)
Пол: М/Ж, n (%)	3/7(30/70)	0/7(0/100)
Длительность заболевания, месяцы Mo(min–max)	11(6-36)	12(6-36)

Длительность течения заболевания, в среднем, составляла 11-12 месяцев, а возраст соответствовал 37 годам. Статистически значимых различий между группами диареи и запора не было, среди больных преобладал женский пол. В целом группа соответствовала всей группе больных с СРК которые были включены в исследование.

В ходе нашего исследования было проанализировано изменение микробного состава после приема стандартного курса пробиотика. Результаты изменений у пациентов с СРК-Д представлены в таблице 20.

У больных СРК-Д мы отметили снижение уровня Proteobacteria с 52,5% до 14,7 и повышение уровня Firmicutes с 37,8% до 60,4% ($p \leq 0,1$). При этом, Campylobacterota снизился с 0,074% до 0,024% и Patescibacteria с 0,024% до 0,007% ($p \leq 0,05$). Также отмечалась динамика в снижении уровня Bacteroidota и повышение

Negativicutes, однако эти результаты были статистически не значимы. После приема курса пробиотиков не было обнаружено Acidobacteriota, обнаруживаемых до приема у 3 больных, и, также у 3 больных, появились бактерии типа Chloroflexi.

При оценке микробного разнообразия на уровне классов, статистически значимым оказалось снижение Gammaproteobacteria с 52,4% до 14,5% ($p \leq 0,1$) и увеличение уровня Clostridia с 21,9% до 56,3% ($p \leq 0,05$). Кроме того, можно выделить снижение Bacteroidia 13,9% до 11,8%. После приема пробиотика, микробное разнообразие увеличилось за счет KD4_96, Lentisphaeria, а также перестали определяться Vicinamibacteria. Среди отрядов статистически значимым ($p \leq 0,05$) было снижение Enterobacterales с 52,0% до 14,1%. Обращает на себя внимание увеличение Lachnospirales с 15,6% до 20,7% и Oscillospirales с 12,8% до 31,1%, что, однако являлось статистически не значимым. После окончания курса у 6 из 10 больных определялись Christensenellales, а у 3 из 10 Verrucomicrobiales и Monoglobales и не определялись Lactobacillales, присутствующие ранее у 5 больных.

Результаты изменения микробиоты у пациентов с СРК-3 после приема пробиотика представлены в таблице 21. Было отмечено статистически значимое снижение количества Proteobacteria с 53,8% до 20,2% ($p \leq 0,1$) и увеличение Firmicutes с 37,2% до 69% ($p \leq 0,1$). Статистически не значимо, однако обращает на себя внимание, снижение Negativicutes с 3,39% до 0,952%, Actinobacteriota с 1,52% до 0,829% и появление после приема Campylobacterota и Chloroflexi.

Среди классов бактерий следует выделить уменьшение уровня Gammaproteobacteria с 53,8% до 20,1% и увеличение Clostridia с 35,6% до 64,6% ($p \leq 0,1$). Микробное разнообразие увеличилось за счет Campylobacteria и KD4_96.

Таблица 20 - Изменение микробиоты кишечника у больных с СРК-Д на фоне приема пробиотика

	До приема пробиотика	После приема пробиотика

Продолжение таблицы 20

Микробиота	n	Min - Max (%)	Mo (%)	ДИ95 % для Mo	p	n	Min - Max (%)	Mo (%)	ДИ95 % для Mo	p*
ТИПЫ										
Proteobacteria	10	1,99 – 72,1	52,5	10,0- 62,2	0,088 3	10	1,19 – 78,4	14,7 ²	7,28 - 43,9	0,067 9
Firmicutes	10	21,4 - 75,4	37,8	24,8- 63,8	0,170 1	10	14,3 – 84,9	60,4 ²	33,1- 76,8	0,425
Bacteroidota	10	1,45 – 35,8	13,9	3,57- 19,9	0,212 9	10	1,55 – 36,2	11,8	4,44 - 15,1	0,022 7
Negativicutes	10	0,56 8 – 11,6	1,89	0,654- 6,58	0,007 4	10	0,23 – 6,45	3,58	0,876- 5,0	0,585 7
Actinobacteriota	10	0,33 4 – 12,4	1,44	0513- 5,51	0,005 7	10	0,38 9 – 22,2	1,16	1,03- 5,46	<0,00 01
Desulfobacterota	10	0,04 9 –	0,17 9	0,12- 0,523	0,000 4	10	0,02 3 –	0,29 7	0,132- 0,63	0,581 4
		0,81 1					0,84 8			
Fusobacteriota	3	0,05 3 – 0,31 1	0,12 8	-	0,547 1	5	0,01 4 – 0,17 4	0,02 4	-	0,009

Продолжение таблицы 20

Campylobacterota	7	0,01 1 – 0,18 1	0,07 4	0,017- 0,131	0,108 1	5	0,00 7 – 0,06 2	0,02 4 ¹	-	0,694 5
Deferribacterota	3	0,01 5 – 0, 033	0,03 2	-	0,094 4	4	0,00 7 – 0,02	0,01 15	-	0,205 9
Patescibacteria	7	0,00 8 – 0,04 1	0,02 4	0,008 5- 0,037	0,638 5	5	0,00 7 – 0,02 7	0,00 7 ¹	-	0,000 4
Acidobacteriota	3	0,00 7- 0,03 9	0,00 9	-	0,106 6	-	-	-	-	-
Myxococcota	3	0,00 7 – 0,07 7	0,00 8	-	0,023 8	3	0,00 7 – 0,02 1	0,00 8	-	0,122 3
Chloroflexi	-	-	-	-	-	3	0,00 8 –	0,01 4	-	0,047 7
							0,21 9			
КЛАССЫ										
Gammaproteobacteria	1 0	1,97 – 72,1	52,4	9,93- 62,2	0,086 9	1 0	1,19 – 78,3	14,5 ²	0,070 7- 0,439	0,065 8

Продолжение таблицы 20

Clostridia	1 0	0,00 7 – 71,1	21,9	18,3- 49,8	0,330 6	1 0	9,57 – 76	56,3 ¹	29,4- 70,6	0,206 1
Bacteroidia	1 0	1,45 – 35,8	13,9	3,57- 19,9	0,212 9	1 0	1,55 – 36,2	11,8	4,44- 15,1	0,022 8
Bacilli	1 0	0,33 4 – 4,4	1,94	1,05- 3,5	0,662 4	1 0	0,72 8 – 4,7	1,61	1,13- 3,04	0,004 8
Actinobacteria	1 0	0,15 4 – 11,7	1,06	0,397- 4,91	0,001 6	1 0	0,18 3 – 22,1	0,88 3	0,676 -3,75	<0,00 01
Verrucomicrobia e	1 0	0,00 8 – 3,32	0,19 5	0,021 9-0,3	<0,00 01	1 0	0,01 6 – 2,66	0,29 7	0,044 2-1,71	0,009 3
Desulfovibrionia	1 0	0,04 9 – 0,81 1	0,17 9	0,12- 0,523	0,000 4	1 0	0,02 3 – 0,84 8	0,29 7	0,001 3- 0,006	0,589 6
Fusobacteriia	3	0,05 3 –	0,12 8	-	0,547 1	5	0,01 4 –	0,02 4	-	0,009
		0,31 1					0,17 4			
Alphaproteobact eria	7	0,02 2 – 0,13 1	0,03 8	0,022- 0,118	0,040 6	7	0,00 8 – 0,41 3	0,02 7	0,01- 0,348	0,029 2

Продолжение таблицы 20

Coriobacteriia	9	0,06 1 – 2,32	0,30	0,136- 0,723	0,001 3	1 0	0,07 4 – 4,82	0,28 9	0,173- 0,624	<0,00 01
Deferribacteres	3	0,01 5 – 0,03 3	0,03 2	-	0,094 4	4	0,00 7 – 0,02	0,01 15	-	0,205 9
Saccharimonadia	7	0,00 8 – 0,04 1	0,02 4	0,008 5- 0,037	0,638 5	5	0,00 7 – 0,02 7	0,00 7	-	0,000 4
Vicinamibacteria	3	0,00 7 – 0,03 1	0,00 9	-	0,143 6	-	-	-	-	-
KD4_96	-	-	-	-	-	3	0,00 8- 0,11 6	0,01 4	-	0,094 4
Lentisphaeria	-	-	-	-	-	3	0,02 3 –	0,04 8	-	0,298 3
							0,05 3			
ОТРЯДЫ										
Enterobacterales	1 0	1,86 – 71,9	52,0	9,02- 62,0	0,081 3	8	5,77 – 78,2	14,1 ¹	6,99- 51,4	0,046

Продолжение таблицы 20

Lachnospirales	8	7,18 – 23,8	15,6	9,92- 23,7	0,511 5	8	2,85 – 32,6	20,7	10,2- 26,3	0,852 6
Bacteroidales	1 0	1,45 – 35,8	13,9	3,57- 19,9	0,212 5	9	1,55 – 36,2	12,2	6,93- 21,3	0,275 8
Oscillospirales	1 0	3,91 – 44,3	12,8	6,38- 31,7	0,244 6	9	4,88 – 44,6	31,1	10,2- 41,7	0,417 5
Lactobacillales	5	2,36 – 24,9	3,92	-	0,003 3	-	-	-	-	-
Veillonellales_ Selenomonadales	4	1,82 – 11,2	3,72	-	0,246	7	1,09 – 5,22	2,55	1,48- 5,07	0,526 7
Bifidobacteriales	5	1,38 – 11,5	3,2	-	0,250 4	4	1 – 4,52	2,78	-	0,699 3
Acidaminococcales	3	1,61 – 5,96	1,61	-	0,000 4	3	1,22 – 1,63	1,23	-	0,061
Erysipelotrichales	3	1,24 – 2,38	1,38	-	0,201 8	3	1,26 – 4,36	3,49	-	0,524 3
Verrucomicrobia	1 0	0,00 8 – 3,32	0,19 5	0,026- 0,3	<0,00 01	1 0	0,01 6- 2,66	0,32 1	0,044- 1,74	0,010 1

Продолжение таблицы 20

Christensenellales	-	-	-	-	-	6	1,21 – 9,96	2,31	1,27- 9,09	0,061 8
Verrucomicrobiales	-	-	-	-	-	3	1,7- 2,66	1,71	-	0,017 4
Monoglobales	-	-	-	-	-	3	1,09 – 1,58	1,31	-	0,872 6

*- нормальность распределения по критерию Шапиро -Уилка

1- достоверность разницы до и после лечения по критерию Уилкоксона, $p \leq 0,05$

2- достоверность разницы до и после лечения по критерию Уилкоксона, $p \leq 0,1$

Таблица 21 – Изменение микробиоты кишечника у больных с СРК-3 на фоне приема пробиотика

	До приема пробиотика					После приема пробиотика				
	n	Min - Max (%)	Mo (%)	ДИ95 % для Mo	p	n	Min- Max (%)	Mo (%)	ДИ95 % для Mo	p [*]
ТИПЫ										
Proteobacteria	7	14,5 – 76,3	53,8	20,9 - 70,2	0,568 4	7	0,65 8 – 83,7	20,2 ²	1,03- 65,0	0,171 7
Firmicutes	7	11,6 - 68,8	37,2	20,2- 62,9	0,963	7	14 – 94,4	69 ²	20,5- 88,7	0,635 2

Продолжение таблицы 21

Bacteroidota	7	1,42 – 22	8,31	3,19- 18,6	0,652 7	7	1,16- 28,1	7,02	2,22- 27,1	0,033 1
Negativicutes	7	0,18 2 – 5,93	3,39	0,347- 5,51	0,696 6	7	0,11 8- 2,53 ²	0,952	0,235- 2,13	0,817 3
Actinobacteriota	7	0,29 9 – 10,4	1,52	0,630- 7,87	0,016	7	0,45 3- 6,66	0,829	0,597- 4,09	0,000 2
Desulfobacterota	7	0,02 3 – 0,49 2	0,10 3	0,028- 0,451	0,026 3	7	0,01 6- 0,40 3	0,05	0,019- 0,303	0,005 9
Fusobacteriota	5	0,05 8 – 0,36 7	0,06 9	-	0,006	6	0,02 4- 0,43 7	0,047	0,028- 0,399	0,018 6
Patescibacteria	5	0,00 9 – 0,02 3	0,01 6	-	0,414 1	3	0,02 2 – 0,04 8	0,032	-	0,747
Campylobacterot a	-	-	-	-	-	3	0,04 3-	0,055	-	0,780 4
							0,07 3			
Chloroflexi	-	-	-	-	-	3	0,00 7- 0,13 7	0,024	-	0,230 3

Продолжение таблицы 21

КЛАССЫ										
Gamma pro teobac teria	7	14,3 — 76,3	53,8	20,8- 70,0	0,573 3	7	0,64 4- 83,7	20,1 ²	0,979- 65,0	0,169 1
Clostridia	7	8,48 — 62,9	35,6	14,2- 55,5	0,996 5	7	10,9 — 83,9	64,6 ²	15,6- 81,9	0,328 1
Bacteroidia	7	1,42 — 22,8	8,31	3,19- 18,6	0,652 7	7	1,16- 28,1	7,02	2,22 - 27,1	0,033 1
Fusobacteriia	5	0,05 8 — 0,06 9	0,06 9	-	0,006	6	0,02 4- 0,43 7	0,047	0,0277 -0,399	0,018 6
Bacilli	7	1,01 — 5,11	2,94	1,04- 4,34	0,594 7	7	2,18- 10,1	2,9	2,29- 7,09	0,000 8
Coriobacteriia	7	0,10 9 — 10,1	0,57 9	0,17- 5,67	<0,00 01	7	0,02 9 - 1,05	0,6	0,0968 -0,913	0,712 1
Actinobacteria	7	0,19 — 5,04	0,36 7	0,257- 3,30	0,000 5	7	0,11 3 — 5,61	0,286	0,152- 3,54	0,000 5
Alphaproteobacte ria	3	0,03 8 — 0,21 4	0,18 5	-	0,294 6	4	0,01 4- 0,16 9	0,060 5	-	0,593 4

Продолжение таблицы 21

Verrucomicrobiae	7	0,01 – 0,44 3	0,16 2	0,012- 0,311	0,068 9	6	0,01- 0,29 2	0,046	от 0,0112 до 0,290	0,015 9
Desulfovibrionia	7	0,02 3 – 0,49 2	0,10 3	0,028- 0,451	0,026 3	7	0,01 6- 0,40 3	0,05	0,019- 0,303	0,005 9
Saccharimonadia	5	0,00 9 – 0,02 3	0,01 6	-	0,414 1	3	0,02 2 – 0,04 8	0,032	-	0,747
Campylobacteria	-	-	-	-	-	3	0,04 3- 0,07 3	0,055	-	0,780 4
KD4_96	-	-	-	-	-	3	0,00 7- 0,11 3	0,024	-	0,286 2
ОТРЯДЫ										
Enterobacterales	7	14,1 – 76,1	53,6	20,1- 69,9	0,562	4	1,12 – 45,8	21,4	-	0,056 7
Lachnospirales	7	2,83 – 30	14,6	5,95- 25,8	0,991 5	5	9,23 – 53,1	28,2	-	0,689 3

Продолжение таблицы 21

Oscillospirales	7	2,84 – 27,9	9,5	5,78- 21,2	0,066	5	10,4 – 47	29,1		0,994 9
Bacteroidales	7	1,42 – 22,8	8,29	3,19- 18,6	0,650 7	5	3,31 – 28	7,02	-	0,055 4
Christensenellales	3	2,9 - 8,17	5,91	-	0,845 3	-	-	-	-	-
Veillonellales Selenomonadales	5	1,28 – 5,87	2,11	-	0,263 2	-	-	-	-	-
Erysipelotrichales	4	1,1 – 2,4	1,34	-	0,203 5	4	1,12 – 1,31	1,2	-	0,744 9
Verrucomicrobiota	7	0,01 – 0,47	0,16 2	0,012- 0,325	0,050 9	-	-	-	-	-
Lactobacillales	-	-	-	-	-	5	1,05 – 8,77	1,51	-	0,014 5
Monoglobales	-	-	-	-	-	3	1,52 – 2,96	1,72	-	0,245 3

*- нормальность распределения по критерию Шапиро -Уилка

1- достоверность разницы до и после лечения по критерию Уилкоксона, $p \leq 0,05$

2- достоверность разницы до и после лечения по критерию Уилкоксона, $p \leq 0,1$

Статистически значимых изменений на уровне отрядов обнаружено не было, однако отмечено снижение Enterobacterales и увеличение Lachnospirales, Oscillospirales. Не обнаружены, выявляемые до приема пробиотика, Christensenellales и Veillonellales-Selenomonadales. На фоне приема препарата, у 5 из 7 больных отмечено появление Lactobacillales и у 3 – Monoglobales.

Индекс альфа-разнообразия Шеннона (ИШ) у больных с СРК-Д колебался увеличился с 2,74 до 3,01 ($p=0,07$, по критерию Уилкоксона), а у больных с СРК-З статистически значимо вырос с 1,55 до 2,68 ($p=0,03$, по критерию Уилкоксона).

Изменение состава микробиоты в данной группе больных отмечалось положительная динамика уровня зонулина (рисунок 9).

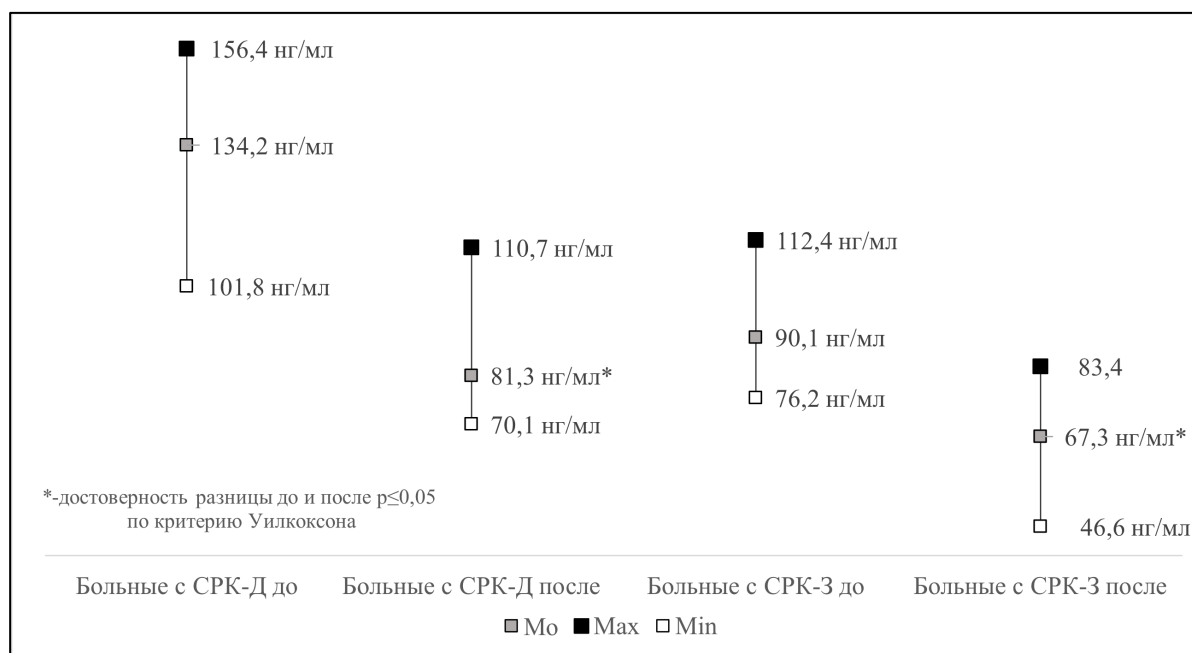


Рисунок 9 - Динамика уровня зонулина в кале на фоне применения пробиотика у больных СРК-Д (n=10) и СРК-З (n=7)

На фоне изменений микробиоты, так же отмечалась положительная динамика основных клинических симптомов. Изменение основных клинических симптомов по шкале GSRS представлено на рисунке 10.

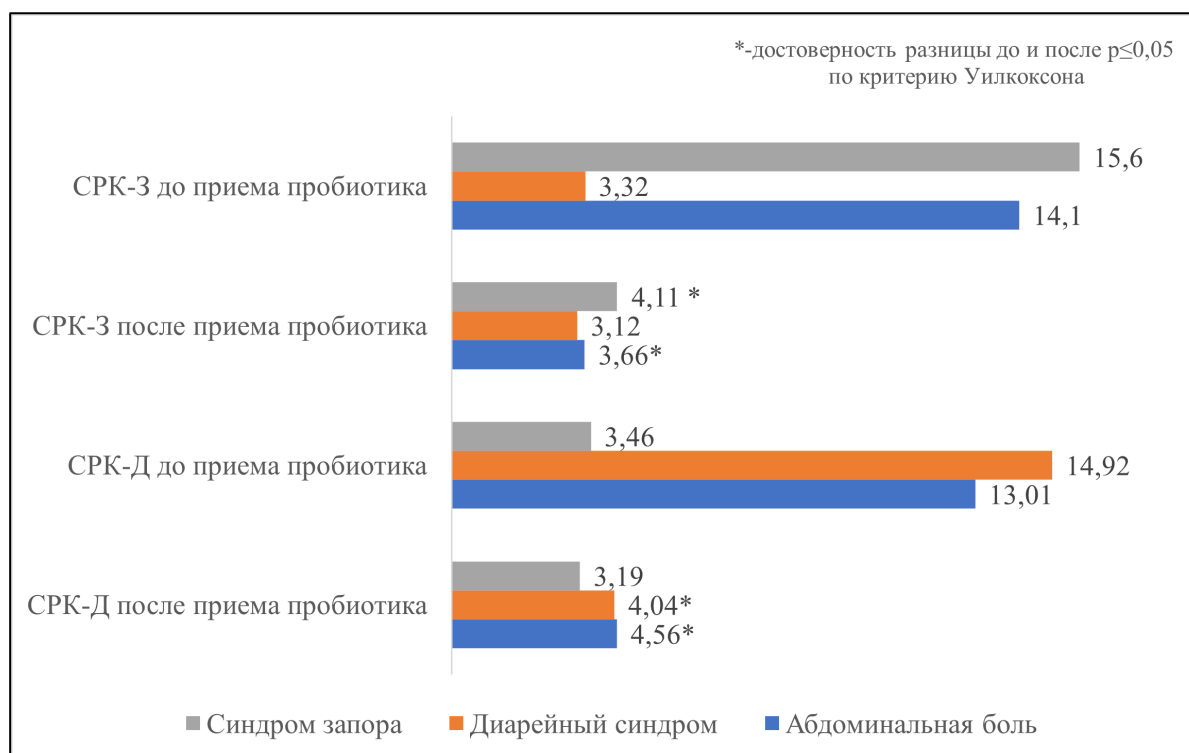


Рисунок 10 - Динамика клинических симптомов до и после приема пробиотиков у пациентов с СРК-Д и СРК-З

Таким образом применение пробиотиков оказывало корректирующее действие на микробиоту кшечника и оказывало выраженное влияние в купировании симптомов СРК, которое сопровождалась снижением уровня зонулина в кале.

Для иллюстрации полученных данным приводим клинические примеры больного СРК-Д и СРК-З с положительной клинической эффективностью лечения на фоне применения пробиотика.

Клинический пример №1

Пациентка З., 26 лет, обратилась с жалобами на боли в нижних отделах живота до 7 баллов по визуально-аналоговой шкале (ВАШ), уменьшающиеся после дефекации, а также жидкий стул, 6 тип по Бристольской шкале, до 4-5 раз в сутки. Анамнез настоящего заболевания: данные жалобы беспокоят в течение года, впервые появились после сильной стрессовой ситуации на работе. Не обследована. Самостоятельно принимала спазмолитики, лоперамид с незначительным эффектом. Настоящее ухудшение в течение 3 месяцев. Ухудшение состояния

связывает с перенесенной ранее острой респираторной вирусной инфекцией (ОРВИ).

Анамнез жизни: образование высшее, работает терапевтом в поликлинике. Жилищные условия удовлетворительные, питание рациональное, физическая активность в течение дня низкая. В течение жизни переносила ОРВИ, детские инфекции. Хронические заболевания отрицает. Курение и злоупотребление алкоголем отрицает. Менструации начались с 13 лет. Беременностей, родов и абортов не было. Наследственность не отягощена. Незамужем. Аллергии на лекарственные препараты отрицает. Выезд за границу в течение последних 6 месяцев отрицает.

По данным объективного осмотра живот незначительно вздут, при пальпации болезненный, симптомы раздражения брюшины отрицательные. Сигмовидная кишка при пальпации болезненная, пальпируется в виде плотного тяжа.

При обследовании: клинический анализ крови: количество лейкоцитов – $4,7 \cdot 10^9/\text{л}$, гемоглобин общий – 128 г/л, гематокрит – 37,0 %, количество эритроцитов – $3,9 \cdot 10^{12}/\text{л}$, количество тромбоцитов – $280 \cdot 10^9/\text{л}$. Лимфоциты – $1,7 \cdot 10^9/\text{л}$, СОЭ – 0 мм/час. Биохимический анализ крови: общий белок – 69 г/л, билирубин общий – 10 мкмоль/л, билирубин прямой 3 мкмоль/л, глюкоза – 4,3 ммоль/л, АЛТ – 20 ЕД/л, АСТ – 21 ЕД/л, ГГТ – 12 ЕД/л, ЩФ – 56 ЕД/л, креатинин - 76 мкмоль/л. Уровень зонулина в кале – 130 нг/мл. Данные метагеномного секвенирования 16S рРНК представлены на рисунке 11.

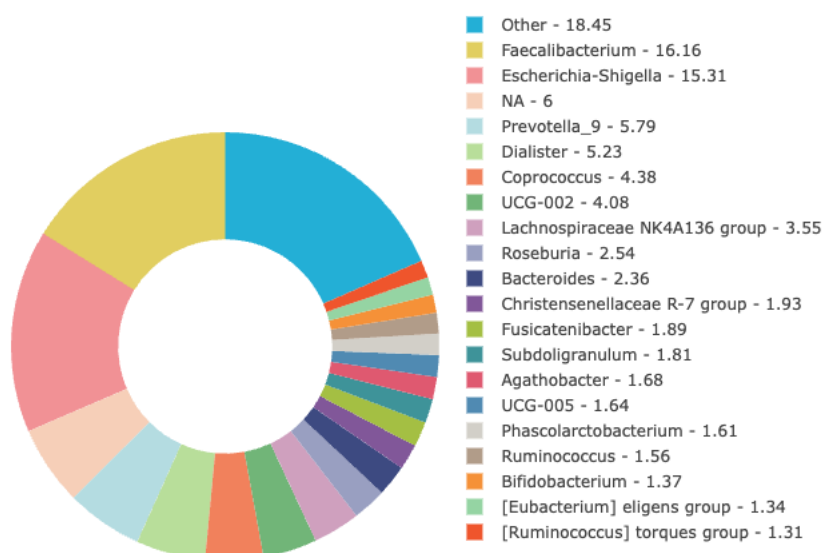


Рисунок 11 - Данные метагеномного секвенирования 16S рРНК пациентки 3. до приема пробиотиков

Также пациенткой был заполнен опросник GSRS: абдоминальная боль – 13 баллов, диарейный синдром – 17 баллов, синдром запора – 3 балла.

По данным УЗИ ОБП: Заключение: патологии со стороны органов брюшной полости на момент осмотра не выявлено. По данным ЭГДС: заключение: эритематозная гастропатия. Колоноскопия: заключение: на всем протяжении толстой кишки и терминальном отделе подвздошной кишки без видимой органической патологии.

По данным анамнеза, объективного осмотра, лабораторных и инструментальных методов исследования, пациентке установлен диагноз: СРК: вариант с преобладанием диареи

Назначено лечение:

1. LOW-FODMAP диета.
2. Увеличение физической активности.
3. Мебеверин 200 мг. капсулы - 200 мг 2 раза в день за 20-30 минут перед едой – 4 недели

4. Смектит диоктаэдрический по 1 пакетику в сутки через час после приема пищи – до нормализации стула.

5. Мультиштаммовый пробиотик по 1 капсуле в сутки - 4 недели.

Через 28 дней пациентка отметила уменьшение болевого синдрома – боли беспокоили не более 1 раза в неделю и имели менее интенсивный характер, стул оформленный 3-4 тип по Бристольской шкале формы стула, 1-2 раза в день. При повторной оценке зонулина в кале – 55 нг/мл. Результаты метагеномного секвенирования 16S рРНК на фоне лечения представлены на рисунке 12.

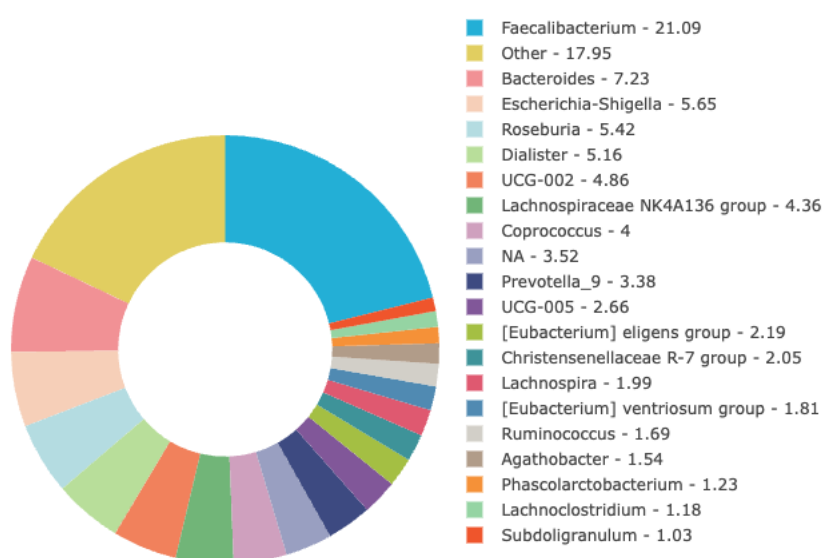


Рисунок 12 - Данные метагеномного секвенирования 16S рРНК пациентки 3. после приема пробиотиков

При повторном прохождении опросника GSRS: абдоминальная боль – 5 баллов, диарейный синдром – 3 балла, синдром запора – 3 балла.

Клинический пример №2

Пациентка О., 28 лет, обратилась с жалобами на схваткообразные боли в животе, которые возникают 3-4 раза в неделю, вздутие живота, которые возникают

2-3 раза в неделю, а также задержку стула более 3-х дней. Стул обычно самостоятельный, 1-2 тип по Бристольской шкале. После отхождения газов и стула боли в животе уменьшаются.

Анамнез настоящего заболевания: данные жалобы беспокоят в течение последних 6 месяцев, впервые появились после переезда в другой город. Не обследована. Самостоятельно принимала спазмолитики, лоперамид с незначительным эффектом. Настоящее ухудшение в течение 3 месяцев. Ухудшение состояния связывает с уменьшением физической активности, а также сильным стрессом на работе.

Анамнез жизни: образование высшее, работает программистом. Жилищные условия удовлетворительные, питание рациональное, физическая активность в течение дня низкая. В течение жизни переносила ОРВИ, детские инфекции. Хронические заболевания отрицает. Курит по 10 сигарет в сутки в течение 5 лет. Менструации начались с 12 лет. Беременностей, родов и аборотов не было. Наследственность отягощена по раку желудка по материнской линии. Замужем. Аллергии на лекарственные препараты отрицает. Выезд за границу в течение последних 6 месяцев отрицает.

По данным объективного осмотра живот вздут вздут, при пальпации болезненный по ходу толстой кишки, симптомы раздражения брюшины отрицательные.

При обследовании: клинический анализ крови: количество лейкоцитов – $5,5 \cdot 10^9/\text{л}$, гемоглобин общий – 128 г/л, гематокрит – 37,0 %, количество эритроцитов – $3,7 \cdot 10^{12}/\text{л}$, количество тромбоцитов – $265 \cdot 10^9/\text{л}$. Лимфоциты – $1,4 \cdot 10^9/\text{л}$, СОЭ – 1 мм/час. Биохимический анализ крови: общий белок – 73 г/л, билирубин общий – 15 мкмоль/л, билирубин прямой - 5 мкмоль/л, глюкоза – 4,4 ммоль/л, АЛТ – 22 ЕД/л, АСТ – 21 ЕД/л, ГГТ – 32 ЕД/л, ЩФ – 43 ЕД/л, креатинин - 70 мкмоль/л. Уровень зонулина в кале – 118 нг/мл. Данные метагеномного секвенирования 16S рРНК представлены на рисунке 13.

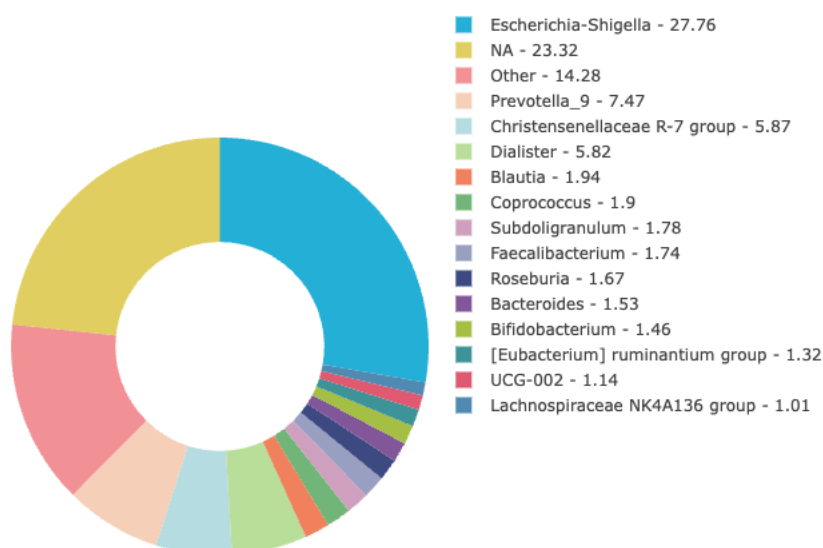


Рисунок 13 - Данные метагеномного секвенирования 16S рРНК пациентки О. до приема пробиотика

Также пациенткой был заполнен опросник GSRS: абдоминальная боль – 15 баллов, диарейный синдром – 3 балла, синдром запора – 18 баллов.

По данным УЗИ ОБП: заключение: патологии со стороны органов брюшной полости на момент осмотра не выявлено. По данным ЭГДС: заключение: без видимой органической патологии. Колоноскопия: заключение: на всем протяжении толстой кишки и терминальном отделе подвздошной кишки без видимой органической патологии.

По данным анамнеза, объективного осмотра, лабораторных и инструментальных методов исследования, пациентке установлен диагноз: СРК: вариант с преобладанием запоров.

Назначено лечение:

1. LOW-FODMAP диета.
2. Увеличение физической активности.
3. Мебеверин 200 мг. капсулы - 200 мг 2 раза в день за 20-30 минут перед едой – 4 недели

4. Шелуха семян подорожника овального по 1 пакетику 3 раза в сутки – длительно.

5. Мультиштаммовый пробиотик по 1 капсуле в сутки - 4 недели.

Через 28 дней пациентка отметила нормализацию стула – 3-4 тип по Бристольской шкале, 1 раз в 1-2 дня, уменьшение вздутия живота, а также полное исчезновение болей в животе.

При повторной оценке зонулина в кале – 48 нг/мл. Результаты метагеномного секвенирования 16S рРНК на фоне лечения представлены на рисунке 14.

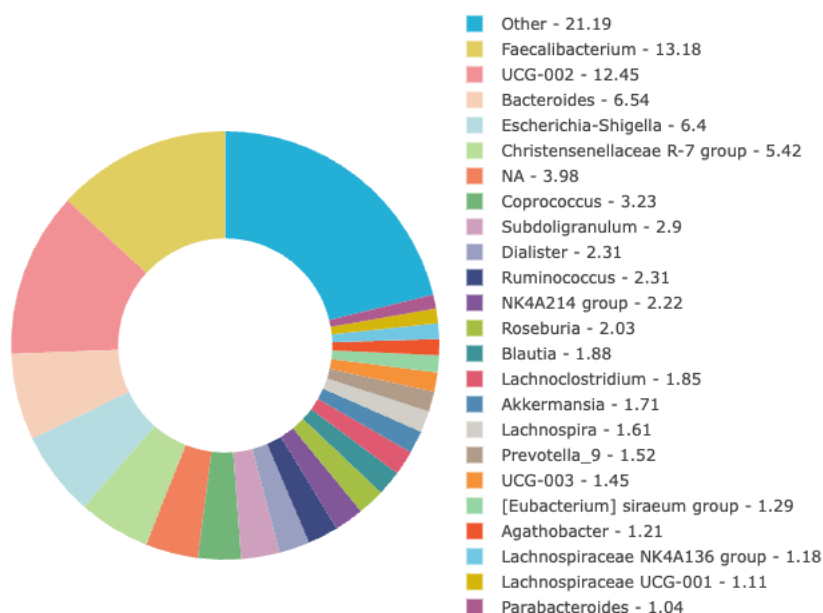


Рисунок 14 - Рисунок X. Данные метагеномного секвенирования 16S рРНК пациентки О. после приема пробиотика

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ СОБСТВЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Как нами было уже описано ранее, зонулин (пре-гаптоглобин-2 (pre-HP2)) - эндогенный человеческий аналог бактериального токсина zonula occludens, который играет роль в увеличении кишечной проницаемости за счет обратимой модуляции межклеточных плотных контактов, правильное функционирование которых имеет большое значение в поддержании физиологических процессов в кишечнике. Повышение уровня зонулина описано при различных заболеваниях кишечника, таких как: целиакия, чувствительность к глютену без целиакии, воспалительные заболевания кишечника, в том числе, имеются отдельные работы, которые описывают изменения уровня зонулина при синдроме раздраженного кишечника [164].

В нашем исследовании, включавшем 108 пациентов, значение зонулина в кале в кале в пределах референсных значений сохранялось у 30 (28%) человек, а повышенный и высокий был определен у 78 (72%) человек. Мы обнаружили, что у больных с ФЗК, уровень зонулина колеблется от 13,6 до 458,5 нг/мл, а медиана значений составила 113,5 (98,6-122,9; ДИ 95%) нг/мл. Наибольшее повышение отмечалось у больных с диарейным синдромом: у ФД - от 65,6 до 428,5 нг/мл, медиана значений составляла 130,3 (104,3-195,7; ДИ 95%) нг/мл и у СРК-Д уровень зонулина в кале составлял от 51,7 до 458,5 нг/мл, медиана значений составляла 121,7 (98,2 - 151,5; ДИ 95%) нг/мл [165].

P. Singh, J. Silvester et al. в своем исследовании оценивали уровень сывороточного зонулина у 50 пациентов с СРК-Д, 50 с СРК-З, 53 с целиакией и 47 человек из группы контроля. В результате эксперимента медиана уровня зонулина у СРК-Д составила 65,8 (43,3, - 93,4) нг/мл, а у СРК-З - 67,2 (44,2, - 91,2) нг/мл, что было сопоставимо с активной целиакией - 66,7 (55,2 - 80,5) нг/мл, а также пациенты с СРК-З и СРК-Д имели значительно более высокие уровни зонулина по сравнению с пациентами из группы контроля ($p = 0,006$ и $0,009$ соответственно) [11].

В еще одном исследовании, где рассматривались пациенты с СРК-Д, описано повышение уровня фекального зонулина до $127,0 \pm 67,0$ нг/мл у больных с низким и до $180,0 \pm 90,0$ нг/мл с высоким уровнем соматизации [166].

G. P. Caviglia, A. Tucci et al. обнаружили положительную корреляцию между уровнями зонулина и возрастом у пациентов с СРК-Д [167], однако мы не отметили зависимости уровня зонулина от возраста ($r=-0,173$; $p=0,07$). Так же не отмечалось значимой статистической разницы уровней зонулина между мужчинами и женщинами ($p=0,224$).

Микробиота является важным звеном поддержания гомеостаза в организме. Важность состава микробиоты заключается также в его способности повышать чувствительности нервной системы ЖКТ, влиять на образование газов и веществ, которые способны вызывать дискомфорт и болевые ощущения у пациентов с функциональными заболеваниями кишечника, а также изменять частоту и форму стула.

L. Krogius-Kurikka, A. Lyra et al. изучили микробиоту пациентов с СРК-Д и здоровых добровольцев и пришли к выводу о более низком микробном разнообразии у пациентов группы СРК-Д. В составе микробиоты больных с СРК-Д присутствовали в большом количестве Proteobacteria и Firmicutes и снижен уровень Actinobacteria и Bacteroidetes по сравнению с контролем [168].

I. B Jeffery, P. W O'Toole сообщили о наличии значительных изменения состава микробиоты и увеличением количества таксонов, связанных с Firmicutes, а также уменьшением количества таксонов, связанных с Bacteroidetes [169].

По данным исследования M. Rajilić-Stojanović, E. Biagi et al., пациенты с СРК, по сравнению с контрольной группой, имеют повышенное соотношение Firmicutes и Bacteroidetes в 2 раза ($P = 0,0002$), что, в свою очередь, повлияло на увеличение численности Dorea, Ruminococcus и Clostridium spp в 1,5 раза ($P < 0,005$) и снижение численности Bacteroidetes в 2 раза ($P < 0,0001$), а также снижение численности Bifidobacterium и Faecalibacterium spp. в 1,5 раза ($P < 0,05$) [170].

По данным крупного метаанализа (2019г.), у пациентов с СРК обнаружен повышенный уровень бактерий семейств Enterobacteriaceae, Lactobacillaceae и Bacteroidales, а также сниженный уровень Bifidobacterium, Faecalibacterium и Clostridiales по сравнению со здоровыми людьми из контрольной группы [33], в то время, как L. W Hugerth, A. Andreasson сообщают об отсутствии четких признаков микробиоты у пациентов с СРК.

Q. Su, H. M Tun et al. отметили снижение количества Firmicutes, Actinobacteriota, Verrucomicrobiota, Campilobacterota и обогащением протеобактерий у пациентов с СРК-Д и СРК-Н по сравнению с контрольной группой. У пациентов с СРК-З также наблюдалось повышенное содержание Verrucomicrobiota и Desulfobacterota [171].

В нашем исследовании при анализе микробного состава было обнаружено, что основная доля представлена бактериями типов Proteobacteria (53,1%) и Firmicutes (37,2%). Также у всех пациентов были обнаружены Bacteroidota, Actinobacteriota, Verrucomicrobiota.

При сравнении микробного разнообразия между больными с СРК-Д и СРК-З мы отметили более скудный бактериальный состав у больных с СРК-З. Количество было представлено Proteobacteria (52,5% - СРК-Д и 53,8% - СРК-З) и Firmicutes (37,8% - СРК-Д и 37,2% - СРК-З) и практически не различалось в обеих группах. Статистически незначимым, но явным различием было количество Bacteroidota, преобладавшее у СРК-Д [172].

При анализе микробного разнообразия Y. Wang, W. Ma, пришли к выводу о более низком микробном разнообразии у пациентов с СРК-Д, чем у участников без СРК или с СРК-З, что не совпадает с нашими данными.

Мы не обнаружили статистически значимых различий в составе микробиоты у больных с СРК-Д и СРК-З, однако, по данным секвенирования у пациентов с СРК-З можно отметить меньшее микробное разнообразие, что можно также проследить по значению Индекса Шеннона, различия которого были значимы статистически ($p=0,01$): 2,74 – у пациентов с СРК-Д и 1,55 с СРК-З.

В нашем исследовании мы предприняли попытку выяснить зависимость между характером микробиоты и изменением уровня зонулина. При изучении взаимосвязи между количеством фекального зонулина и составом микробиоты мы обнаружили обратную корреляционную взаимосвязь ($r_p = -0,379$) между долей бактерий типа *Firmicutes* и зонулином соответственно. Мы установили, что соотношение доли бактерий типа *Proteobacteria* к бактериям типа *Firmicutes* в микробиоте кишечника влияло на повышение фекального зонулина. Так снижение бактерий типа *Firmicutes* менее 68,8% приводило к увеличению уровня зонулина выше 110 нг/мл (чувствительность - 94,4%, специфичность - 56,25%), а увеличение доли бактерии типа *Proteobacteria* более 45,8% также повышало уровень зонулина в кале выше 110 нг/мл (чувствительность - 55,6% и, специфичность - 87,5%).

При снижении *Firmicutes* менее 68,8% мы отметили самый высокий ОР (ОР=7,17). Также установлено, что при снижении *Clostridia* менее 62,9% - ОР=5,25, а при увеличении *Proteobacteria* более 45,8% - ОР=2,69 и *Gammaproteobacteria* более 45,6% - ОР=2,38. При отношении *Proteobacteria*/ *Firmicutes* более 1,0 отмечается увеличение риска повышения зонулина более 110 нг/мл (P=2,79).

В доступной литературе, мы не обнаружили исследований, которые бы сопоставляли изменение микробиоты с изменением уровня зонулина.

G. P. Caviglia, A. Tucci et al. сообщаются о снижении зонулина сыворотки с $43,8 \pm 6,8$ нг/мл до $40,8 \pm 5,0$ нг/мл ($p = 0,036$), у пациентов, принимавших пробиотик (*Bifidobacterium longum* ES1) в течение 12 недель [167].

Нами были зарегистрированы схожие результаты. На фоне приема больными с ФЗК пробиотика в течение 4 недель значения зонулина колебались от 13,6 до 173,7 нг/мл, средний уровень составил $86,7 \pm 39,9$ нг/мл, а медиана значений зонулина - 82,3(73,9-93,9) нг/мл. Статистически значимое снижение отмечалось у ФД ($p=0,039$) и СРК-Д ($p=0,027$). Пациенты с СРК-З и ФЗ также продемонстрировали снижение показателей зонулина, однако эти результаты не оказались значимыми статистически - $p=0,089$ для СРК-З и $p=0,077$ для ФЗ. Среди пациентов с СРК-З уровень зонулина восстановился до нормальных

значений у 85% больных, у 11% сохранялся повышенным и у 4% – высоким. Похожие данные зарегистрированы среди больных с СРК-Д: у 82% - зонулин восстановился до нормальных значений, у 11% сохранялся повышенным и у 7% - высоким. В группе ФД уровень зонулина восстановился у 74% пациентов, у 15% - был повышен, а у 11% оставался высоким. У группы ФЗ: 85% - нормальный уровень зонулина, 12% - повышенный и 3% - высокий.

По данным проанализированной литературы также отмечается изменение состава микробиоты на фоне приема пациентами с СРК пробиотиков.

J. S. Yoon, W. Sohn описывают значительное увеличение уровня *Bifidobacterium Lactis*, *Lactobacillus rhamnosus* и *Streptococcus thermophilus* в группе, в течение 4 недель принимавшей пробиотик, содержащий смесь *B. longum*, *B. bifidum*, *B. Lactis*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* и *S. thermophilus*, в отличие от группы, принимавшей плацебо, где отмечено увеличение только уровня *B. Lactis* [173].

В исследовании, изучавшем влияние пробиотика на основе *Clostridium Butyricum* и плацебо на состав кишечной микробиоты у пациентов с СРК-Д, авторы пришли к выводу об отсутствии существенных различий в микробном разнообразии до и после лечения между группами пробиотика и плацебо [174].

K. Hod, R. Dekel, et al в ходе рандомизированного двойного слепого плацебо-контролируемого клинического исследования в параллельных группах изучили влияние на микробиоту пациентов с СРК-Д мультиштаммового пробиотика, содержащего *L rhamnosus* LR5 3X10⁹ КОЕ; *L casei* LC5 2X10⁹ КОЕ; *L paracasei* LPC5 1X10⁹ КОЕ; *L plantarum* LP3 1X10⁹ КОЕ; *L acidophilus* LA1 5X10⁹ КОЕ; *B bifidum* BF3 4X10⁹ КОЕ; *B longum* BG7 1X10⁹ КОЕ; *B breve* BR3 2X10⁹ КОЕ; *B infantis* BT1 1X10⁹ КОЕ; *S thermophilus* ST3 2X10⁹ КОЕ; *L bulgaricus* LG1; and *Lc.lactis* SL6 3X10⁹ КОЕ. Авторы пришли к выводу, что лечение данным пробиотиком не изменило фекальное микробное разнообразие или пропорции типов по сравнению с группой плацебо, что возможно связано с отсутствием клинической эффективности этого препарата [175].

В нашем исследовании был использован мультиштаммовый пробиотик, в состав которого входили: *Lactobacillus acidophilus* $1,25 \times 10^9$ КОЕ, *Bifidobacterium lactis* - $1,25 \times 10^9$ КОЕ, *Lactobacillus paracasei* - $1,25 \times 10^9$ КОЕ, *Lactobacillus rhamnosus* - $1,25 \times 10^9$ КОЕ.

Рассматривая изменения бактериального состава на фоне приема пробиотика у СРК-Д, нами отмечено статистически значимое снижение уровня Proteobacteria и повышение уровня Firmicutes ($p \leq 0,1$). Обнаружена динамика в снижении Bacteroidota и повышении Negativicutes. Значимость этих данных не подтверждена статистически, что может быть связано с небольшим количеством проанализированных образцов микробиоты. Достоверным оказалось снижение Gammaproteobacteria ($p \leq 0,1$) и увеличение уровня Clostridia ($p \leq 0,05$). Также мы обнаружили увеличение микробного разнообразия за счет отрядов Christensenellales, Verrucomicrobiales, и Monoglobales. На фоне приема пробиотиков, результаты секвенирования микробиоты у СРК-З продемонстрировали достоверное снижение количества Proteobacteria и увеличение Firmicutes ($p \leq 0,1$). В отличие от СРК-Д обнаружено снижение Negativicutes с 3,39% до 0,952%, однако оно также оказалось статистически незначимым. Также отмечалось снижение количества Gammaproteobacteria, повышение Clostridia ($p \leq 0,1$). Микробное разнообразие расширилось за счет представителей отрядов Christensenellales и Veillonellales-Selenomonadales. Кроме того, отмечено статистически значимое увеличение ИШ у больных с СРК-Д с 2,74 до 3,01 ($p=0,07$) и у СРК-З с 1,55 до 2,68 ($p=0,03$).

При анализе влияния приема пробиотиков на симптомы у исследуемой группы больных нами отмечено положительное их влияние. Так, при анализе опросников GSRS, заполненных больными с СРК до и после лечения, было отмечено снижение абдоминальных симптомов (M0) с 12,36 до 4,56 баллов у СРК-Д, и с 13,24 до 3,66 баллов у СРК-З. Отмечена положительная динамика в снижении жалоб, связанных с диарейным синдромом у СРК-Д (M0=15,24 – до приема, M0=5,04 – после приема) и синдромом запора у СРК-З (M0=15,85 – до приема, M0=4,43 – после приема) [172,176].

Большое количество исследований демонстрирует сходже с нашим результаты. Так, B. Skrzydło-Radomańska, B. Prozorow-Król при помощи двойного слепого плацебо-контролируемого исследования изучили влияние пробиотика, включающего в свой состав смесь *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* и *Streptococcus thermophilus*, на тяжесть симптомов у пациентов с СРК. Для оценки эффективности авторы использовали шкалы глобального улучшения (IBS-GIS) и систему оценки тяжести синдрома раздраженного кишечника (IBS-SSS). В результате пробиотик по сравнению с плацебо достоверно уменьшал выраженность симптомов СРК (изменение общего балла по шкале IBS-SSS от исходного уровня – $165,8 \pm 78,9$ в группе пробиотика и – $105,6 \pm 60,2$ в группе плацебо, $p = 0,005$) и специфических показателей, связанных с тяжестью боли ($p = 0,015$) и качеством жизни ($p = 0,016$) после восьми недель приема. В группе пробиотиков регистрировалось улучшение симптомов при использовании шкалы IBS-GIS по сравнению с группой плацебо уже через четыре недели ($p = 0,04$) и восемь недель ($p = 0,003$) [177].

A. C Ford, L. A Harris опубликовали самый большой метаанализ с участием 5545 пациентов, где также получены данные о положительном действии пробиотиков на общие симптомы СРК и боль в животе [57].

G. Konstantis, S. Efstathiou впервые провели систематический обзор и метаанализ эффективности и безопасности пробиотиков при лечении синдрома раздраженного кишечника среди исследований, в которых диагноз СРК был установлен при помощи Римских критериев IV. В статью включены 970 участников с различными типами СРК. Отмечен положительный эффект от приема пробиотиков на такие симптомы, как на боль и вздутие живота, однако из-за больших различий в исследованиях авторы не смогли сделать однозначный вывод [14].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В текущей работе представлены данные об уровнях зонулина - физиологического модулятора проницаемости кишечника, а также состав микробиоты кишечника до и после приема пробиотиков требуются дальнейшие исследования для определения клинической возможности коррекции уровня зонулина и, соответственно, кишечной проницаемости у пациентов с ФЗК. Согласно данным литературы, изменение кишечной проницаемости наблюдается у пациентов с целиакией, чувствительностью к глютену без целиакии, ВЗК, однако, для уточнения роли зонулина в патогенезе ФЗК требуются дальнейшие исследования. Описаны изменения в составе микробиоты кишечника и положительный эффект от приема пробиотиков у данной группой пациентов, но для определения клинической возможности влияния на кишечную проницаемость и уровень зонулина также необходимы дальнейшие исследования.

В ходе нашего исследования всем 108 пациентам выполнены: клинический, биохимический (общий белок, билирубин общий и прямой, АСТ, АЛТ, ЩФ, ГГТ, глюкоза, креатинин) анализы крови. Также для исключения органической патологии всем пациентам выполнены: УЗИ ОБП, ЭГДС, видеоколоноскопия с осмотром терминального отдела подвздошной кишки. Помимо стандартных обследований всем пациентам выполнен ИФА образцов кала для определения концентрации зонулина до и через 28 дней после приема пробиотика. Также 17 пациентам с СРК выполнено секвенирование 16S рРНК до и через 28 дней после приема пробиотика.

Согласно нашим результатам у 78 пациентов с ФЗК определена концентрация зонулина, которая превосходила референтные значения. В большинстве случаев увеличение кишечной проницаемости отмечалось у пациентов с диарейным синдромом.

У пациентов с СРК отмечалось преобладание бактерий типа *Proteobacteria*, а также не было обнаружено различий в составе микробиоты между СРК-Д и СРК-З.

Доказана статистически значимая корреляционная связь между составом микробиоты и уровнем зонулина.

Применение пробиотика приводило к снижению количества бактерий типа *Proteobacteria* и увеличению типа *Firmicutes*, снижению уровня зонулина в кале, а также улучшению качества жизни пациентов с ФЗК.

ВЫВОДЫ

1. У больных с функциональными заболеваниями кишечника уровень зонулина в кале колеблется от 13,6 до 458,5 нг/мл. У 30(28%) он был в пределах референтных значений, повышенный уровень отмечался у 24(22%) больных, а высокий уровень зонулина у 54(50%) больных. Наиболее высокий уровень зонулина отмечался у больных с функциональной диарей 130,3 нг/мл и СРК-Д 121,7 нг/мл, и был статистически значимо выше, чем у больных с функциональным запором - 105 нг/мл ($p \leq 0,05$) и СРК-З 98,5 нг/мл ($p \leq 0,05$).

2. По результатам метагеномного секвенирования 16S рРНК у всех пациентов были обнаружены бактерии типов: Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroidota, Actinobacteriota, Verrucomicrobiota. Наибольшую долю составляли Proteobacteria – 53,1%. Бактерии типа Firmicutes составляли 37,2%. Остальные типы бактерий (Patescibacteria, Chloroflexi, Campylobacterota, Мухоскокота, Acidobacteriota, Deferribacterota, Cyanobacteria) составляли 1% и менее от всего состава микробиоты. Статистически значимых различий в составе микробиоты у больных с СРК-Д и СРК-З не отмечалось, но у пациентов с СРК-З отмечалась меньшее микробное разнообразие. Индекс альфа разнообразия Шеннона у больных с СРК-Д составила 2,74 и был статистически значимо выше, чем у больных с СРК-З -1,55 ($p=0,01$).

3. Между составом микробиоты и уровнем зонулина отмечается статистически значимая корреляционная зависимость. Снижение доли бактерий Firmicutes и повышение бактерий Proteobacteria приводит к увеличению уровня зонулина в кале. ROC взаимосвязь между отношением доли Proteobacteria/Firmicutes и повышением уровнем зонулина в кале выше 110 нг/мл составляла – $AUC_{ROC}=0,712(0,531-0,854; \text{ДИ } 95\%), p=0,02$. ОР повышение зонулина более 110 нг/мл и долей Firmicutes $\leq 68,8\%$ составляет 7,17(1,08-47,6 ДИ 95%; $p=0,041$), ОР при доли Proteobacteria $>45,8\%$ - 2,69(1,29-5,37 ДИ 95%; $p=0,009$), ОР при уровне Clostridia $\leq 62,9\%$ - 5,25(1,46-18,9 ДИ 95%; $p=0,011$), ОР при уровне Gammaproteobacteria $>45,6\%$ - 2,38(1,13-5,02 ДИ 95%; $p=0,023$).

4. Применение пробиотика у больных с функциональными заболеваниями кишечника снижает уровень зонулина в кале 82,3(73,9-93,9) нг/мл ($p \leq 0,05$), в т.ч. у больных с СРК-Д до 67,8 нг/мл ($p \leq 0,05$), у больных с функциональной диарей до 81,1 нг/мл ($p \leq 0,05$), у больных с функциональным запором до 92,8 нг/мл ($p \leq 0,1$) и больных с СРК-З до 79,1 нг/мл ($p \leq 0,1$). У больных с СРК-З уровень зонулина в кале восстановился до нормальных значений у 23(85%), $p=0,004$; функциональным запором у 22(85%), $p=0,003$; с СРК-Д у 23(82%) больных, $p=0,0001$; у больных с функциональной диарей у 20(74%), $p=0,0003$.

5. Применение пробиотика приводило к изменению состава микробиоты. У больных СРК-Д мы отметили снижение уровня Proteobacteria с 52,5% до 14,7 ($p \leq 0,1$) и повышение уровня Firmicutes с 37,8% до 60,4% ($p \leq 0,1$). При этом, Campylobacterota снизился с 0,074% до 0,024% и Patescibacteria с 0,024% до 0,007% ($p \leq 0,05$). Статистически значимо увеличились Clostridia с 21,9% до 56,3% ($p \leq 0,05$), снизились Enterobacterales с 52,0% до 14,1% ($p \leq 0,05$). У пациентов с СРК-З отмечалось так же снижение количества Proteobacteria с 53,8% до 20,2% ($p \leq 0,1$) и увеличение Firmicutes с 37,2% до 69% ($p \leq 0,1$). Уменьшилась доля Gammaproteobacteria с 53,8% до 20,1% ($p \leq 0,1$) и увеличилась Clostridia с 35,6% до 64,6% ($p \leq 0,1$). Микробное разнообразие увеличилось за счет Campylobacter и KD4_96. Индекс альфа разнообразия Шеннона (ИШ) у больных с СРК-Д увеличился с 2,74 до 3,01 ($p=0,07$), с СРК-З вырос до 2,68 ($p=0,03$).

6. Применение мультиштаммового пробиотика приводит к положительной динамике основных клинических проявлений функциональных заболеваний кишечника по шкале GSRS. У больных с СРК-Д и СРК-З отмечалась статистически значимое снижение симптомов боли с 12,36 до 4,56 баллов ($p \leq 0,05$), а у больных СРК-З с 13,24 до 3,66 баллов ($p \leq 0,05$). Диарейного синдрома с 15,24 до 5,04 баллов ($p \leq 0,05$), а у больных с СРК-З и симптомов запора с 15,85 до 4,43 баллов ($p \leq 0,05$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В план обследования больных с функциональными заболеваниями кишечника необходимо включать определение уровня зонулина в кале как одного из критериев нарушения межклеточных взаимодействий и кишечной проницаемости.

2. Повышение уровня зонулина в кале у больных с функциональными заболеваниями кишечника является дополнительным критерием к назначению мультиштаммового пробиотика у больных функциональными заболеваниями кишечника.

3. Изменение в микробиоте кишечника отношения *Proteobacteria/Firmicutes* более 1,0 можно расценивать как один из признаков нарушения микробиоты при СРК.

4. Необходимо включать пробиотики в состав комплексной функциональных заболеваний кишечника для повышения эффективности проводимой терапии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Global prevalence of functional constipation according to the Rome criteria: a systematic review and meta-analysis / Barberio B., Judge C., Savarino E.V., [et al.] // *Lancet Gastroenterol Hepatol.* - 2021. - Vol.6. - №8. - P.638-648.
2. Синдром раздраженного кишечника в Российской Федерации - результаты многоцентрового наблюдательного исследования ROMERUS / Маев И.В., Охлобыстина О.З., Халиф И.Л., Андреев Д.Н. // *Терапевтический архив.* - 2023. - Т.95. - №1. - С.38–51.
3. Lovell, R.M. Global prevalence of and risk factors for irritable bowel syndrome: a meta-analysis / Lovell R.M., Ford A.C. // *Clin Gastroenterol Hepatol.* - 2012. - Vol.10. - P. 712-721.
4. Worldwide Prevalence and Burden of Functional Gastrointestinal Disorders, Results of Rome Foundation Global Study / Sperber A.D., Bangdiwala S.I., Drossman D.A., [et al.] // *Gastroenterology.* - 2021. - Vol.160. - P. 99-114.
5. Intestinal permeability in patients with irritable bowel syndrome after a waterborne outbreak of acute gastroenteritis in Walkerton, Ontario / Marshall J.K., Thabane M., Garg A.X., [et al.] // *Aliment Pharmacol Ther.* – 2004. – Vol.20. - №11-12. - P. 1317–1322.
6. Impaired intestinal barrier integrity in the colon of patients with irritable bowel syndrome: involvement of soluble mediators / Piche T., Barbara G., Aubert P., [et al.] // *Gut.* - 2009. – Vol.58. - P.196–201.
7. Combination of allergic factors can worsen diarrheic irritable bowel syndrome: role of barrier defects and mast cells / Vivinus-Nébot M., Dainese R., Anty R., [et al.] // *Am J Gastroentero.* – 2012. – Vol.10. – P.75–81.
8. Farquhar, M.G. Junctional complexes in various epithelia / Farquhar M.G., Palade G.E. // *J Cell Biol.* - 1963. - Vol.17. - P.375–412.
9. Turner, J.R. Intestinal mucosal barrier function in health and disease / Turner J.R. // *Nat Rev Immunol.* - 2009. – Vol.9. - P.799–809.

10. Zonulin, a newly discovered modulator of intestinal permeability, and its expression in coeliac disease / Fasano A., Not T., Wang W., [et al.] // *Lancet*. – 2000. – Vol.355. – P.1518–1519.

11. Serum zonulin is elevated in IBS and correlates with stool frequency in IBS-D / Singh P., Silvester J., Chen X., [et al.] // *United European Gastroenterol J*. – 2019. - Vol.7. – P. 709–715.

12. Correlation Between Zinc Nutritional Status with Serum Zonulin and Gastrointestinal Symptoms in Diarrhea-Predominant Irritable Bowel Syndrome: A Case-Control Study / Rezazadegan M., Soheilipour M., Tarrahi M.J., Amani R. // *Dig Dis Sci*. – 2022. - Vol.67. – P.3632–3638.

13. Практические рекомендации Научного сообщества по содействию клиническому изучению микробиома человека (НСОИМ) и Российской гастроэнтерологической ассоциации (РГА) по применению пробиотиков, пребиотиков, синбиотиков и обогащенных ими функциональных пищевых продуктов для лечения и профилактики заболеваний гастроэнтерологического профиля у детей и взрослых / В.Т. Ивашкин, И.В. Маев, Д.И. Абдулганиева, [и др.] // *Российский Журнал Гастроэнтерологии, Гепатологии, Колопроктологии*. – 2021. - Т.31. – №2. - С.65–91.

14. Efficacy and safety of probiotics in the treatment of irritable bowel syndrome: A systematic review and meta-analysis of randomised clinical trials using ROME IV criteria / Konstantis G., Efstathiou S., Pourzitaki C., [et al.] // *Clin Nutr*. – 2023. - Vol.42. – P.800–809. <https://doi.org/10.1016/J.CLNU.2023.03.019>.

15. The efficacy and safety of probiotics for patients with constipation-predominant irritable bowel syndrome: A systematic review and meta-analysis based on seventeen randomized controlled trials / Wen Y., Li J., Long Q., [et al.] // *Int J Surg*. – 2020. – Vol.79. – P.111–119.

16. Effectiveness of probiotics in irritable bowel syndrome: Updated systematic review with meta-analysis / Didari T., Mozaffari S., Nikfar S., Abdollahi M. // *World J Gastroenterol*. – 2015. – Vol.21. – P.3072–3084.

17. Bowel Disorders / Lacy B.E., Mearin F., Chang L., [et al.] // *Gastroenterology*. – 2016. – Vol.150. – P.1393-1407.
18. International survey of patients with ibs: symptom features and their severity, health status, treatments, and risk taking to achieve clinical benefit / Drossman D.A., Morris C.B., Schneck S., [et al.] // *J Clin Gastroenterol*. – 2009. – Vol.43. – P.541-550.
19. IBS patients' willingness to take risks with medications / Lacy B.E., Everhart K.K., Weiser K.T., [et al.]. // *Am J Gastroenterol*. – 2012. – Vol.107. – P.804–809.
20. Effects of Irritable Bowel Syndrome on Daily Activities Vary Among Subtypes Based on Results from the IBS in America Survey / Ballou S., McMahon C., Lee H.N., [et al.] // *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. – 2019. – Vol.17. – P.2471-2478.
21. Anxiety and depression comorbidities in irritable bowel syndrome (IBS): a systematic review and meta-analysis / Fond G., Loundou A., Hamdani N., [et al.] // *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* – 2014. – Vol.264. – P.651–660.
22. Economic burden of irritable bowel syndrome with constipation: a retrospective analysis of health care costs in a commercially insured population / Doshi J.A., Cai Q., Buono J.L., [et al.] // *J Manag Care Spec Pharm*. – 2014. – Vol.20. – P.382–390.
23. Canavan, C. Review article: the economic impact of the irritable bowel syndrome / Canavan C., West J., Card T. // *Aliment Pharmacol Ther*. – 2014. – Vol.40. - P.1023–1034.
24. Drossman, D.A. Functional gastrointestinal disorders: History, pathophysiology, clinical features, and Rome IV / Drossman D.A. // *Gastroenterology*. – 2016. – Vol.150. – P.1262-1279.
25. The Role of Visceral Hypersensitivity in Irritable Bowel Syndrome: Pharmacological Targets and Novel Treatments / Farzaei M.H., Bahramsoltani R., Abdollahi M., Rahimi R. // *J Neurogastroenterol Motil*. – 2016. – Vol.22. – P. 558–574.
26. The hypersensitivity to colonic distension of IBS patients can be transferred to rats through their fecal microbiota / Crouzet L., Gaultier E., Del'Homme C., [et al.] // *Neurogastroenterology and Motility*. – 2013. – Vol.25. - №4. – P.272-82.

27. Effect of probiotic bacteria on the intestinal microbiota in irritable bowel syndrome / Ng S.C., Lam E.F.C., Lam T.T.Y., [et al.] // *J Gastroenterol Hepatol.* – 2013. – Vol.28. – P.1624–1631.

28. An irritable bowel syndrome subtype defined by species-specific alterations in faecal microbiota / Jeffery I.B., O'Toole P.W., Öhman L., [et al.] // *Gut.* – 2012. – Vol.61. – P.997–1006.

29. Alterations in composition and diversity of the intestinal microbiota in patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome / Carroll I.M., Ringel-Kulka T., Siddle J.P., Ringel Y. // *Neurogastroenterology and Motility.* - 2012. – Vol.24. - №6. – P.521-530.

30. A molecular analysis of fecal and mucosal bacterial communities in irritable bowel syndrome / Codling C., O'Mahony L., Shanahan F., [et al.] // *Dig Dis Sci.* – 2010. Vol.55. - №2. – P.392–397.

31. Gut microbiota composition and functional prediction in diarrhea-predominant irritable bowel syndrome / Mei L., Zhou J., Su Y., [et al.] // *BMC Gastroenterol.* – 2021. - Vol.21. - №1. – P. 105

32. Evidence of altered mucosa-associated and fecal microbiota composition in patients with irritable bowel syndrome / Sundin J., Aziz I., Nordlander S., Polster A., [et al.] // *Scientific RepoRtS.* - 2020. – Vol.10. – P.593.

33. Gut microbiota in patients with irritable bowel syndrome - a systematic review / Pittayanon R., Lau J.T., Yuan Y., [et al.] // *Gastroenterology.* – 2019. - Vol.157. – P.97–108.

34. Reduction of butyrate-and methane-producing microorganisms in patients with irritable bowel syndrome / Pozuelo M., Panda S., Santiago A., [et al.] // *Scientific RepoRts.* – 2015. – Vol.5. - P.12693.

35. Adak, A. An insight into gut microbiota and its functionalities / Adak A., Khan M.R. // *Cellular and Molecular Life Sciences.* – 2019. – Vol.76. – P.473–493.

36. The resilience of the intestinal microbiota influences health and disease / Sommer F., Anderson J.M., Bharti R., [et al.] // *Nat Rev Microbiol.* – 2017. – Vol.15. – P.630–638.

37. Glutamatergic Signaling Along the Microbiota-Gut-Brain Axis / Baj A., Moro E., Bistoletti M., [et al.] // *Int J Mol Sci.* - 2019. – Vol.20. – P.1482.
38. Alterations in short-chain fatty acids and serotonin in irritable bowel syndrome: a systematic review and meta-analysis / Luo M., Zhuang X., Tian Z., Xiong L. // *BMC Gastroenterol.* – 2021. – Vol.21. – P.14.
39. Intestinal serotonin release, sensory neuron activation, and abdominal pain in irritable bowel syndrome / Cremon C., Carini G., Wang B., [et al.] // *Am J Gastroenterol.* – 2011. – Vol.106. – P.1290–1298.
40. Aggarwal, S. Dysregulation of GABAergic Signalling Contributes in the Pathogenesis of Diarrhea-predominant irritable bowel syndrome / Aggarwal S., Ahuja V., Paul J. // *J Neurogastroenterol Motil.* – 2018. – Vol.24. – P.422–430.
41. Differential expression of toll-like receptors in patients with irritable bowel syndrome / Brint E.K., MacSharry J., Fanning A., [et al.] // *Am J Gastroenterol.* – 2011. – Vol.106. – P.329–336.
42. Altered peripheral toll-like receptor responses in the irritable bowel syndrome / McKernan D.P., Gaszner G., Quigley E.M., [et al.] // *Aliment Pharmacol Ther.* – 2011. – Vol.33. – P.1045–1052.
43. Prevalence, Risk Factors, and Outcomes of Irritable Bowel Syndrome After Infectious Enteritis: A Systematic Review and Meta-analysis / Klem F., Wadhwa A., Prokop L.J., [et al.] // *Gastroenterology.* – 2017. – Vol.152. – P.1042-1054.e1.
44. Post-infectious irritable bowel syndrome after a laboratory-proven enteritis / Iacob T., Țățulescu D.F., Lupșe M.S., Dumitrașcu D.L. // *Exp Ther Med.* – 2020. – Vol.20. – P.3517.
45. Antibiotics increase functional abdominal symptoms / Maxwell P.R., Rink E., Kumar D., Mendall M.A. // *Am J Gastroenterol.* – 2002. – Vol.97. – P.104–108.
46. Non-enteric Infections, Antibiotic Use, and Risk of Development of Functional Gastrointestinal Disorders / Paula H., Grover M., Halder S.L., [et al.]. // *Neurogastroenterol Motil.* – 2015. – Vol.27. – P.1580-1586.

47. Abnormal breath testing in IBS: a meta-analysis / Shah E.D., Basseri R.J., Chong K., Pimentel M. / Giamarellos-Bourboulis E., Tang J., Pyleris E., Pistiki A., [et al.] // *Dig Dis Sci.* – 2010. - Vol.55. – P.2441–2449.

48. Molecular assessment of differences in the duodenal microbiome in subjects with irritable bowel syndrome / E. Giamarellos-Bourboulis, J. Tang, E. Pyleris, [et al.] // *Scand J Gastroenterol* – 2015. - Vol.50 -P.1076–87.

49. Small Intestinal Bacterial Overgrowth in Irritable Bowel Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis of Case-Control Studies / Shah A., Talley N.J., Jones M., [et al.] // *Am J Gastroenterol* – 2020. – Vol.115. – P.190–201.

50. Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics: Implications and Beneficial Effects against Irritable Bowel Syndrome / Simon E., Călinoiu L.F., Mitrea L., Vodnar D.C. // *Nutrients.* – 2021. - Vol.13. - №6. – P.2112

51. Clinical trial: the effects of a trans-galactooligosaccharide prebiotic on faecal microbiota and symptoms in irritable bowel syndrome / Silk D., Davis A., Vulevic J., [et al.] // *Aliment Pharmacol Ther.* – 2009. – Vol.29. – P.508–518.

52. Effects of synbiotic fermented milk containing *Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12 on the fecal microbiota of adults with irritable bowel syndrome: A randomized double-blind, placebo-controlled trial / Bogovič Matijasic B., Obermajer T., Lipoglavsek L., [et al.] // *J Dairy Sci.* – 2016. – Vol.99. – P.5008–5021.

53. A pilot study on the effect of a symbiotic mixture in irritable bowel syndrome: an open-label, partially controlled, 6-month extension of a previously published trial / Bucci C., Tremolaterra F., Gallotta S., [et al.] // *Tech Coloproctol.* – 2014. – Vol.18. – P.345–353.

54. Диагностика и лечение синдрома раздраженного кишечника (Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации и Ассоциации колопроктологов России) / В.Т. Ивашкин, И.В. Маев, Ю.А. Шельгин, [и др.] // *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.* – 2021. - Т.31. - №5. - №74–95.

55. Effects of 28-day *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* HN019 supplementation on colonic transit time and gastrointestinal symptoms in adults with functional constipation: A double-blind, randomized, placebo-controlled, and dose-ranging trial. / Ibarra A., Latreille-Barbier M., Donazzolo Y., [et al.] // *Gut Microbes*. – 2018. – Vol.9. – P. 236–51.

56. Impact of a probiotic product on bowel habits and microbial profile in participants with functional constipation: A randomized controlled trial / Martoni C.J., Evans M., Chow C., [et al.] // *J Dig Dis*. – 2019. – Vol.20. – P. 435–446.

57. Systematic review with meta-analysis: the efficacy of prebiotics, probiotics, synbiotics and antibiotics in irritable bowel syndrome / Ford A.C., Harris L.A., Lacy B.E., [et al.] // *Aliment Pharmacol Ther*. – 2018. – Vol.48. – P.1044–1060.

58. Harris, L.A. Modulation of the gut microbiota: a focus on treatments for irritable bowel syndrome / Harris L.A., Baffy N. // *Postgrad Med*. – 2017. – Vol.129. – P.872–888. <https://doi.org/10.1080/00325481.2017.1383819>.

59. Intestinal permeability – a new target for disease prevention and therapy. / Bischoff S.C., Barbara G., Buurman W., [et al.] // *BMC Gastroenterol*. – 2014. – Vol. 18. – №14. – P.189.

60. Occludin: a novel integral membrane protein localizing at tight junctions / Furuse M., Hirase T., Itoh M., [et al.] // *J Cell Biol*. – 1993. – Vol.123. – P.1777–1788.

61. Claudin-1 and -2: novel integral membrane proteins localizing at tight junctions with no sequence similarity to occluding / Furuse M., Fujita K., Hiiragi T., [et al.] // *J Cell Biol*. – 1998. – Vol.141. – P.1539–1550.

62. Junctional adhesion molecule, a novel member of the immunoglobulin superfamily that distributes at intercellular junctions and modulates monocyte transmigration / Martìn-Padura I., Lostaglio S., Schneemann M., [et al.] // *J Cell Biol*. – 1998. – Vol.142. – P.117–127.

63. Tricellulin constitutes a novel barrier at tricellular contacts of epithelial cells / Ikenouchi J., Furuse M., Furuse K., [et al.] // *J Cell Biol*. – 2005. – Vol.171. – P.939–945.

64. Analysis of the “angulin” proteins LSR, ILDR1 and ILDR2--tricellulin recruitment, epithelial barrier function and implication in deafness pathogenesis / Higashi T., Tokuda S., Kitajiri S.I., [et al.] // J Cell Sci. - 2013. – Vol.126. - P.966–977.
65. *Vibrio cholerae* produces a second enterotoxin, which affects intestinal tight junctions / Fasano A., Baudry B., Pumphlin D.W., [et al.] // Proc Natl Acad Sci USA. – 1991. – Vol.88. – P.5242–5246.
66. Zonula occludens toxin modulates tight junctions through protein kinase C-dependent actin reorganization, in vitro / Fasano A., Fiorentini C., Donelli G., [et al.] // J Clin Invest. – 1995. - Vol.96. – P.710-720.
67. Identification of human zonulin, a physiological modulator of tight junctions, as prehaptoglobin-2 / Tripathi A., Lammers K.M., Goldblum S., [et al.] // Proc Natl Acad Sci USA. – 2009. – Vol.106. – P. 16799–16804.
68. Host-dependent zonulin secretion causes the impairment of the small intestine barrier function after bacterial exposure / Asmar R., Panigrahi P., Bamford P., [et al.] // Gastroenterology. – 2002. – Vol.123. – P.1607–1615.
69. All-Russian Consensus on Diagnosis and Treatment of Celiac Disease in Children and Adults / Parfenov A.I., Bykova S.V., Sabelnikova E.A., Maev I.V., [et al.] // Ter Arkh. – 2017. - Vol.89. – P.94–107.
70. Early effects of gliadin on enterocyte intracellular signalling involved in intestinal barrier function / Clemente M.G., De Virgiliis S., Kang J.S., [et al.] // Gut. - 2003. - Vol.52. – P.218-223.
71. Gliadin stimulation of murine macrophage inflammatory gene expression and intestinal permeability are MyD88-dependent: role of the innate immune response in Celiac disease / Thomas K.E., Sapone A., Fasano A., Vogel S.N. // J Immunol. – 2006. – Vol.176. – P.2512–2521.
72. Gliadin induces an increase in intestinal permeability and zonulin release by binding to the chemokine receptor CXCR3 / Lammers K.M., Lu R., Brownley J., [et al.] // Gastroenterology. – 2008. – Vol.135. – P. 194-204. e3.

73. Larazotide acetate promotes tight junction assembly in epithelial cells / Gopalakrishnan S., Tripathi A., Tamiz A.P., [et al.] // *Peptides* (NY). – 2012. – Vol.35. – P.95–101.

74. Larazotide acetate for treatment of celiac disease: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials / Hoilat G.J., Altowairqi A.K., Ayas M.F., [et al.]. // *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* – 2022. – Vol.46. – P.101782.

75. The safety, tolerance, pharmacokinetic and pharmacodynamic effects of single doses of AT-1001 in coeliac disease subjects: a proof of concept study / Paterson B.M., Lammers K.M., Arrieta M.C., [et al.] // *Aliment Pharmacol Ther.* – 2007. - Vol.26. – P.757–766.

76. A randomized, double-blind study of larazotide acetate to prevent the activation of celiac disease during gluten challenge / Leffler D.A., Kelly C.P., Abdallah H.Z., [et al.] // *Am J Gastroenterol.* – 2012. – Vol.107. – P.1554–1562.

77. Larazotide acetate for persistent symptoms of celiac disease despite a gluten-free diet: a randomized controlled trial / Leffler D.A., Kelly C.P., Green P.H.R., [et al.] // *Gastroenterology.* – 2015. – Vol.148. – P.1311-1319.e6.

78. Non-celiac gluten sensitivity: questions still to be answered despite increasing awareness / Volta U., Caio G., Tovoli F., De Giorgio R. // *Cell Mol Immunol.* – 2013. – Vol.10. – P.383–392.

79. Non-celiac gluten sensitivity: Clinical presentation, etiology and differential diagnosis / Expósito Miranda M., García-Valdés L., Espigares-Rodríguez E., [et al.] // *Gastroenterol Hepatol.* – 2023. – Vol.46. – P.562–571.

80. Effect of gliadin on permeability of intestinal biopsy explants from celiac disease patients and patients with non-celiac gluten sensitivity / Hollon J., Puppa E.L., Greenwald B., [et al.] // *Nutrients.* – 2015. – Vol.7. – P.1565–1576.

81. Serum zonulin and its diagnostic performance in non-coeliac gluten sensitivity / Barbaro M.R., Cremon C., Morselli-Labate A.M., [et al.] // *Gut.* – 2020. – Vol.69. – P.1966–1974.

82. Celiac disease detection rate in gastroenterological patients / Bykova S. V., Sabelnikova E.A., Gudkova R.B., [et al.] // *Ter Arkh.* – 2016. – Vol.88. – P.39–43.

83. Intestinal permeability and the prediction of relapse in Crohn's disease / Wyatt J., Vogelsang H., Hübl W., [et al.] // *Lancet*. – 1993. – Vol.341. – P.1437–1439.

84. Intestinal permeability in Crohn's disease patients and their first degree relatives / Secondulfo M., De Magistris L., Fiandra R., [et al.]. // *Dig Liver Dis*. – 2001. – Vol.33. – P.680–685.

85. Mankertz, J. Altered permeability in inflammatory bowel disease: pathophysiology and clinical implications / Mankertz J., Schulzke J.D. // *Curr Opin Gastroenterol*. – 2007. – Vol.23. – P.379–383.

86. Laukoetter, M.G. Role of the intestinal barrier in inflammatory bowel disease / Laukoetter M.G., Nava P., Nusrat A. // *World J Gastroenterol*. – 2008. – Vol.14. – P.401–407.

87. Epithelial tight junctions in intestinal inflammation / Schulzke J.D., Ploeger S., Amasheh M., [et al.] // *Ann N Y Acad Sci*. – 2009. – Vol.1165. – P.294–300.

88. Intestinal barrier dysfunction in inflammatory bowel diseases / McGuckin M.A., Eri R., Simms L.A., [et al.] // *Inflamm Bowel Dis*. – 2009. - Vol.15. – P.100–113.

89. Increased intestinal permeability in inflammatory bowel diseases assessed by iohexol test / Va G., Sg S., Ds K., Da S. // *World J Gastroenterol*. -2011. – Vol.17. – P.2211.

90. Reducing small intestinal permeability attenuates colitis in the IL10 gene-deficient mouse / Arrieta M.C., Madsen K., Doyle J., Meddings J. // *Gut*. – 2008. – Vol.58. – P.41-48.

91. Fecal zonulin is elevated in Crohn's disease and in cigarette smokers / Malíčková K., Francová I., Lukáš M., [et al.] // *Pract Lab Med*. – 2017. – Vol.9. – P.39–44.

92. Serum zonulin in patients with inflammatory bowel disease: a pilot study / Caviglia G.P., Dughera F., Ribaldone D.G., [et al.] // *Minerva Med*. – 2019. – Vol.110. – P.95–100.

93. Zonulin as a Noninvasive Biomarker of Intestinal Permeability in Pediatric Patients with Inflammatory Bowel Diseases-Correlation with Disease Activity and Fecal

Calprotectin / Szymanska E., Wierzbička A., Dadalski M., Kierkus J. // J Clin Med. – 2021. – Vol.10. – P.3905.

94. Intestinal permeability in human nonalcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis / De Munck T., Xu P., Verwijns H., Masclee A., [et al.] // Liver Int. – 2020. – Vol.40. – P.2906–2916.

95. Increased circulating zonulin in children with biopsy-proven nonalcoholic fatty liver disease / Pacifico L., Bonci E., Marandola L., [et al.] // World J Gastroenterol. – 2014. – Vol.20. – P.17107–17114.

96. Kim, A.S. Plasma concentrations of zonulin are elevated in obese men with fatty liver disease / Kim A.S., Ko H.J. // Diabetes Metab Syndr Obes. – 2018. – Vol.11. – P.149–157.

97. Mediterranean Diet Improves Plasma Biomarkers Related to Oxidative Stress and Inflammatory Process in Patients with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease / Quetglas-Llabrés M.M., Monserrat-Mesquida M., Bouzas C., [et al.]. // Antioxidants (Basel). – 2023. – Vol.12. – P.883.

98. The Effect of Probiotics (MCP® BCMC® Strains) on Hepatic Steatosis, Small Intestinal Mucosal Immune Function, and Intestinal Barrier in Patients with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease / Nor M., Ayob N., Mokhtar N., [et al.] // Nutrients. - 2021. – Vol.13. – P.3192.

99. Serum concentrations of TNF-alpha and soluble TNF-alpha receptors in obesity / Zahorska-Markiewicz B., Anowska J., Olszanecka-Glinianowicz M., Zurakowski A. // Int J Obes Relat Metab Disord. – 2000. – Vol.24. – P.1392–1395.

100. Serum concentrations of nitric oxide, tumor necrosis factor (TNF)- α and TNF soluble receptors in women with overweight and obesity / Olszanecka-Glinianowicz M., Zahorska-Markiewicz B., Janowska J., Zurakowski A. // Metabolism. -2004. – Vol.53. – P.1268–1273.

101. Body fat changes and activity of tumor necrosis factor α system--a 5-year follow-up study / Olszanecka-Glinianowicz M., Chudek J., Kocełak P., [et al.] // Metabolism. – 2011. – Vol.60. – P.531–536.

102. Martirosian G, et al. Gut microbiota, microinflammation, metabolic profile, and zonulin concentration in obese and normal weight subjects / Zak-Gołąb A., Kocelak P., Aptekorz M., [et al.] // *Int J Endocrinol.* – 2013. – Vol.2013. – №. 1. – P. 674106.

103. Gut Microbiota Richness and Composition and Dietary Intake of Overweight Pregnant Women Are Related to Serum Zonulin Concentration, a Marker for Intestinal Permeability / Morkkala K., R  yti   H., Munukka E., [et al.] // *J Nutr.* – 2016. – Vol.146. – P.1694–1700.

104. Probiotic With or Without Fiber Controls Body Fat Mass, Associated With Serum Zonulin, in Overweight and Obese Adults-Randomized Controlled Trial / Stenman L.K., Lehtinen M.J., Meland N., [et al.] // *EBioMedicine.* – 2016. – Vol.13. – P.190–200.

105. The Relationship between Serum Zonulin Level and Clinical and Laboratory Parameters of Childhood Obesity / K  me T., Acar S., Tuhan H., [et al.] // *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* – 2017. – Vol.9. – P.31–38.

106. Houttu, N. Overweight and obesity status in pregnant women are related to intestinal microbiota and serum metabolic and inflammatory profiles / Houttu N., Morkkala K., Laitinen K. // *Clin Nutr.* – 2018. – Vol.37. – P.1955–1966.

107. Gut microbiota, dietary intakes and intestinal permeability reflected by serum zonulin in women / M  rkl S., Lackner S., Meinitzer A., [et al.] // *Eur J Nutr.* – 2018. – Vol.57. - P. 2985–2997.

108. Impact of diet and synbiotics on selected gut bacteria and intestinal permeability in individuals with excess body weight - A Prospective, Randomized Study / Janczy A., Aleksandrowicz-Wrona E., Kochan Z., Malgorzewicz S. // *Acta Biochim Pol.* – 2020. – Vol.67. – P.571–578.

109. Serum zonulin is elevated in women with polycystic ovary syndrome and correlates with insulin resistance and severity of anovulation / Zhang D., Zhang L., Yue F., [et al.] // *Eur J Endocrinol.* – 2015. – Vol.172. – P.29–36.

110. Serum zonulin level is not elevated in patients with polycystic ovary syndrome without metabolic syndrome / Cetin Z., Kosem A., Can B., [et al.] // *Arch Gynecol Obstet.* – 2019. – Vol.300. – P.1785–1790.

111. Korpe, P.S. Environmental enteropathy: critical implications of a poorly understood condition / Korpe P.S., Petri W.A. // *Trends Mol Med.* – 2012. – Vol.18. – P.328–336.

112. Prendergast, A. Enteropathies in the developing world: neglected effects on global health / Prendergast A., Kelly P. // *Am J Trop Med Hyg.* – 2012. – Vol.86. – P.756–763.

113. Implications of acquired environmental enteric dysfunction for growth and stunting in infants and children living in low- and middle-income countries / Keusch G.T., Rosenberg I.H., Denno D.M., [et al.] // *Food Nutr Bull.* – 2013. – Vol.34. – P.357–364.

114. Biomarkers of Environmental Enteropathy, Inflammation, Stunting, and Impaired Growth in Children in Northeast Brazil / Guerrant R.L., Leite A.M., Pinkerton R., [et al.] // *PLoS One.* -2016. – Vol.11. №. 9. – P. e0158772.

115. Erythropoietin protects intestinal epithelial barrier function and lowers the incidence of experimental neonatal necrotizing enterocolitis / Shiou S.R., Yu Y., Chen S., [et al.] // *J Biol Chem.* – 2011. – Vol.286. - P.2123–2132.

116. Genes regulating tight junctions and cell adhesion are altered in early experimental necrotizing enterocolitis / Högberg N., Stenbäck A., Carlsson P.O., [et al.] // *J Pediatr Surg.* – 2013. – Vol. 48. – P. 2308–2312.

117. Bifidobacteria stabilize claudins at tight junctions and prevent intestinal barrier dysfunction in mouse necrotizing enterocolitis / Bergmann K.R., Liu S.X.L., Tian R., [et al.] // *Am J Pathol.* – 2013. – Vol.182. – P.1595–1606.

118. Zonulin: A Potential Marker of Intestine Injury in Newborns / Tarko A., Suchojad A., Michalec M., [et al.] // *Dis Markers.* – 2017. – Vol.2017. – №. 1. – P. 2413437.

119. Protective Effects of Bifidobacterium on Intestinal Barrier Function in LPS-Induced Enterocyte Barrier Injury of Caco-2 Monolayers and in a Rat NEC Model / Ling X., Linglong P., Weixia D., Hong W // *PLoS One.* – 2016. – Vol.11. - №. 8. – P. e0161635.

120. Altered intestinal permeability to mannitol in diabetes mellitus type I / Carratù R., Secondulfo M., De Magistris L., [et al.] // *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* – 1999. – Vol. 28. – P. 264–269.

121. Increased gastrointestinal permeability is an early lesion in the spontaneously diabetic BB rat / Meddings J.B., Jarand J., Urbanski S.J., [et al.] // *Am J Physiol.* – 1999. – Vol.276. – №. 4. – P. G951-G957.

122. Role of the intestinal tight junction modulator zonulin in the pathogenesis of type I diabetes in BB diabetic-prone rats / Watts T., Berti I., Sapone A., [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2005. – Vol. 102. – P. 2916–2921.

123. Zonulin upregulation is associated with increased gut permeability in subjects with type 1 diabetes and their relatives / Sapone A., De Magistris L., Pietzak M., [et al.] // *Diabetes.* – 2006. – Vol. 55. – P. 1443–1449.

124. Effect of Prebiotic on Microbiota, Intestinal Permeability, and Glycemic Control in Children With Type 1 Diabetes / Ho J., Nicolucci A.C., Virtanen H., [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2019. – Vol. 104. – P. 4427–4440.

125. Zonulin as prehaptoglobin2 regulates lung permeability and activates the complement system / Rittirsch D., Flierl M.A., Nadeau B.A., [et al.] // *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* – 2013. – Vol. 304. – №. 12. – P. L863-L872.

126. Increased intestinal permeability in bronchial asthma / Benard A., Desreumeaux P., Huglo D., [et al.] // *J Allergy Clin Immunol.* – 1996. - Vol. 97. – P. 1173–1178.

127. Intestinal permeability is increased in bronchial asthma / Hijazi Z., Molla A.M., Al-Habashi H., [et al.] // *Arch Dis Child.* – 2004. – Vol. 89. – P. 227–229.

128. Fasano, A. Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: the biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer / Fasano A. // *Physiol Rev.* – 2011. – Vol. 91. – P. 151–175.

129. Association between serum zonulin level and severity of house dust mite allergic asthma / Baioumy S.A., Elgendy A., Ibrahim S.M., [et al.] // *Allergy Asthma Clin Immunol.* – 2021. – Vol. 17. – №. 1. – P. 86.

130. Different pattern of stool and plasma gastrointestinal damage biomarkers during primary and chronic HIV infection / Pastor L., Langhorst J., Schröder D., [et al.] // *PLoS One.* – 2019. – Vol. 14. – №. 6. – C. e0218000.

131. Deeks, S.G. Systemic effects of inflammation on health during chronic HIV infection / Deeks S.G., Tracy R., Douek D.C. // *Immunity*. – 2013. – Vol. 39. – P. 633–645.

132. Altered Intestinal Permeability and Fungal Translocation in Ugandan Children With Human Immunodeficiency Virus / Dirajlal-Fargo S., El-Kamari V., Weiner L., [et al.] // *Clin Infect Dis*. – 2020. – Vol.70. – P. 2413–2422.

133. Gut epithelial barrier dysfunction and innate immune activation predict mortality in treated HIV infection / Hunt P.W., Sinclair E., Rodriguez B., [et al.] // *J Infect Dis*. – 2014. – Vol. 210. – P. 1228–1238.

134. Novel Strategies for Targeting Innate Immune Responses to Influenza / Shirey K.A., Lai W., Patel M.C., [et al.] // *Mucosal Immunol*. – 2015. – Vol. 9. – P. 1173-1182.

135. Low-Grade Endotoxemia and Thrombosis in COVID-19 / Oliva A., Cammisotto V., Cangemi R., [et al.] // *Clin Transl Gastroenterol*. – 2021. – Vol. 12. – P. E00348.

136. In silico Analysis Revealed Potential Anti-SARS-CoV-2 Main Protease Activity by the Zonulin Inhibitor Larazotide Acetate / Di Micco S., Musella S., Scala M.C., [et al.] // *Front Chem*. – 2021. – Vol. 8. – P. 628609. <https://doi.org/10.3389/FCHEM.2020.628609>.

137. Peptide Derivatives of the Zonulin Inhibitor Larazotide (AT1001) as Potential Anti SARS-CoV-2: Molecular Modelling, Synthesis and Bioactivity Evaluation / Di Micco S., Musella S., Sala M., [et al.]. // *Int J Mol Sci*. – 2021. – Vol. 22. – №. 17. – P. 9427.

138. Serek, P. The Effect of Bacterial Infections, Probiotics and Zonulin on Intestinal Barrier Integrity / Serek P., Oleksy-Wawrzyniak M. // *Int J Mol Sci*. – 2021. – Vol. 22. – №. 21. – C. 11359.

139. Zonulin Regulates Intestinal Permeability and Facilitates Enteric Bacteria Permeation in Coronary Artery Disease / Li C., Gao M., Zhang W., [et al.] // *Sci Rep*. – 2016. – Vol. 6. – №. 1. – P. 29142.

140. Role of Gut Microbiota on Cardio-Metabolic Parameters and Immunity in Coronary Artery Disease Patients with and without Type-2 Diabetes Mellitus / Sanchez-

Alcoholado L., Castellano-Castillo D., Jordán-Martínez L., [et al.] // *Front Microbiol.* – 2017. – Vol.8. – P. 1936.

141. Intestinal barrier dysfunction develops at the onset of experimental autoimmune encephalomyelitis, and can be induced by adoptive transfer of auto-reactive T cells / Nouri M., Bredberg A., Weström B., Lavasani S. // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9. – №. 9. – P. e106335.

142. Biomarkers of intestinal barrier function in multiple sclerosis are associated with disease activity / Camara-Lemarroy C.R., Silva C., Greenfield J., [et al.] // *Mult Scler.* – 2020. – Vol.26. – P. 1340–1350.

143. Detection of Dysbiosis and Increased Intestinal Permeability in Brazilian Patients with Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis / Pellizoni F.P., Leite A.Z., Rodrigues N. de C., [et al.] // *Int J Environ Res Public Health.* - 2021. – Vol. 18. – №. 9. – C. 4621.

144. Brief Report: Intestinal Dysbiosis in Ankylosing Spondylitis / Costello M.E., Ciccio F., Willner D., [et al.] // *Arthritis Rheumatol.* – 2015. – Vol. 67. – P. 686–691.

145. Brief Report: Dialister as a Microbial Marker of Disease Activity in Spondyloarthritis / Tito R.Y., Cypers H., Joossens M., [et al.] // *Arthritis Rheumatol.* – 2017. – Vol. 69. – P. 114–121.

146. Dysbiosis and zonulin upregulation alter gut epithelial and vascular barriers in patients with ankylosing spondylitis / Ciccio F., Guggino G., Rizzo A., [et al.] // *Ann Rheum Dis.* – 2017. – Vol. 76. – P. 1123–1132.

147. Serum Zonulin in HBV-Associated Chronic Hepatitis, Liver Cirrhosis, and Hepatocellular Carcinoma / Wang X., Li M.M., Niu Y., [et al.] // *Dis Markers.* – 2019. – Vol. 2019. – P. 5945721.

148. Expression of Zonulin, c-kit, and Glial Fibrillary Acidic Protein in Human Gliomas / Skardelly M., Armbruster F.P., Meixensberger J., Hilbig H. // *Transl Oncol.* – 2009. – Vol. 2. – P. 117–120.

149. Transmigration of neural stem cells across the blood brain barrier induced by glioma cells / Díaz-Coránguez M., Segovia J., López-Ornelas A., [et al.] // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8. – №. 4. – P. e60655.

150. Upregulation of the Intestinal Paracellular Pathway with Breakdown of Tight and Adherens Junctions in Deficit Schizophrenia / Maes M., Sirivichayakul S., Kanchanatawan B., Vodjani A. // *Mol Neurobiol.* – 2019. – Vol. 56. – P. 7056–7073.

151. Serum zonulin and claudin-5 levels in patients with schizophrenia / Usta A., Kılıç F., Demirdaş A., [et al.] // *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* – 2021. – Vol. 271. – P. 767–773.

152. Increased Serum Zonulin Levels as an Intestinal Permeability Marker in Autistic Subjects / Esnafoglu E., Cirrik S., Ayyildiz S.N., Erdil A., Ertürk E.Y., Dağlı A., [et al.] // *J Pediatr.* – 2017. – Vol. 188. – P. 240–244.

153. Differential immune responses and microbiota profiles in children with autism spectrum disorders and co-morbid gastrointestinal symptoms / Rose D.R., Yang H., Serena G., [et al.] // *Brain Behav Immun.* – 2018. – Vol. 70. – P. 354–368.

154. The Relationship of Severity of Autism with Gastrointestinal Symptoms and Serum Zonulin Levels in Autistic Children / Karagözlü S., Dalgıç B., İşeri E. // *J Autism Dev Disord.* - 2022. – Vol. 52. – P. 623–629.

155. Increased human intestinal barrier permeability plasma biomarkers zonulin and FABP2 correlated with plasma LPS and altered gut microbiome in anxiety or depression / Stevens B.R., Goel R., Seungbum K., [et al.] // *Gut.* – 2018. – Vol. 67. – P. 1555-1557.

156. Abnormal Distribution and Function of Circulating Monocytes and Enhanced Bacterial Translocation in Major Depressive Disorder / Alvarez-Mon M.A., Gómez A.M., Orozco A., [et al.] // *Front Psychiatry.* – 2019. – Vol. 10. – P. 812.

157. Increased plasma zonulin in patients with sepsis / Klaus D.A., Motal M.C., Burger-Klepp U., [et al.] // *Biochem Med (Zagreb).* – 2013. – Vol. 23. – P. 107–111.

158. Positive regulatory effects of perioperative probiotic treatment on postoperative liver complications after colorectal liver metastases surgery: a double-center and double-blind randomized clinical trial / Liu Z., Li C., Huang M., [et al.] // *BMC Gastroenterol.* – 2015. – Vol.15. – P.1-14.

159. Диагностика и лечение синдрома раздраженного кишечника (Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации и

Ассоциации колопроктологов России) / В.Т. Ивашкин, И.В. Маев, Ю.А. Шелыгин, [и др.] // J Gastroenterol Hepatol Coloproctol. – 2022. – Т. 31. – №. 5. – С. 74-95.

160. Диагностика и лечение запора у взрослых (Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации и Ассоциации колопроктологов России) / В.Т. Ивашкин, И.В. Маев, Ю.А. Шелыгин, [и др.] // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2020. – Т. 30. – №. 6. – С. 69-85.

161. Клинические рекомендации" Хронические диареи у взрослых" / Лазебник Л.Б., Сарсенбаева А.С., Авалуева Е.Б., [и др.] // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2021. – №. 4 (188). – С. 7-67.

162. Место спазмолитических препаратов в современной терапии синдрома раздраженного кишечника / Халаиджева К.Н., Дроздов В.Н., Ших Е.В., Сереброва С.Ю. // Медицинский совет. – 2023. – Т.17. - №8. - С. 189–195.

163. Новик, А. А. Руководство по исследованию качества жизни в медицине. 2-е издание / Новик А. А., Ионова Т. И. – Москва: Олма-медиа-групп, 2007. – 320 с. - ISBN: 978-5-373-01011-5. – Текст: непосредственный.

164. Зонулин-регулируемая барьерная функция кишечника и полиморбидность / Халаиджева К. Н., Дроздов В. Н., Ших Е. В., Лазебник Л.Б. // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2022. – Т. 198. – №2. – С.

165. Влияние мультиштаммового пробиотика на уровень зонулина в кале и клинические проявления функциональных заболеваний кишечника / Халаиджева К.Н., Астаповский А.А., Никитина Н.В., [и др.] // Фармакология & Фармакотерапия. – 2024. – №2. – С. 30-36.

166. Somatization in patients with predominant diarrhoea irritable bowel syndrome: the role of the intestinal barrier function and integrity / Prospero L., Riezzo G., Linsalata M., [et al.] // BMC Gastroenterol. – 2021. – Т. 21. – №. 1. – P. 235.

167. Clinical Response and Changes of Cytokines and Zonulin Levels in Patients with Diarrhoea-Predominant Irritable Bowel Syndrome Treated with Bifidobacterium Longum ES1 for 8 or 12 Weeks: A Preliminary Report / Caviglia G.P., Tucci A., Pellicano R., [et al.] // Journal of Clinical Medicine. – 2020. – Т. 9. – №. 8. – С. 2353.

168. Microbial community analysis reveals high level phylogenetic alterations in the overall gastrointestinal microbiota of diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome sufferers. / Krogius-Kurikka L., Lyra A., Malinen E., [et al.] // *BMC gastroenterology*. – 2009. – Т. 9. – С. 1-11.

169. An irritable bowel syndrome subtype defined by species-specific alterations in faecal microbiota. / Jeffery I.B., O'Toole P.W., Öhman L., [et al.] // *Gut*. – 2012. – Т. 61. – №. 7. – С. 997-1006.

170. Global and deep molecular analysis of microbiota signatures in fecal samples from patients with irritable bowel syndrome. / Rajilić-Stojanović M., Biagi E., Heilig H. [et al.] // *Gastroenterology*. – 2011. – Т. 141. – №. 5. – С. 1792-1801.

171. Gut microbiome signatures reflect different subtypes of irritable bowel syndrome. / Su Q., Tun H.M., Liu Q., [et al.] // *Gut Microbes*. – 2023. – Т. 15. – №. 1. – С. 2157697.

172. Особенности влияния пробиотика, содержащего *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*, на микробиоту кишечника и клинические симптомы синдрома раздраженного кишечника / Халаиджева К.Н., Никитина Н.В., Астрашкова О.В., [и др.] // *Терапевтический архив*. – 2024. – Т.96. - №4. - С. 356–363.

173. Effect of multispecies probiotics on irritable bowel syndrome: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. / Yoon J.S., Sohn W., Lee O.Y., [et al.] // *Journal of gastroenterology and hepatology*. – 2014. – Т. 29. – №. 1. – С. 52-59.

174. The effect of *Clostridium butyricum* on symptoms and fecal microbiota in diarrhea-dominant irritable bowel syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. / Sun Y.Y., Li M., Li Y.Y., [et al.] // *Scientific reports*. – 2018. – Т. 8. – №. 1. – С. 1-11.

175. The effect of a multispecies probiotic on microbiota composition in a clinical trial of patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. / Hod K., Dekel R., Aviv Cohen N., [et al.] // *Neurogastroenterology & Motility*. – 2018. – Т. 30. – №. 12. – С. e13456.

176. Применение синбиотика для коррекции микрофлоры кишечника и лечения пациентов с синдромом раздраженного кишечника / Халаиджева К.Н.,

Дроздов В.Н., Рязанцева О.В., Ших Е.В. // Медицинский совет. – 2023. – Т.17. - №6. - С. 275–280.

177. Effectiveness and Safety of Multi-Strain Probiotic Preparation in Patients with Diarrhea-Predominant Irritable Bowel Syndrome: A Randomized Controlled Study. / Skrzydło-Radomańska B., Prozorow-Król B., Cichoż-Lach H., [et al.] The // Nutrients. – 2021. – Т. 13. – №. 3. – С. 756.

178. Запоры у взрослых / Лазебник Л.Б., Туркина С.В., Голованова Е.В., Лоранская И.Д., [и др.] // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2020. – Т.175 - №3. – С.10-33.

179. Никитин, Е.Ю. Клинико – диагностическое и прогностическое значение маркеров острого почечного повреждения у пациентов на фоне антибиотикотерапии: дис. ... канд. мед. наук: 3.1.18, 3.3.6 / Никитин Евгений Юрьевич; науч. рук. В.Н. Дроздов, Е.В. Ших; Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет). – Москва, 2022. – 112 с.

180. Гаус, О.В. Фенотипы синдрома раздраженного кишечника: ведущие факторы генетики и эпигенетики, механизмы формирования / О.В. Гаус, М.А. Ливзан // Терапевтический архив. - 2023. - Т.95. - №32. - С.164-172.

181. Никитин, Е.Ю. Клинико – диагностическое и прогностическое значение маркеров острого почечного повреждения у пациентов на фоне антибиотикотерапии: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 3.1.18, 3.3.6 / Никитин Евгений Юрьевич; Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет). – Москва, 2022. – 25 с.

182. Астаповский, А.А. Клинико - прогностическая ценность проадреномедуллина у пациентов с новой коронавирусной инфекцией: дис. ... канд. мед. наук: 3.1.18 / Астаповский Александр Алексеевич; науч. рук. В.Н. Дроздов; Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет). – Москва, 2022. – 103 с.

183. Астаповский, А.А. Клинико - прогностическая ценность проадреномедуллина у пациентов с новой коронавирусной инфекцией: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 3.1.18 / Астаповский Александр Алексеевич; Первый МГМУ

имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет). – Москва, 2022. – 25 с.

184. Клиническая эффективность современного пробиотика для коррекции кишечной микрофлоры у пациентов с синдромом раздраженного кишечника с диареей и с антибиотик-ассоциированной диареей / В.Н. Дроздов, Е.В. Ших, А.А. Астаповский, К.Н. Халаиджева, С.А. Соловьева, О.Б. Дорогун // Вопросы питания. – 2023. – Т.92. - №2. - С.92–103.

185. Гаус, О.В. При синдроме раздраженного кишечника уровень зонулина ассоциирован с уровнями кортизола, дофамина и серотонина. / Гаус О.В., Ливзан М.А. // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. - 2023. – Т.212. – №4. – С.89-97.