

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



Ковалева Александра Леонидовна

**Роль нарушения кишечной проницаемости и кишечной микробиоты в
формировании симптомов синдрома раздраженного кишечника и
функциональной диспепсии**

3.1.30. Гастроэнтерология и диетология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук

Полуэктова Елена Александровна

Москва — 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	13
1.1 Синдром раздраженного кишечника и функциональная диспепсия: современное состояние проблемы.....	13
1.2 Понятие «слизисто-эпителиальный барьер».....	15
1.2.1 Строение слизисто-эпителиального барьера ЖКТ.....	15
1.2.2 Функции слизисто-эпителиального барьера ЖКТ.....	19
1.2.3 Методы оценки состояния слизисто-эпителиального барьера ЖКТ и его функции.....	20
1.2.4 Нарушение слизисто-эпителиального барьера кишечника в патогенезе синдрома раздраженного кишечника и функциональной диспепсии.....	22
1.3 Кишечная микробиота	27
1.3.1 Общие представления о кишечной микробиоте.....	27
1.3.2 Кишечная микробиота в патогенезе синдрома раздраженного кишечника и функциональной диспепсии.....	31
1.4 Коррекция проницаемости слизисто-эпителиального барьера ЖКТ как потенциальный способ лечения синдрома раздраженного кишечника и функциональной диспепсии	34
ГЛАВА 2 МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	39
2.1 Дизайн исследования.....	39
2.2 Методы исследования	40
2.2.1 Клиническое обследование пациентов.....	40
2.2.2 Оценка выраженности жалоб согласно стандартизированным опросникам.....	44
2.2.3 Морфологическое исследование биоптатов.....	45
2.2.4 Исследование протеома слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки и сигмовидной кишки.....	46

2.2.5 Иммуногистохимическое исследование.....	47
2.2.6 Иммуноферментный анализ зонулина сыворотки крови.....	48
2.2.7 Секвенирование бактериальной 16S рРНК.....	48
2.2.8 Короткоцепочечные жирные кислоты в кале.....	49
2.2.9 Статистическая обработка данных.....	50
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	51
3.1 Исходные показатели пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД и здоровых лиц группы контроля.....	51
3.1.1 Характеристика включенных в исследование пациентов СРК-Д в сочетании с ФД и здоровых лиц группы контроля	51
3.1.2 Выраженность жалоб и качество жизни пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД.....	52
3.1.3 Морфологическая картина слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки и сигмовидной кишки пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД и здоровых лиц группы контроля.....	56
3.1.4 Протеомная картина слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки и сигмовидной кишки пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД и здоровых лиц группы контроля.....	60
3.1.5 Уровень гликопротеина MUC-2 в слизистой оболочке двенадцатиперстной и сигмовидной кишки пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД и здоровых лиц группы контроля.....	65
3.1.6 Уровень сывороточного зонулина пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД и у здоровых лиц группы контроля.....	67
3.1.7 Состояние кишечного микробиома пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД и здоровых лиц (по данным молекулярно-генетического исследования секвенирование 16S рРНК).....	68
3.1.8 Метаболическая активность кишечной микробиоты пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД и здоровых лиц группы контроля.....	75
3.2 Динамика показателей на фоне лечения.....	80

3.2.1 Выраженность жалоб и качество жизни пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД	80
3.2.2 Морфологическая картина слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки и сигмовидной кишки.....	90
3.2.3 Протеомная картина слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки и сигмовидной кишки.....	94
3.2.4 Уровень гликопротеина MUC-2 в слизистой оболочке двенадцатиперстной и сигмовидной кишки.....	96
3.2.5 Сывороточный зонулин.....	97
3.2.6 Состояние кишечного микробиома по данным молекулярно-генетического исследования (секвенирование 16S рРНК).....	99
3.2.7 Метаболическая активность кишечной микробиоты.....	102
3.3 Корреляционный анализ.....	108
КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ.....	111
ГЛАВА 4 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	125
ВЫВОДЫ.....	136
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	138
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	139
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	140
ПРИЛОЖЕНИЕ А.....	160
ПРИЛОЖЕНИЕБ.....	163
ПРИЛОЖЕНИЕ В.....	165

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность и степень разработанности темы исследования

Синдром раздраженного кишечника (СРК) и функциональная диспепсия (ФД) – заболевания желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), относящиеся к группе функциональных заболеваний желудочно-кишечного тракта (ФЗ ЖКТ).

Синдром раздраженного кишечника (СРК) - хроническое функциональное заболевание кишечника, при котором боль в животе связана с дефекацией, изменением частоты и характера стула [3].

ФД характеризуется наличием возникающих не реже одного раза в неделю по меньшей мере одного из следующих симптомов: боль в эпигастрии, чувство жжения в эпигастрии, ощущение переполнения в эпигастрии, чувство раннего насыщения, которые отмечаются у больного в течение 3 последних месяцев (при их общей продолжительности не менее 6 месяцев) [4, 73].

СРК относится к наиболее часто встречающимся заболеваниям ЖКТ – его распространенность достигает 13% населения [3]. СРК часто диагностируется у молодого работоспособного населения возраста 30-50 лет.

Частота ФД среди населения западных стран колеблется от 10 до 40% [36]. У большого числа больных СРК заболевание сочетается с ФД (13-87%) [3].

Данные заболевания существенно снижают качество жизни пациентов, а также требуют значительных материальных затрат на диагностику и лечение пациентов.

На основании проведенных исследований получены данные о том, что в формировании симптомов ФЗ ЖКТ вносит значительный вклад повышение проницаемости слизисто-эпителиального барьера ЖКТ, которое возникает в результате нарушения синтеза белков, формирующих плотные контакты между эпителиоцитами, и приводит к развитию неспецифического воспаления в слизистой оболочке желудка, тонкой и толстой кишки, что в свою очередь

приводит к нарушению моторики и изменению качественного и количественного состава кишечной микробиоты [22, 31, 63, 73].

В связи с вышесказанным представляется актуальным подробное исследование изменений слизисто-эпителиального барьера ЖКТ, его проницаемости и кишечной микробиоты у пациентов с СРК и ФД, и оценка эффективности применения с целью терапии СРК и ФД препарата, влияющего на проницаемость слизисто-эпителиального барьера ЖКТ.

Цель настоящей работы

Исследовать состояние слизисто-эпителиального барьера тонкой и толстой кишки, изменения состава кишечной микробиоты и ее метаболической активности у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД в сравнении со здоровыми лицами и оценить способы коррекции выявленных изменений.

Задачи исследования

1. Оценить качество жизни и выраженность жалоб у больных СРК-Д в сочетании с ФД при помощи опросников The Short Form 36, «7x7» и Gastrointestinal Symptom Rating Scale.

2. Определить наличие признаков воспаления (уровень лимфоцитов и эозинофилов) в слизистой оболочке двенадцатиперстной и сигмовидной кишки у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД, сравнить показатели пациентов с аналогичными показателями здоровых лиц группы контроля.

3. Оценить состояние слизисто-эпителиального барьера на презпителиальном (уровень гликопротеина слизи муцина-2 (MUC-2)) и эпителиальном (экспрессия белков, формирующих плотные контакты и зонулина сыворотки крови) уровнях слизистой оболочки двенадцатиперстной и

сигмовидной кишки у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД, и у здоровых лиц группы контроля.

4. Изучить состав микробиоты толстой кишки и концентрацию короткоцепочечных жирных кислот в кале у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД и у здоровых лиц группы контроля.

5. Определить наличие корреляционных связей между клиническими симптомами у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД, с показателями, отображающими состояние слизисто-эпителиального барьера, составом кишечной микробиоты и ее метаболической активностью.

6. Оценить динамику исследуемых показателей на фоне монотерапии препаратом, влияющим на моторику ЖКТ, монотерапии препаратом, обладающим способностью к восстановлению целостности слизисто-эпителиального барьера ЖКТ, и сочетанной терапии.

7. Исследовать безопасность и эффективность включения в схему терапии пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД препарата, влияющего на проницаемость слизисто-эпителиального барьера ЖКТ.

Научная новизна

В настоящей работе впервые проведено проспективное исследование у пациентов с СРК-Д и ФД, позволяющее одновременно определить вклад нарушения проницаемости слизисто-эпителиального барьера ЖКТ, изменения качественного и количественного состава кишечной микробиоты и ее метаболитов в формирование клинических симптомов и степень их интенсивности.

Впервые исследована проницаемость слизисто-эпителиального барьера ЖКТ у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД на преэпителиальном, эпителиальном и субэпителиальном уровнях.

Проведена сравнительная оценка результатов исследований проницаемости слизисто-эпителиального барьера ЖКТ и состава кишечной микробиоты, выполненных больным СРК-Д в сочетании с ФД, с результатами здоровых лиц группы контроля.

Выполнена сравнительная оценка эффективности применения стандартной терапии и терапии с включением в схему лечения препарата, обладающего способностью к восстановлению целостности слизисто-эпителиального барьера ЖКТ.

Определено, что при включении в схему лечения препарата, нормализующего проницаемость слизисто-эпителиального барьера, уменьшение количества и интенсивности клинических симптомов у данной категории пациентов происходит параллельно с восстановлением проницаемости слизисто-эпителиального барьера ЖКТ, приближением состава кишечной микробиоты к таковому у здоровых лиц, и является более значимым, чем в группе сравнения.

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты исследования позволяют расширить представление о патогенезе СРК-Д в сочетании с ФД, демонстрируя наличие нарушения проницаемости на презпителиальном, эпителиальном и постэпителиальном уровнях слизисто-эпителиального барьера ЖКТ, а также изменение состава кишечной микробиоты, ассоциированных с данными заболеваниями.

Исследование дает возможность рассмотреть новые способы морфологической оценки состояния слизисто-эпителиального барьера ЖКТ путем установления наличия признаков лимфоцитарно-эозинофильного воспаления, определения уровня белков, связывающих жирные кислоты и уровня гликопротеина слизи MUC-2 в слизистой оболочке тонкой и толстой кишки.

Полученные результаты доказывают, что включение в схему терапии пациентов СРК-Д в сочетании с ФД препарата, влияющего на проницаемость

слизисто-эпителиального барьера ЖКТ на всех его уровнях патогенетически обосновано и достоверно повышает эффективность лечения.

Методология и методы исследования

Методологической основой исследования послужила совокупность клинических, лабораторно-инструментальных и статистических методов.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Нарушение слизисто-эпителиального барьера ЖКТ и изменение качественного и количественного состава кишечной микробиоты, приводящие к развитию воспаления слизистой оболочки ЖКТ, - основополагающие патогенетические звенья развития СРК-Д и ФД.

2. Включение в схему лечения больных СРК-Д в сочетании с ФД препарата, нормализующего слизисто-эпителиальный барьер ЖКТ, патогенетически обосновано и приводит к уменьшению выраженности жалоб, восстановлению слизисто-эпителиального барьера ЖКТ, нормализации состава кишечной микробиоты и уменьшению воспаления слизистой оболочки тонкой и толстой кишки.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 3.1.30. Гастроэнтерология и диетология;

формуле специальности: внутренние болезни - область медицинской науки, изучающая этиологию, патогенез, семиотику, диагностику, прогноз и профилактику заболеваний внутренних органов; области исследований согласно пунктам 1, 2, 4, 5.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных в исследовании данных определяется достаточным числом включенных в исследование пациентов, длительным сроком наблюдения, проведением современных методов диагностики квалифицированными специалистами.

Оценка достоверности результатов научной работы осуществлялась с помощью современных методов статистического анализа данных. Полученные выводы соответствуют поставленным целям и задачам исследования. Все выводы и практические рекомендации логично следуют из полученных результатов.

Основные результаты работы отражены в печати. Материалы диссертации были доложены на следующих конференциях: «112 Сессия Национальной Школы гастроэнтерологии, гепатологии», Российской гастроэнтерологической ассоциации 3 марта 2019 года; «Intestinum 2020. Прецизионная медицина. Моторика, микробиота, защита слизистой оболочки», Российской гастроэнтерологической ассоциации 3 декабря 2020 года; «119 Международная Весенняя Сессия Национальной школы гастроэнтерологии, гепатологии» Российской гастроэнтерологической ассоциации. 25 апреля 2021 года; «Патофизиология, клиника и последствия нарушений микробиоты» Научного сообщества по изучению микробиоты человека 22 мая 2021 года; «Патофизиология, клиника и последствия нарушений микробиоты» Научного сообщества по изучению микробиоты человека 24 мая 2022 года.

Основные положения диссертационной работы нашли практическое применение в лечении пациентов отделения хронических заболеваний кишечника и поджелудочной железы Клиники пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии им. В.Х. Василенко Сеченовского университета (директор клиники – академик РАН, профессор, д.м.н. В.Т. Ивашкин, заведующим отделением – профессор, д.м.н. О.С. Шифрин).

Апробация диссертационной работы состоялась на заседании кафедры пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) 20 июня 2022 года.

Личное участие автора в получении результата

Автором лично выполнен обзор зарубежной и отечественной литературы по изучаемой проблеме, подготовлены публикации по теме исследования. Автору принадлежит ведущая роль в разработке дизайна исследования, подготовка методологии исследования.

Автором самостоятельно осуществлялся набор пациентов, динамическое наблюдение за ними. Была самостоятельно проведена подготовка биологического материала пациентов для дальнейшего исследования (центрифугирование образцов крови, заморозка, транспортировка в лабораторию).

Автором самостоятельно проводилось ведение электронной базы в Excel и статистическая обработка данных и полученных результатов.

Автор представил результаты проведенного исследования медицинскому сообществу путем выступления на конференциях и публикаций в научных изданиях.

Объем и структура диссертации

Материалы диссертации изложены на 166 страницах машинописного текста. Работа включает: введение, 4 главы, выводы, практические рекомендации и список сокращений. Библиографический указатель содержит 147 источников литературы, из которых 18 являются отечественными источниками, 129 – зарубежными источниками. Диссертация иллюстрирована 33 таблицами и 32 рисунками.

Публикации

По теме диссертации опубликованы 4 печатные работы, в том числе:

Научных статей, отражающих основные результаты диссертации – 4 статьи,
из них:

- в изданиях их Перечня Университета/Перечня ВАК при Минобрнауки – 2
статьи;

- в журналах, включенных в международные базы: Scopus – 1 статья;

Обзорных статей – 1.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Синдром раздраженного кишечника и функциональная диспепсия: современное состояние проблемы

Функциональные заболевания желудочно-кишечного тракта (ФЗ ЖКТ) – это группа заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), характеризующаяся болью в животе, вздутием живота и/или нарушением характера стула (наличие запора, диареи или сочетания данных нарушений) [73].

Функциональная диспепсия (ФД) – функциональное заболевание ЖКТ, для которого характерно наличие по меньшей мере одного из следующих симптомов: боль в эпигастрии, чувство жжения в эпигастрии, ощущение переполнения в эпигастрии, чувство раннего насыщения, которые отмечаются у больного в течение 3 последних месяцев (при их общей продолжительности не менее 6 месяцев) [4].

Выделяют два основных варианта ФД – синдром боли в эпигастрии и постпрандиальный дистресс-синдром. Для первого варианта характерно возникновение боли или жжения в эпигастрии по меньшей мере 1 раз в неделю. Второй вариант заболевания подразумевает возникновение по меньшей мере 3 раза в неделю чувства переполнения в области желудка или раннего насыщения [4]. Общая распространенность симптомов ФД среди населения западных стран колеблется от 10 до 40% [36].

Синдром раздраженного кишечника (СРК) - функциональное заболевание кишечника, которое проявляется рецидивирующей болью в животе, возникающей по меньшей мере один раз в неделю и характеризующейся двумя или более признаками: связана с дефекацией, сочетается с изменением частоты и/или консистенции стула [3, 13, 73]. Подобные симптомы для установления диагноза должны отмечаться у пациента в течение 3 месяцев. На основании консистенции стула, оцененной по Бристольской шкале формы кала (таблица 1), выделяют СРК

с преобладанием запора (СРК-З, более 25% - тип 1-2, менее 25% - тип 6-7), с преобладанием диареи (СРК-Д, более 25% - тип 6-7, менее 25% - тип 1-2), смешанный вариант (СРК-М, более 25% - тип 1-2 и более 25% - тип 6-7), для которого характерно чередование диареи и запора, и неклассифицируемый вариант (СРК-Н).

Таблица 1 - Бристольская шкала формы кала

Тип 1	Отдельные твердые комки, типа орехов, трудно продвигаются
Тип 2	В форме колбаски, но комковатый
Тип 3	В форме колбаски, но с ребристой поверхностью
Тип 4	В форме колбаски или змеи, гладкий и мягкий
Тип 5	Мягкие маленькие шарики с ровными краями
Тип 6	Рыхлые частицы с неровными краями, кашицеобразный кал
Тип 7	Водянистый, без твердых частиц

В странах Европы и Северной Америки распространенность СРК составляет приблизительно 9,8%-12,8% [73].

ФД и СРК нередко диагностируют в сочетании друг с другом – согласно международным данным, частота сочетания СРК и ФД колеблется от 27 до 82,6% [94, 132]. В российской популяции сочетание заболеваний диагностируют у 16,4% больных [5].

Как этиология, так и патогенез ФД и СРК, в настоящий момент изучены недостаточно. На основании проведенных исследований получены данные о том, что в формирование симптомов СРК и ФД вносит значительный вклад нарушение проницаемости слизисто-эпителиального барьера ЖКТ, которое приводит к развитию неспецифического воспаления в слизистой оболочке ЖКТ, что в свою очередь вызывает нарушение моторики и изменение качественного и количественного состава кишечной микробиоты [10, 12, 14, 91].

1.2 Понятие «слизисто-эпителиальный барьер»

Слизисто-эпителиальный барьер ЖКТ – это функциональная единица, которая отделяет просвет ЖКТ от внутренней среды организма.

Его основными функциями являются регуляция абсорбции жидкости, ионов и питательных веществ из просвета ЖКТ и предотвращение проникновения патогенов и бактериальных токсинов во внутреннюю среду организма [111, 112].

1.2.1 Строение слизисто-эпителиального барьера ЖКТ

Слизисто-эпителиальный барьер ЖКТ состоит из нескольких послойных уровней:

- преэпителиального;
- эпителиального;
- субэпителиального [43].

Наружный преэпителиальный уровень представлен слоем слизи. Строение слизистого слоя и его функции отличаются в разных отделах ЖКТ [107].

В ротовой полости слизистый слой содержит муцины MUC5B и MUC7, которые секретируются слюнными железами для облегчения прохождения пищи через пищевод. Плоские клетки пищевода не вырабатывают муцины, однако на поверхности эпителия содержится небольшое количество слизи из полости рта. В желудке слизистый слой представлен двумя уровнями – плотным внутренним и рыхлым наружным, который защищает эпителиоциты от воздействия соляной кислоты. В тонкой кишке слизистый слой состоит из одного уровня и является достаточно тонким и прерывистым. Он более проницаем в сравнении со слоем слизи в толстой кишке, так как в тонкой кишке происходит всасывание питательных веществ из перевариваемой пищи. В толстой кишке слизистый слой представлен двумя уровнями: плотным внутренним слоем и более рыхлым

наружным. Слизистый слой толстой кишки занимает большой объем в сравнении со слоем тонкой кишки за счет наличия наружного уровня, на долю которого приходится около 80% толщины [50, 142]. В толстой кишке содержится большое количество бактерий, что обуславливает необходимость в существовании наружного слоя слизи, предотвращающего непосредственный контакт бактерий, токсинов и антигенов с эпителиоцитами. Непосредственно плотный внутренний слой кишечной слизи в норме минимально проницаем для бактерий.

Главным компонентом слизистого слоя в ЖКТ являются секретируемые муцины - гликопротеины, которые определяют вязкость и свойства слизи.

Выделяют более 20 типов муцинов. Муцины разделяют на мембрано-связанные, представленные в ЖКТ муцинами-1, -3А, -3В, -4, -12, -13, -17, и секретируемые, которые сразу после выработки поступают в просвет кишки. К секретируемым муцинам относятся муцины-2, -5АС, -6. Основным гликопротеином слизистой оболочки тонкой и толстой кишки является секретируемый муцин-2 (MUC-2), который в большом количестве содержится в составе слизи всех отделов ЖКТ [61].

Помимо гликопротеинов, преэпителиальный уровень барьера тонкой кишки содержит секрет клеток Панета, включающий в себя антибактериальные пептиды, в том числе бета-дефензин, лизоцим, гликопротеины. В составе слизистого слоя тонкой и толстой кишки также содержится селективный иммуноглобулин А (IgA), который защищает кишечный эпителий от патогенов [48, 126].

Расположенный под слоем слизи эпителиальный уровень состоит из клеток, которые связаны между собой межэпителиальными контактами. Выделяют несколько типов клеток - энтероциты, клетки Панета, бокаловидные, энтероэндокринные и недифференцированные эпителиоциты, образующие плотный монослой, который отделяет просвет кишки от собственной пластинки слизистой оболочки [47]. Часть клеток участвует в поддержании не только физического, но и химического барьера – секрет клеток Панета и бокаловидных клеток (лизоцим и α -дефензин) поступает в слизистый слой, где обеспечивает

антибактериальную защиту, а эпителиоциты секретируют антимикробный пептид β -дефензин.

Транспорт молекул через эпителиальный слой регулируется специфическим апикальным соединительным комплексом. Он состоит из трех послойно расположенных слоев:

- плотные контакты (tight junctions);
- адгезионные контакты (adherens junctions);
- десмосомы [54].

Плотные контакты образованы трансмембранными белками, к которым относят клаудины и окклюдин; молекулами адгезии (junctional adhesion molecules (JAMs), трицеллюлин) и белками периферических мембран (zonula occludens) [112, 134]. Белки семейства клаудинов выполняют барьерную (клаудин-1, -3, -4, -5, -8) и транспортную функции, регулируя транспорт малых ионов (клаудин-2, -10, -15) и воды (клаудин-2) [38, 44]. Окклюдин отвечает за синтез малых гидрофильных молекул и участвует в поддержании целостности плотных контактов [33, 102]. Периферические соединения zonula occludens поддерживают связь между белками разных групп и актиновым цитоскелетом.

Адгезионные контакты обеспечивают барьерному комплексу прочную связь с цитоскелетом. Они представлены двумя группами белков: катенинами (в большей степени E-кадгерином) и нектинами [51].

Третий слой эпителиального уровня кишечного барьера состоит из десмосом — белков трех семейств, которые также образуют межклеточные соединения и механически связывают клетки между собой, тем самым стабилизируя архитектуру ткани [17, 70].

Между эпителиоцитами располагаются интраэпителиальные лимфоциты — иммунокомпетентные клетки, также обеспечивающие защитную функцию слизисто-эпителиального барьера ЖКТ [32].

Под эпителиальным слоем кишечного барьера располагается собственная пластинка слизистой оболочки, состоящая из клеток иннантной и адаптивной иммунной систем – нейтрофилов, Т-клеток, макрофагов, тучных и дендритных клеток. Субэпителиальный слой слизисто-эпителиального барьера отвечает за поддержание гомеостаза кишечного барьера и регулирует нейровоспалительные реакции [43].

На рисунке 1 представлено строение слизисто-эпителиального барьера ЖКТ на примере тонкой кишки.

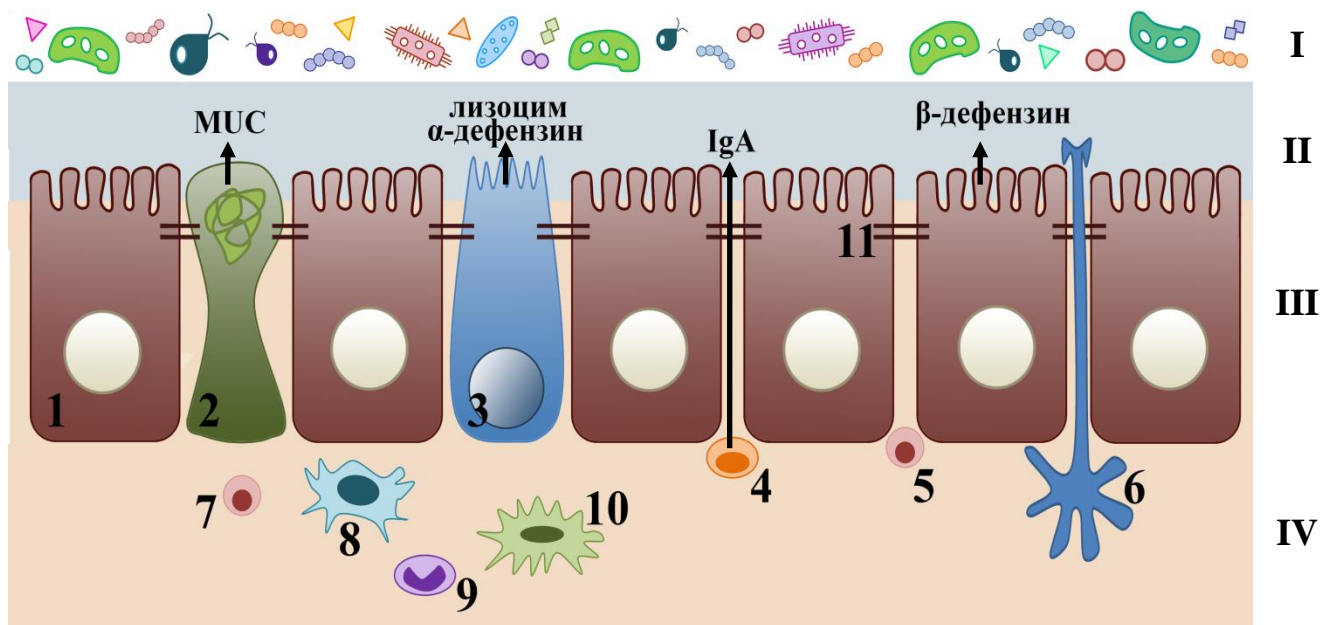


Рисунок 1 - Строение слизисто-эпителиального барьера тонкой кишки

I – кишечная микробиота в просвете тонкой кишки, *II* – презэпителиальный (слизистый) слой барьера, *III* – эпителиальный слой, *IV* – субэпителиальный слой (собственная пластинка слизистой оболочки).

1 – эпителиоцит, *2* – клетка Гоблета, *3* – клетка Панета, *4* – плазматическая клетка, *5* – интраэпителиальный лимфоцит, *6* – дендритная клетка, *7* – лимфоцит собственной пластинки слизистой оболочки, *8* – тучная клетка, *9* – эозинофил, *10* – макрофаг, *11* – соединительный комплекс.

1.2.2 Функции слизисто-эпителиального барьера ЖКТ

Основной функцией слизисто-эпителиального барьера ЖКТ является регуляция проницаемости – транспорта ионов и молекул.

Транспорт через слизисто-эпителиальный барьер включает в себя два основных механизма:

- трансэпителиальный транспорт, обеспечиваемый способностью липофильных и небольших гидрофильных молекул проходить непосредственно через клетки эпителия;

- парацеллюлярный/межклеточный транспорт, представленный транспортом через пространство между эпителиоцитами крупных молекул (с молекулярной массой ≤ 600 Дальтон) и воды [87]. *Zonula occludens*, с которыми связаны клаудины, окклюдин и соединительные молекулы адгезии (*junctional adhesion molecules*, JAMs), сокращаются при получении стимула, что приводит к раскрытию плотных контактов, тем самым опосредуется транспорт веществ между клетками.

Повышение проницаемости эпителиального барьера приводит к уменьшению его селективности и чаще всего происходит за счет увеличения парацеллюлярного транспорта.

Помимо регуляции транспорта, кишечный барьер выполняет физическую и химическую защитную функцию.

За физический компонент защиты отвечают как эпителиоциты, так и слой слизи, предотвращающий адгезию патогенов к клеткам эпителия. Физический слой механически препятствует проникновению патогенов через барьер.

Химический компонент защиты представлен антибактериальными пептидами, секретируемыми клетками Панета, эпителиоцитами и плазматическими клетками. Данные белки обладают способностью воздействовать на бактерии, грибки и вирусы, защищая от их воздействия клетки эпителия [66].

1.2.3 Методы оценки состояния слизисто-эпителиального барьера ЖКТ и его функции

Методы, используемые для исследования проницаемости слизисто-эпителиального барьера ЖКТ, разделяются на прямые, позволяющие оценить непосредственно проницаемость, и непрямые (косвенные), дающие представление о состоянии отдельных компонентов, его формирующих [17].

Основным прямым методом исследования кишечной проницаемости является *in vitro* исследование образцов ткани (биоптатов или операционного материала) с помощью камеры Уссинга [129]. Этот способ относится к прямым методам оценки, то есть позволяет оценить непосредственно способность эпителия к транспорту молекул. Камера Уссинга позволяет измерять трансэпителиальное электрическое сопротивление – изменение напряжения под действием тока короткого замыкания, что является индикатором активного переноса ионов через эпителий слизистой оболочки кишки. Данный метод ввиду технической сложности практически не применяется.

Кроме того, к прямым методам оценки проницаемости относятся функциональные нагрузочные пробы, которые проводятся с помощью энтерального введения неперевариваемых макромолекул. Наиболее часто для оценки проницаемости используются различные сахара (лактозула, маннитол, сукралоза), реже – радиоизотопы ($^{51}\text{Cr-EDTA}$) и полиэтиленгликоли (PEG) [138]. На экскрецию молекул с мочой влияет объем мочи и продолжительность сбора материала. Кроме того, определенные факторы (площадь поверхности ЖКТ, скорость кровотока в слизистой оболочке, функция почек) способны влиять на всасывание, метаболизм и выведение маркеров, что является недостатком нагрузочных проб [96].

Морфологическое исследование дает возможность оценить наличие ассоциированного с повышенной проницаемостью неспецифического воспаления,

проявляющегося лимфоцитарной инфильтрацией, увеличением количества тучных клеток и эозинофилов в поле зрения.

Непрямые методы исследования направлены на оценку отдельных компонентов, формирующих слизисто-эпителиальный барьер. Иммуногистохимическое и иммунофлюоресцентное исследования биоптатов позволяют выявить муцины слизи и белки плотных контактов (окклюдин, клаудины-1, -3, -4, -5, -7, -10, E-кадгерин, zonula occludens, десмоколин-2, десмоглин-2, коннексин-43) [17].

Среди серологических маркеров наиболее изученными являются исследования уровня зонулина и кишечной фракции белка, связывающего жирные кислоты.

Белок зонулин связывается с рецепторами плотных контактов, вызывая сокращение цитоскелета эпителиоцитов и увеличение межэпителиальных промежутков, тем самым регулируя межклеточную проницаемость. Уровень зонулина можно исследовать как в сыворотке и плазме крови, так и в кале, однако в большинстве зарубежных публикаций, посвященных исследованию уровня белка у пациентов с СРК, рассматривается вариант определения его уровня в сыворотке крови. Повышение кишечной проницаемости ассоциировано с повышением концентрации данного белка в сыворотке, которая определяется методом иммуноферментного анализа [40]. Результаты исследований уровня зонулина сыворотки крови при СРК-Д гетерогенны. Так, по данным исследования Singh P. и соавторов (2019), у пациентов с СРК-Д повышен уровень сывороточного зонулина в сравнении со здоровыми лицами [120]. В то же время, по данным Barbaro M. и соавторов (2020), уровень сывороточного зонулина при СРК-Д не отличается от показателей здоровых добровольцев [23].

Другим используемым диагностическим маркером является кишечная форма белка, связывающего жирные кислоты (I-FABP) - небольшой цитозольный белок с небольшой молекулярной массой, который экспрессируется во всех отделах кишечника, причем наибольшая его концентрация отмечается в

слизистой оболочке тощей кишки [93]. Повышение уровня белка в сыворотке крови может свидетельствовать о разрушении мембраны энтероцитов, что позволяет использовать его в качестве потенциального маркера повреждения кишечного эпителия [131].

Помимо двух наиболее изученных маркеров, доступных для диагностики измененной кишечной проницаемости, существует ряд белков (таких, как диаминооксидаза, α 1-антитрипсин, амилоид А, липокалин-2), которые также рассматриваются в качестве потенциальных серологических маркеров диагностики нарушений слизисто-эпителиального барьера [17]. Однако небольшое количество пилотных исследований, проведенных на маленькой выборке пациентов, в настоящее время не дает возможности расценивать эти маркеры как достоверные.

1.2.4 Нарушение слизисто-эпителиального барьера кишечника в патогенезе синдрома раздраженного кишечника и функциональной диспепсии

Повышение проницаемости слизисто-эпителиального барьера отмечается при ряде заболеваний, большая часть из которых относится к трем группам: заболевания ЖКТ (СРК, воспалительные заболевания кишечника, целиакия), метаболические и эндокринные заболевания (сахарный диабет 2 типа, ожирение) и болезни нервной системы и психические заболевания (болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера, депрессия) [113].

Изменение проницаемости слизисто-эпителиального барьера приводит к повышенной бактериальной адгезии условно-патогенных и патогенных штаммов бактерий к кишечной стенке, что в свою очередь вызывает развитие в ней неспецифического воспаления. У пациентов с ФЗ ЖКТ признаки подобного воспаления можно зафиксировать в слизистой оболочке как тонкой, так и толстой кишки. Так, согласно данным обзора Sinagra E. и соавторов (2016), у пациентов с

СРК в биоптатах слизистой оболочки отмечается увеличение количества тучных клеток и Т-лимфоцитов в сравнении с группой контроля, что является признаком воспаления [119, 139].

Длительное воздействие провоспалительных цитокинов активирует толл-подобные рецепторы TLR4 и TLR7 в миоэнтеральных сплетениях и подавляет опиоидные и антиноцицептивные каннабиноидные рецепторы слизистой оболочки ЖКТ [2]. В результате активации глутаматных рецепторов увеличивается интенсивность болевого сигнала в нейрональных путях, которые через задние корешки следуют в дорсальные рога спинного мозга и передаются в переднюю поясную, соматосенсорную и префронтальную кору головного мозга. Формирование подобной центральной сенситизации вызывает нарушение моторики, которое проявляется симптомами ФЗ ЖКТ [8].

Нагрузочные тесты подтверждают, что у пациентов с СРК-Д отмечается повышение проницаемости слизистой оболочки тонкой кишки, связанное с активностью заболевания. Так, Li L. и соавторы (2016) установили с помощью проведения теста лактулоза/маннитол наличие повышенной проницаемости слизисто-эпителиального барьера тонкой кишки, ассоциированное со снижением качества жизни у пациентов с СРК-Д, установленным с помощью использования опросника для оценки качества жизни у больных СРК IBS-QOL [77].

У пациентов с ФЗ ЖКТ нарушение проницаемости на уровне презпителиального слоя, в том числе уровень экспрессии муцинов слизи, ранее изучено не было. Однако, предположительно, нарушение состава и строения кишечной слизи, приводящее к повышению воздействия бактериальных агентов на эпителиальные клетки, может служить одной из причин развития неспецифического воспаления, являющегося частью патогенеза ФД и СРК. Подобные изменения ранее были зафиксированы у пациентов с язвенным колитом – установлено, что при данном заболевании, для которого характерно нарушение физического барьера и развитие видимого воспаления, уровень MUC-2

в слизистой оболочке сигмовидной кишки достоверно снижен в сравнении со здоровыми лицами [140].

По результатам ранее опубликованных данных, повышение проницаемости при СРК-Д в большей степени ассоциировано с изменениями на среднем, эпителиальном уровне кишечного барьера. Данные изменения также сопряжены с тяжестью заболевания. Так, исследование, проведенное Martinez С. и соавторами (2012), продемонстрировало, что снижение экспрессии белков zonula occludens в слизистой оболочке тощей кишки прямо коррелирует с частотой и консистенцией стула при СРК-Д [86].

В целом, для СРК-Д характерны изменения экспрессии большого спектра белков, формирующих плотные контакты, в слизистой оболочке тонкой и толстой кишки, данные о которых приведены в таблице 2.

Для таблицы приняты следующие обозначения:

↓ - снижение уровня, ↑ - повышение уровня, = - уровень сопоставим с уровнем контрольных образцов.

Таблица 2 - Изменения компонентов слизисто-эпителиального барьера ЖКТ при СРК-Д

Авторы	Исследуемый отдел ЖКТ	Метод исследования	Результат
Zhou Q. и соавторы [146]	Двенадцатиперстная кишка	Иммуноблотинг	↓ CLD-1
	Ректосигмоидный отдел	Иммуноблотинг	↓ CLD-1
Martinez С. и соавторы [86]	Тощая кишка	Иммунофлуоресценция	↓ ZO-1, ↓ ZO-2, = ZO-3
Martinez С. и соавторы [84]	Тощая кишка	Вестерн-блотинг	↑ CLD-2, = CLD-1, = CLD-3, = CLD-4, = окклюдин
Martinez С. и соавторы [85]	Тощая кишка	Вестерн-блотинг	↑ цингулин, ↑ CLDN-2

Продолжение таблицы 2

Авторы	Исследуемый отдел ЖКТ	Метод исследования	Результат
Cheng P. и соавторы [30]	Подвздошная кишка Восходящий отдел толстой кишки	ПЦР, вестерн-блотинг, иммуногистохимия ПЦР, вестерн-блотинг, иммуногистохимия	↓ CLD-1 ↓ CLD-1
Ishimoto H. и соавторы [56]	Подвздошная кишка Слепая кишка Ректосигмоидный отдел	ПЦР ПЦР ПЦР	↑ CLD-2, = CLD-1, = CLD-7, = JAM-1, = окклюдин, = ZO-1 = CLD-1, = CLD-2, = CLD-7, = JAM-1, = окклюдин, = ZO-1 = CLD-1, = CLD-2, = CLD-7, = JAM-1, = окклюдин, = ZO-1
Wilcz-Villega E. и соавторы [141]	Слепая кишка	Иммунофлуоресцентный анализ	↓ E-кадгерин ↓ ZO-1 = CLD-1
Bertiaux-Vandaele N. и соавторы [25]	Нисходящий отдел толстой кишки	Вестерн-блотинг	↓ CLD-1, ↓ окклюдин, ↓ ZO-1
Vazquez-Roque M.I. и соавторы [136]	Нисходящий отдел толстой кишки	ПЦР	↓ окклюдин, ↓ ZO-1, = CLD-1

Продолжение таблицы 2

Авторы	Исследуемый отдел ЖКТ	Метод исследования	Результат
Zeng J. и соавторы [144]	Ректосигмоидный отдел	ПЦР Вестерн-блотинг	↓ окклюдин, ↓ ZO-1 ↓ окклюдин
Camilleri M. и соавторы [27]	Ректосигмоидный отдел	ПЦР	= CLDN-1 = окклюдин

У пациентов с СРК-Д также отмечаются изменения уровня сывороточных маркеров проницаемости. По данным результатов Singh P. и соавторов (2019) и Undseth R. и соавторов (2016), у пациентов с СРК-Д отмечается повышение уровня сывороточного зонулина в сравнении с группой контроля и снижение уровня i-FABP в сыворотке крови в сравнении со здоровыми лицами [120, 131].

При ФД так же, как и при СРК, определяются признаки неспецифического воспаления, выявляемые в слизистой оболочке верхних отделов тонкой кишки. Мета-анализ 37 исследований показал, что у пациентов с ФД в сравнении со здоровыми лицами отмечается повышение количества эозинофилов и тучных клеток в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки, причем данное повышение характерно как для постпрандиального дистресс-синдрома, так и для болевой формы заболевания. Количество нейтрофилов и интраэпителиальных лимфоцитов при этом статистически не отличалось от нормальных показателей [35]. Эозинофилы, участвующие в выработке цитокинов и нейромедиаторов и активирующие тучные клетки, активно вовлечены в иммунный ответ и регуляцию моторики гладкой мускулатуры, что позволяет им также быть частью механизма развития неспецифического воспаления в стенке тонкой кишки [63]. Подобные воспалительные изменения могут быть ассоциированы с нарушением экспрессии белков плотных контактов, однако к настоящему моменту представлено мало исследований, посвященных изменениям слизисто-эпителиального барьера ЖКТ

при ФД. Takі M. и соавторы (2019) установили, что у пациентов с ФД отмечается повышенная экспрессия мРНК клаудина-3 в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки (установленная путем использования метода ПЦР в реальном времени), ассоциированная с увеличением количества эозинофилов и тучных клеток в слизистой оболочке [127]. Lee J. и соавторы (2020) также подтвердили изменения экспрессии белков, формирующих плотные контакты, при ФД. В ходе их исследования было установлено, что по данным проведенного вестерн-блотинга у пациентов, страдающих ФД, отмечается повышение уровня мРНК клаудина-2 в слизистой оболочке желудка в сравнении со здоровыми лицами группы контроля [75].

Неспецифическое воспаление может быть обусловлено воздействием патогенов на эпителий ЖКТ. Часть данных патогенов может быть ассоциирована с патогенными и условно-патогенными бактериями ЖКТ, что позволяет рассмотреть кишечную микробиоту как фактор, потенциально связанный с развитием ФЗ ЖКТ.

1.3 Кишечная микробиота

1.3.1 Общие представления о кишечной микробиоте

Кишечная микробиота – это совокупность микроорганизмов, колонизирующих тонкую и толстую кишку [130].

Таксономическая классификация микроорганизмов разделяет их на неклеточные формы (вирусы, вириды, прионы) и клеточные формы (бактерии, археобактерии, грибы, простейшие). Домен *Bacteria* включает в себя 26 типов (phylum), которые имеют следующую систематику: класс>порядок>семейство>род>вид.

На состав микробиоты ЖКТ взрослого человека оказывает влияние множество факторов - возраст, характер питания, физико-химические свойства

окружающей среды (рН просвета, содержание кислорода, температура), прием лекарственных препаратов и некоторые другие факторы [109].

На протяжении ЖКТ отмечается положительный градиент колониеобразующих единиц (КОЕ) – в желудке от 0 до 10^2 КОЕ/мл содержимого, в двенадцатиперстной кишке около 0 - 10^3 КОЕ/мл, в тощей и слепой - 10^6 - 10^8 КОЕ/мл, в толстой – от 10^9 до 10^{11} КОЕ/мл [125] (рисунок 2).

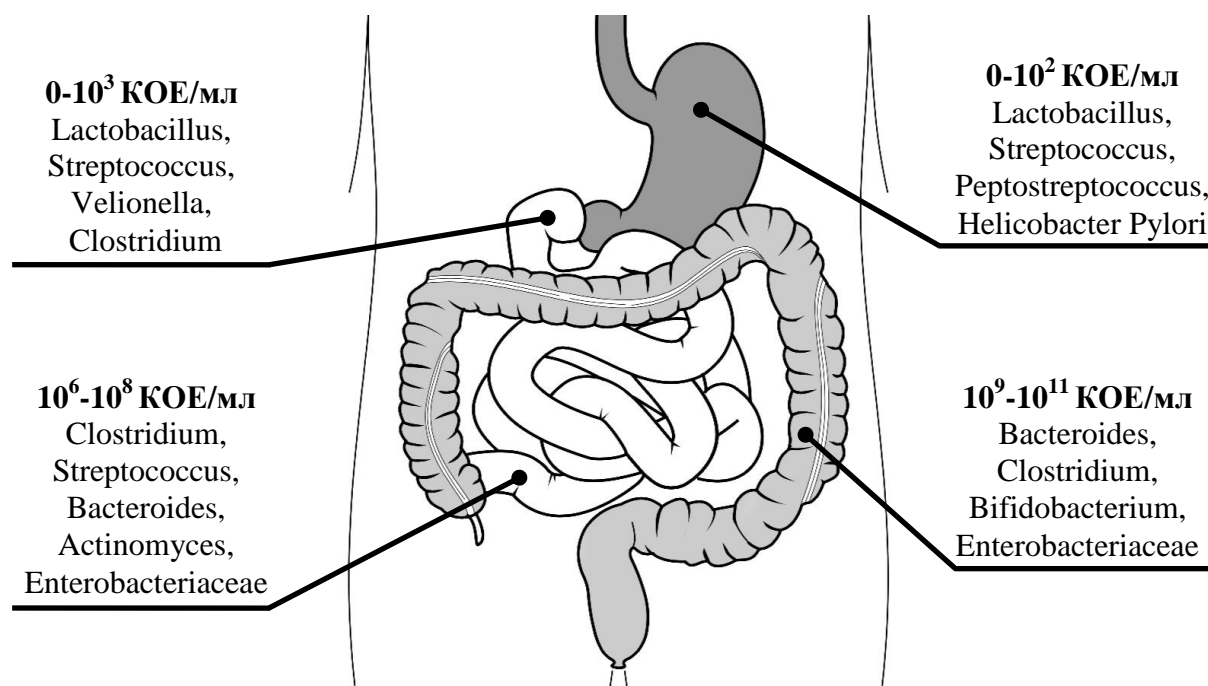


Рисунок 2 - Качественный и количественный состав микробиоты в разных отделах ЖКТ

Стабильность состава микробиоты определяется состоянием ее основных видов, которые составляют «ядро микробиоты» (core microbiota) – совокупность представителей, которые встречаются у большинства индивидуумов в популяции (не менее 50-75%) [55, 128]. Кишечная микробиота представлена десятью основными типами бактерий - *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Cyanobacteria*, *Firmicutes*, *Fusobacteria*, *Lentisphaerae*, *Proteobacteria*, *Spirochaetes*, *Synergistetes* и *Verrucomicrobia* [97]. Из 10 данных типов в составе кишечной микробиоты человека преобладают типы *Firmicutes*, *Bacteroides*, *Actinobacteria* и *Proteobacteria*. На долю *Firmicutes* приходится около 80% бактерий, *Bacteroidetes*

– около 10%, *Actinobacteria* – 1,5%, *Proteobacteria* - около 1%, и менее 10% бактерий относятся к остальным семи родам бактерий [62].

На уровне рода для каждого отдела ЖКТ характерен свой состав микробиоты. Так, в двенадцатиперстной кишке преобладающими родами являются *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Velionella* и *Clostridium*. В дистальном отделе тонкой кишки – бактерии родов *Clostridium*, *Streptococcus*, *Bacteroides*, *Actinomyces* и *Enterobacteriaceae*. В толстой кишке наиболее распространены бактерии родов *Bacteroides*, *Clostridium*, *Bifidobacterium* и *Enterobacteriaceae*. В желудке также имеется характерный состав микробиоты, состоящий преимущественно из бактерий родов *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Peptostreptococcus* и *Helicobacter* [17] (рисунок 2).

Кишечная микробиота выполняет ряд функций, большая часть которых относится к двум категориям – метаболической и защитной.

Метаболическая функция микробиоты заключается в способности бактерий ферментировать пищевые волокна (полисахариды), утилизировать водород, вырабатывать аминокислоты, витамины и антимикробные вещества [18].

Большая часть метаболических функций микробиоты выполняется короткоцепочечными жирными кислотами (КЦЖК) - важнейшими продуктами жизнедеятельности микробиоты, которые образуются при расщеплении сложных углеводов ферментами, которые вырабатывают бактерии [9].

К основным КЦЖК относятся уксусная, пропионовая и масляная кислоты. КЦЖК продуцируются определенными бактериями, формирующими так называемое «метаболическое ядро микробиоты», представленное видами и типами, отвечающими за ключевые метаболические функции (таблица 3).

Таблица 3 - Микроорганизмы, продуцирующие КЦЖК

Соль	Кислота	Бактерии-продуценты (род, вид)
Ацетат	Уксусная кислота (С2)	Bacteroides, Bifidobacterium, Prevotella, Ruminococcus, Clostridium, Streptococcus, Lactobacillus, Veillonella, Akkermansia muciniphila, Blautia Hydrogenotrophica [83, 100]
Пропионат	Пропионовая кислота (С3)	Propionibacterium, Arachnia, Anaerovibrio Bacteroides, Phascolarctobacterium succinatutens, Dialister, Veillonella, Megasphaera elsdenii, Coprococcus catus, Salmonella, Roseburia inulinivorans, Ruminococcus obeum [83, 114]
Бутират	Масляная кислота (С4)	Acidaminococcus, Bacteroides, Clostridium, Lachnospira, Butyrivibrio, Gemmiger, Fusobacterium, Coprococcus, Anaerostipes, Eubacterium, Faecalibacterium prausnitzii, Roseburia [24, 83, 114]

Уксусная кислота участвует в регуляции процесса липогенеза [133]. Пропионовая кислота является источником энергии для колоноцитов и принимает участие в регуляции глюконеогенеза. Также пропионат может регулировать чувство насыщения, стимулируя высвобождение пептида YY [89]. Уксусная и пропионовая кислоты также являются лигандами рецептора GPR43, который участвует в регуляции воспалительных реакций [68]. Масляная кислота является источником энергии для колоноцитов и отвечает за контроль пролиферации, дифференцировки и апоптоза клеток кишечника и секрецию муцина MUC-2, поддерживая защитную функцию кишечного барьера [29, 52, 53, 104]. Кроме того, бутират активирует двигательную функцию, которая обусловлена способностью кислоты влиять на синтез серотонина (5-гидрокситриптамин (5-НТ)), являющегося ключевым регулятором моторики ЖКТ [98]. КЦЖК также контролируют синтез желчных кислот, поступающих в кишечник, которые обладают прокинетической активностью.

Защитная функция микробиоты заключена в поддержании иммунного ответа и создании колонизационной резистентности. Колонизационная резистентность обусловлена способностью бактерий механически препятствовать прикреплению патогенных и условно-патогенных бактерий к эпителию слизистой оболочки кишки, конкуренцией за источники питания и синтезом бактериоцинов [92]. Поддержание иммунного ответа микробиотой обусловлено синтезом иммуноглобулинов и воздействием на иммунокомпетентные органы ЖКТ.

Изменение состава кишечной микробиоты приводит к утрате её функции, и, как следствие, к нарушению работы ЖКТ.

1.3.2 Кишечная микробиота в патогенезе синдрома раздраженного кишечника и функциональной диспепсии

Исследования, проводимые в последние десятилетия, подтверждают, что при СРК отмечаются изменения состава кишечной микробиоты.

На уровне типа, согласно данным Zhuang X. и соавторов (2018), у пациентов с СРК-Д в сравнении со здоровыми лицами выявляется уменьшение количества бактерий типа *Firmicutes* и увеличение содержаний бактерий типа *Bacteroidetes* в кале [147].

Среди бактерий типа *Firmicutes*, по данным Liu H.N. и соавторов (2017), у больных СРК-Д наблюдается снижение количества в кале бактерий вида *Faecalibacterium prausnitzii*, которая является одним из основных продуцентов масляной кислоты [80]. Согласно Su T. и соавторам (2018), у пациентов с СРК-Д в составе кишечной микробиоты также снижено содержание бактерий рода *Lactobacillus* [121]. Это снижение может быть связано с развитием заболевания, так как данные бактерии продуцируют молочную кислоту, отвечающую за поддержание целостности кишечного барьера [106]. На уровне семейства, по данным вышеуказанного исследования Zhuang X. и соавторов, у пациентов с СРК-Д снижено содержание бактерий *Ruminococcaceae* и *Lachnospiraceae*,

которые также являются продуцентами бутирата [147]. В то же время отмечается некоторое противоречие между изменениями состава микробиоты и нарушениями метаболической активности. Sun Q. и соавторы (2020) по результатам проведенного мета-анализа 15 исследований сообщили, что у пациентов с СРК-Д увеличивается концентрация бутирата в образцах кала [122], а результаты исследования Farup P.G. и соавторов (2016) показали, что у пациентов с СРК-Д в сравнении с группой контроля отмечается повышение содержания ацетата и пропионата в кале и увеличение общей концентрации КЦЖК в кале в сравнении со здоровыми людьми [39].

Для типа *Actinobacteria* при СРК-Д были выявлены изменения на уровне рода. По данным Liu H.N. и соавторов (2017) и Su T. и соавторов (2018), у пациентов отмечается уменьшение содержания бактерий рода *Bifidobacterium* в кале [80, 121]. Род *Bifidobacterium* является продуцентом уксусной кислоты, и уменьшение его содержания логично приводит к нарушению функций кишечной микробиоты.

Для *Proteobacteria*, по данным исследований, при СРК-Д характерно повышение уровня. В 2012 году Carroll I.M. и соавторы установили, что у пациентов с СРК-Д отмечается повышение содержания бактерий данного типа, в том числе за счет увеличения количества вовлеченных в развитие оксидативного стресса бактерий семейства *Enterobacteriaceae* в кале [28, 60]. Кроме того, повышение содержания бактерий типа *Proteobacteria* предположительно может обуславливать висцеральную гиперчувствительность, характерную для пациентов с СРК. Riba A. и соавторы (2017) в своем исследовании установили наличие положительной корреляции между висцеральной гиперчувствительностью и увеличением численности бактерий вида *Escherichia coli* [101].

Изменения уровня бактерий типа *Bacteroidetes* противоречивы. По данным исследований Krogius-Kurikka L. и соавторов (2009), у пациентов с СРК-Д количество бактерий этого типа в кале снижено в сравнении со здоровыми лицами группы контроля [71]. По данным Shukla R. и соавторов (2015), уровень

бактерий рода *Bacteroides* в кале у пациентов с СРК-Д выше, чем в группе контроля [117]. Sundin J. и соавторы (2014) также установили, что у пациентов с постинфекционным СРК-Д отмечается увеличения содержания бактерий типа *Bacteroidetes* в кале [124].

Бактерии, находящиеся в просвете кишки, активно взаимодействуют со слизисто-эпителиальным барьером. Вязкий слизистый слой, содержащий селективный иммуноглобулин Е, нейтрализует патогенные бактерии, способствуя поддержанию комменсальной микрофлоры. В свою очередь комменсальные бактерии подавляют колонизацию просвета патогенными бактериями путем конкуренции за питательные вещества, необходимые для роста бактерий, выработки бактериоцинов и коррекции рН просвета, тем самым снижая адгезию патогенов к кишечному эпителию и уменьшая риск развития воспаления в кишечной стенке [113].

Некоторые бактерии могут непосредственно влиять на секрецию муцинов слизи, образующих преэпителиальную защиту. Вид *Akkermansia muciniphila*, относящийся к типу *Verrucomicrobia*, способствует выработке муцинов слизистой оболочки, что было отображено в результатах опубликованного в 2013 году исследования Everard A. и соавторов [37].

У пациентов, страдающих ФД, отмечаются изменения в составе микробиоты. Результаты пилотных исследования, в ходе которых оценивался бактериальный состав содержимого двенадцатиперстной кишки, взятого при помощи биопсии, показали, что у пациентов с ФД в сравнении с контролем отмечается снижение количества бактерий родов *Prevotella* (тип *Bacteroidetes*), *Veillonella* (тип *Firmicutes*) и *Actinomyces* (тип *Actinobacteria*) [145]. Данные Fukui A. и соавторов (2020) показали, что в слизистой оболочке верхних отделах ЖКТ (ротовой полости, пищевода, желудка и двенадцатиперстной кишки) у пациентов с ФД отмечается повышение содержания бактерий типа *Firmicutes*, в том числе за счет рода *Streptococcus*, причем повышение последнего положительно

коррелирует с симптомами заболевания [42]. Изменения состава кишечной микробиоты у пациентов с ФД к настоящему моменту исследованы не были.

Вовлеченность кишечной микробиоты в большое число физиологических процессов, происходящих в организме, позволяет предположить, что кишечные бактерии также могут оказывать влияние на состояние слизисто-эпителиального барьера ЖКТ. Это предположение подтверждают результаты проведенных исследований, демонстрирующих изменения в составе кишечной микробиоты у больных с ФЗ ЖКТ, для которых характерно повышение проницаемости слизисто-эпителиального барьера ЖКТ. Все вышперечисленное делает актуальным вопрос поиска способов прерывания данного патологического каскада, являющегося частью патогенеза ФЗ ЖКТ.

1.4 Коррекция проницаемости слизисто-эпителиального барьера ЖКТ как потенциальный способ лечения синдрома раздраженного кишечника и функциональной диспепсии

Согласно рекомендациям Российской гастроэнтерологической ассоциации и Ассоциации колопроктологов России по диагностике и лечению СРК [3], пациентам с диарейным вариантом заболевания рекомендована терапия препаратами следующих групп:

1. Спазмолитические препараты
2. Агонисты периферических опиоидных рецепторов (тримебутина малеат)
3. Лоперамида гидрохлорид
3. Диоктаэдрический смектит
4. Растительный препарат STW 5
5. Пробиотики (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*, *Lactobacillus rhamnosus*)
6. Антибиотики (рифаксимин)

Из названных препаратов достоверно большая эффективность у пациентов с СРК-Д отмечается у тримебутина, достигая показателя эффективности 76,5% против 45,2% эффективности спазмолитиков [5, 15, 16]. В целом при проведении курса стандартной терапии ремиссии удается достичь у 38-67% пациентов с СРК. Повышения эффективности лечения можно добиться путем назначения психотропных препаратов [11]. Однако большое число больных отказываются от приема данных групп препаратов.

При ФД, согласно рекомендациям Российской гастроэнтерологической ассоциации [4], пациентам с данным заболеванием показана терапия препаратами из следующих групп:

1. Антисекреторные препараты: ингибиторы протонной помпы и блокаторы H_2 -рецепторов гистамина
2. Эрадикационная терапия (в случае диспепсии, вызванной инфекцией *Helicobacter pylori*)
3. Прокинетики
4. Агонисты периферических опиоидных рецепторов (тримебутина малеат)

Несмотря на большое количество препаратов, рекомендованных для лечения ФД, ремиссии, как и в случае с СРК, удается достичь лишь у части пациентов – эффективность препаратов указанных выше групп не превышает 38% [5].

Кроме того, из всех препаратов, рекомендованных для лечения СРК и ФД, только одна группа – агонисты периферических рецепторов (тримебутина малеат), - рекомендована к назначению при обоих заболеваниях и позволяет избежать терапии большим количеством препаратов, выбираемых из разных групп [34, 74]. Однако, как было сказано выше, терапия препаратами данной группы также не дает возможности достичь клинического улучшения у всех пациентов.

В связи с недостаточной эффективностью стандартных схем лечения и определенными трудностями, возникающими при необходимости назначить психотропные препараты, необходим поиск новых вариантов лечения ФЗ ЖКТ.

Одним из таких вариантов может быть применение препаратов, оказывающих влияние на слизисто-эпителиальный барьер ЖКТ.

Ребамипид – активное производное альфа-аминокислоты 2(1H)-хинолинона. Ребамипид уменьшает синтез провоспалительного цитокина интерлейкина-8 (ИЛ-8) и фактора некроза опухоли альфа (ФНО-альфа) и снижает экспрессию молекул адгезии нейтрофилов, препятствуя их активации. Также препарат приводит к усилению активности синтазы азота, что вызывает уменьшение адгезии эндотелия сосудов [6, 21]. Данные механизмы обуславливают снижение воспаления в слизистой оболочке ЖКТ. Другим свойством ребамипида является индукция циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2), что способствует стимуляции выработки в желудке простагландинов E2 и I2, которые активируют пролиферацию клеток слизистой оболочки и улучшают микроциркуляцию в ней [67]. Кроме того, в ходе опытов на животной модели было установлено, что включение ребамипида в схему лечения гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (ГЭРБ) препаратами из группы ИПП приводит к повышению уровня экспрессии клаудинов-3 и -4 в слизистой оболочке пищевода, что позволяет предположить возможность влияния препарата на кишечный барьер путем восстановления эпителиального уровня защиты [49].

На рисунке 3 представлена схема, иллюстрирующая механизм действия ребамипида в ЖКТ.

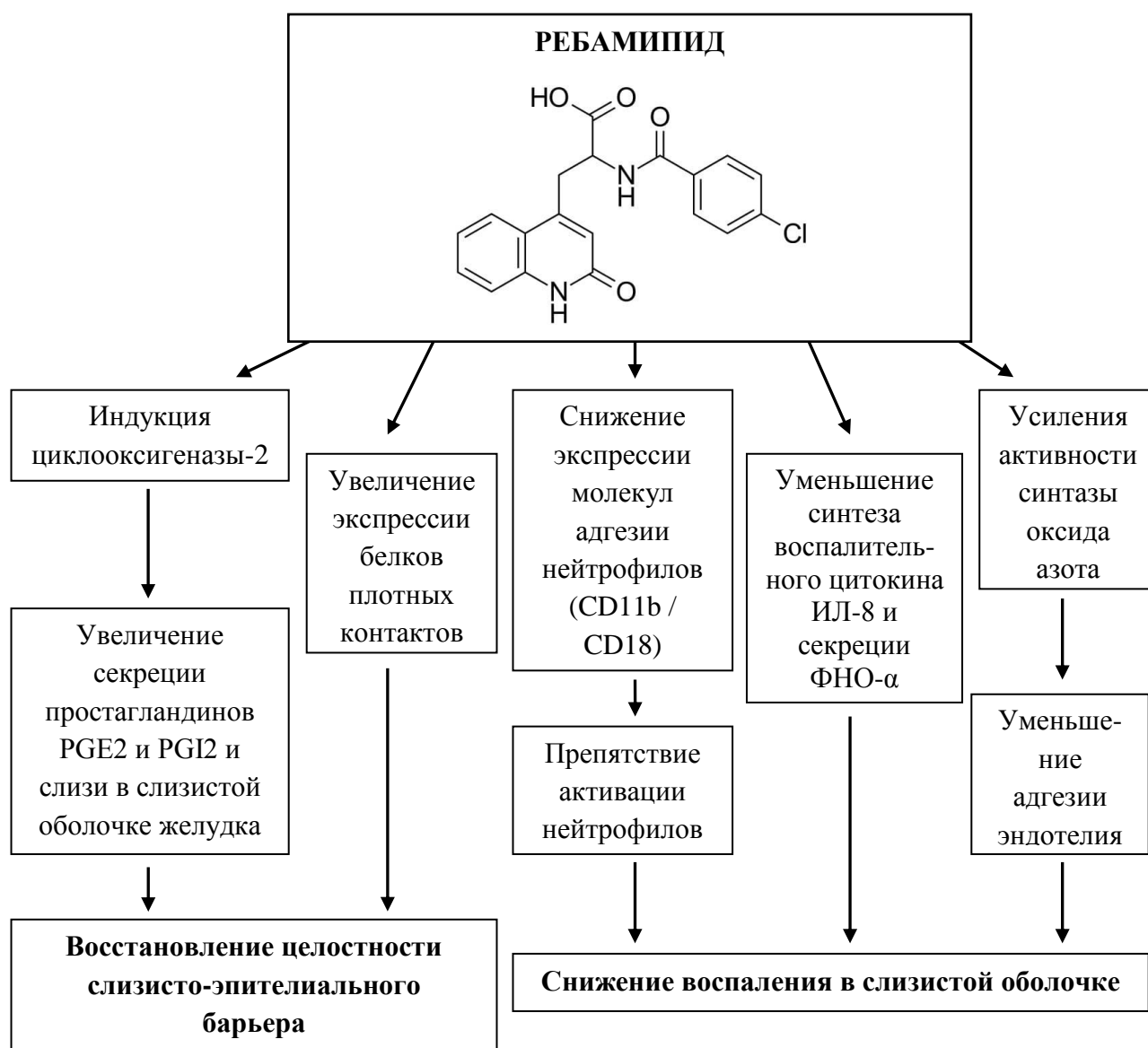


Рисунок 3 - Механизмы действия ребамипида

Несколько исследований продемонстрировали способность ребамипида влиять на состав микробиоты ЖКТ. Так, опыты на животной модели, проведенные Kurata S. и соавторами (2015), показали, что введение ребамипида крысам с индометацин-индуцированным повреждением слизистой оболочки тощей кишки уменьшает выраженность повреждения и снижает содержание бактерий родов *Enterococcaceae* и *Enterobacteriaceae* в слизистой оболочке тощей кишки [72]. Kohata Y. и соавторы (2015) в другом эксперименте, проведенном на

животной модели, установили, что у крыс с ГЭРБ и пищеводом Барретта включение ребамипида вызвало снижение содержания бактерий рода *Clostridium* в сравнении с группой контроля, не получавшей препарат, и не привело к уменьшению уровня бактерий рода *Lactobacillus*, содержание которых уменьшалось у крыс, не получавших терапию [69].

Вышеперечисленные механизмы действия ребамипида приводят к восстановлению проницаемости слизисто-эпителиального барьера и снижению воспаления в стенке кишечника.

Ребамипид является установленным препаратом выбора для лечения функциональной диспепсии, язвенной болезни желудка, НПВП-ассоциированной гастропатии. Согласно данным мета-анализа 2018 года, проведенного Jaafar J.M. и соавторами, ребамипид на 23% эффективнее плацебо, ингибиторов протонной помпы и антисекреторных препаратов [59]. Учитывая эффективность ребамипида при ФД, в рекомендациях по диагностике и лечению ФД азиатского региона (2019) авторами было рекомендовано назначения ребамипида пациентам, не дающим терапевтический ответ на стандартную терапию ИПП (уровень доказательности – умеренной, степень рекомендации – предложение, уровень согласия – 95,2%) [95].

В настоящий момент количество научных работ, посвященных эффективности ребамипида при различных заболеваниях, прогрессивно растет [1]. Исследований, посвященных влиянию ребамипида на симптомы СРК, к настоящему моменту проведено не было, однако положительный эффект препарата при других ФЗ ЖКТ позволяет предположить, что включение данного препарата в схему лечения пациентов с СРК-Д и сочетанием СРК-Д и ФД, может увеличить эффективность лечения заболеваний.

ГЛАВА 2 МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведение исследования было одобрено Локальным Комитетом по этике ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава РФ (Сеченовский университет) № 06-21 от 07.04.2021.

2.1. Дизайн исследования

За период времени с мая 2018 года по май 2021 года в отделении хронических заболеваний кишечника и поджелудочной железы Клиники пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии имени В.Х. Василенко (директор Клиники - академик РАН, профессор В.Т. Ивашкин, заведующий отделением – д.м.н. О.С. Шифрин) было обследовано 219 пациентов с диагнозом «синдром раздраженного кишечника» и с сочетанием диагнозов «синдром раздраженного кишечника» и «функциональная диспепсия». Из них 60 пациентов в возрасте от 18 до 59 лет были отобраны для исследования на основании соответствия критериям включения и несоответствия критериям исключения. Диагноз пациентов был установлен на основании соответствия клинической картины заболевания "Римским критериям IV" и исключения органических заболеваний по данным обследования, проведенного согласно «Клиническим рекомендациям Российской гастроэнтерологической ассоциации и Ассоциации колопроктологов России по диагностике и лечению синдрома раздраженного кишечника» [3] и «Рекомендациям Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению функциональной диспепсии» [4].

Включение пациентов в исследование проводилось только после подписания информированного согласия на участие.

Критериями, не позволяющими включить пациентов в исследование, являлись: возраст младше 18 лет и старше 59 лет; отказ от участия в исследовании

и/или в подписании формы информированного согласия; беременность и/или период кормления грудью; наличие в анамнезе онкологических заболеваний, операций на органах ЖКТ (за исключением аппендэктомии); почечная недостаточность (клиренс креатинина < 50 мл/мин); печеночная недостаточность, подтвержденная данными клинико-лабораторных исследований; тяжелые, декомпенсированные или нестабильные соматические заболевания (любые заболевания или состояния, которые угрожают жизни больного или ухудшают его прогноз); известная чувствительность к любым компонентам лекарственных средств, назначаемых в данном исследовании; положительный результат анализа крови на вирус иммунодефицита человека и/или сифилис и/или HbsAg и/или HCVAb.

Ведение больных осуществлялось совместно с врачами отделения д.м.н. Е.А. Полуэктовой, А.В. Королевым, Л.Н. Андросовой, А.И. Ульяниным.

В группу контроля были включены 20 здоровых лиц в возрасте от 18 до 59 лет, не предъявляющих жалоб со стороны ЖКТ, без сопутствующих заболеваний дыхательной, мочевыделительной, эндокринной, сердечно-сосудистой системы и онкологических заболеваний.

2.2 Методы исследования

2.2.1 Клиническое обследование пациентов

Общий осмотр больного главным образом был направлен на обнаружение симптомов, исключающих диагноз СРК, таких как гепатомегалия, спленомегалия, увеличение щитовидной железы, опухолевые образования толстой кишки. У всех больных обязательным считалось проведение следующих исследований:

- общий анализ крови, мочи, кала;

- биохимический анализ крови (общий белок, альбумин, глюкоза, креатинин, общий и прямой билирубин, железо, аспартатаминотрансфераза, аланинаминотрансфераза, гамма-глутамилтранспептидаза, щелочная фосфатаза);
- ультразвуковое исследование (УЗИ) органов брюшной полости;
- эзофагогастродуоденоскопия (ЭГДС) с биопсией для определения инфекции *Helicobacter pylori* и биопсией из двенадцатиперстной кишки для исключения целиакии;
- колоноскопия с осмотром терминального отдела тонкой кишки и взятием биопсии из тонкой и толстой кишки для исключения воспалительных заболеваний кишечника, микроскопического и лимфоцитарного колита.

Ультразвуковое исследование (УЗИ) органов брюшной полости выполнялось врачами отделения ультразвуковой диагностики УКБ №2 ФГАОУ ВО Первого МГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский университет) (заведующая отделением к.м.н. М.А. Татаркина) – М.А. Клыпой и Л.А. Лабуть, - с применением аппарата Voluson 730 фирмы «General Electric» (США) по стандартной методике.

Эзофагогастродуоденоскопия (ЭГДС) проводилась врачами отделения лечебно-диагностической эндоскопии УКБ №2 ФГАОУ ВО Первого МГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский университет) (заведующий отделением к.м.н. П.В. Павлов) – к.м.н. А.П. Кирюхиным, к.м.н. М.Ю. Коньковым, к.м.н. А.Ф. Афанасьевой, к.м.н. А.А. Федоренко, - с применением гастроскопа Pentax EG 29-i10 (Япония). В процессе эндоскопического исследования оценивались состояние слизистой оболочки пищевода, желудка и двенадцатиперстной кишки, наличие или отсутствие эрозий и язв, состояние слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки. Всем пациентам была выполнена биопсия из неизмененных участков слизистой оболочки постбульбарного отдела 12-перстной кишки (с целью исключения целиакии) с последующей фиксацией биоптатов в 10% растворе формалина.

Колоноскопия выполнялась врачами отделения лечебно-диагностической эндоскопии УКБ №2 ФГАОУ ВО Первого МГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский университет) (заведующий отделением к.м.н. П.В. Павлов) – к.м.н. А.П. Кирюхиным, М.Ю. Коньковым, к.м.н. А.Ф. Афанасьевой, к.м.н. А.А. Федоренко, - с применением колоноскопа Pentax EC-3490TLi (Япония). Подготовка к проведению колоноскопии проводилась препаратами Макрогола (Фортранс и Мовипреп) согласно инструкции. При проведении исследования оценивалось состояние слизистой оболочки толстой кишки и терминального отдела подвздошной кишки для исключения воспалительных заболеваний кишечника и новообразований.

Всем пациентам и лицам группы контроля в рамках научного исследования проводилось дополнительное обследование для углубленного исследования патогенеза заболевания.

Дизайн исследования представлен на рисунке 4.

Обследованные пациенты были разделены методом простой рандомизации на 3 группы в зависимости от назначенной терапии.

	Визит 1 (0 день)	Визит 2 (28 день)	Визит 3 (56 день)
Пациенты СРК-Д в сочетании с ФД (n=60)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Опросник 7x7 2. Опросник The Short Form 36 3. Опросник Gastrointestinal Symptom Rating Scale 	<p>Группа 1: тримебутин + плацебо 56 дней</p> <p>Группа 2: тримебутин + ребамипид 56 дней</p> <p>Группа 3: ребамипид + плацебо 56 дней</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Опросник 7x7 2. Опросник The Short Form 36 3. Опросник Gastrointestinal Symptom Rating Scale
	Здоровые добровольцы, сопоставимые по полу и возрасту (n=20)	<ol style="list-style-type: none"> 4. КЦЖК в кале 5. 16SRNA секвенирование микробиоты 6. Зонулин сыворотки крови 7. Оценка количества эозинофилов и лимфоцитов в биоптатах ДПК и сигмовидной кишки 8. Оценка экспрессии MUC2 в биоптатах ДПК и сигмовидной кишки 9. Исследование белков, связывающих жирные кислоты, в биоптатах ДПК и сигмовидной кишки 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Опросник 7x7 2. Опросник The Short Form 36 3. Опросник Gastrointestinal Symptom Rating Scale

Рисунок 4 – Дизайн исследования

2.2.2 Оценка выраженности жалоб согласно стандартизированным опросникам

Все 60 пациентов заполняли опросники, позволяющие оценить выраженность жалоб и качество жизни на 0, 28 и 56 дни исследования:

- Опросник для оценки качества жизни пациента The Short Form-36 (Опросник SF-36). Опросник SF-36 позволяет оценить 8 показателей: физическое функционирование (PF), ролевое функционирование, обусловленное физическим состоянием (RP), интенсивность боли (BP), общее состояние здоровья (GH), жизненную активность (VT), социальное функционирование (SF), ролевое функционирование, обусловленное эмоциональным состоянием (RE) и психическое здоровье (MH). Результаты были сгруппированы в два показателя: физический компонент здоровья (включающий PF, RP, BP и GH) и психологический компонент здоровья (включающий VT, SF, RE и MH) [78]. Обработка результатов была проведена согласно Инструкции по обработке данных, полученных с помощью опросника The SF-36, подготовленной компанией Эвиденс – Клинико-фармакологические исследования.

- Опросник динамической оценки симптомов функциональных заболеваний ЖКТ «7 симптомов за 7 дней» (Опросник «7x7»). Опросник базируется на описании клинических симптомов соответственно Римским критериям III пересмотра. Он включает вопросы о наличии 7 симптомов ФЗ ЖКТ и их выраженности (незначительная, умеренная, сильная). В опроснике суммируются баллы, отражающие факт наличия симптома и его интенсивность. Оценка тяжести состояния согласно опроснику представлена как: 0-1 балл – здоров, 2-6 – пограничное расстройство, 7-12 – легкое расстройство, 13-18 – умеренно выраженное расстройство, 19-24 – выраженное расстройство, 25 и более – тяжелое расстройство [7].

- Опросник Gastrointestinal Symptom Rating Scale (GSRS). Опросник представлен 15 вопросами, которые отражают гастроинтестинальные жалобы, в

соответствии с выраженностью проявления: 0 баллов – не беспокоит, 1 балл – беспокоит незначительно, 2 балла – беспокоит умеренно, 3 – беспокоит слабо, 4 – беспокоит умеренно, 5 – беспокоит достаточно сильно, 6 – беспокоит очень сильно, 7 – беспокоит нестерпимо. Опросник позволяет оценить выраженность абдоминальной боли (вопросы 1, 4 и 5), рефлюксного синдрома (вопросы 2 и 3), диспепсического синдрома (вопросы 6, 7, 8 и 9) диарейного (вопросы 11, 12 и 15) и констипационного синдрома (вопросы 10, 13 и 15) [99].

2.2.3 Морфологическое исследование биоптатов

Всем больным была выполнена биопсия из неизмененных участков слизистой оболочки дистального отдела подвздошной кишки и сигмовидной кишки (с целью исключения воспалительных изменений, микроскопического колита, лимфоцитарного колита) с последующей фиксацией биоптатов в 10% растворе формалина.

Морфологическое исследование биоптатов слизистой оболочки постбульбарного отдела двенадцатиперстной кишки и слизистой оболочки сигмовидной кишки проводилось профессором кафедры патологической анатомии ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет) А.С. Тертычным.

По два фрагмента слизистой оболочки из постбульбарного отдела двенадцатиперстной кишки и сигмовидной кишки, полученные при проведении ЭГДС и колоноскопии у 60 пациентов и 20 добровольцев группы контроля, фиксировались в 10% растворе нейтрального формалина с последующей заливкой в парафин. Парафиновые срезы толщиной 3–5 микрон изготавливались на микротоме. Срезы фиксировались на предметные стекла, покрытые адгезивом (полилизин, APES) и инкубировались в термостате при 37⁰С в течение 12 часов. Далее срезы депарафинировались и обезвоживались в батарее из 3-х ксилолов, 2-х

абсолютных спиртов, 2-х 95% спиртов, 80% и 70% спирта и дистиллированной воды.

При морфологическом исследовании срезы были окрашены гематоксилином и эозином.

Для оценки количества эозинофилов в биоптатах слизистой оболочки были случайным образом выбраны 5 участков, полностью покрытых тканью, одинакового размера. Оценка проводилась при высоком увеличении (40x) путем визуального подсчета количества элементов в поле зрения.

Для определения среднего количества эозинофилов в биоптате была установлена следующая формула:

$$n_{cp}=(n_1+n_2+n_3+n_4+n_5)/5$$

Количество лимфоцитов было определено путем визуального подсчета количества элементов на 100 энтероцитов в биоптатах слизистой оболочки постбульбарного отдела двенадцатиперстной кишки и сигмовидной кишки.

2.2.4 Исследование протеома слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки и сигмовидной кишки

Исследование состава и различий протеомных профилей в биоптатах постбульбарного отдела двенадцатиперстной кишки и сигмовидной кишки методом двумерного электрофореза по О'Фарреллу было проведено на базе Института биохимии им. А.Н. Баха ФИЦ биотехнологии РАН при участии ведущего научного сотрудника д.б.н. Ковалева Л.И.

Фрагменты слизистой оболочки постбульбарного отдела двенадцатиперстной кишки и сигмовидной кишки, полученные при проведении ЭГДС и колоноскопии, помещались в 200 мкл лизирующего раствора следующего состава: 9М мочевины (для максимальной солюбилизации белков), 5% меркаптоэтанола (для разрыва S-S связей), 2% тритона X-100 (как не ионного детергента для лучшей экстракции белков) и 2% амфолинов pH 3,5 – 10 (для

формирования градиента рН в колонке полиакриламидного геля). Образец растирался в гомогенизаторе до гомогенного состояния и осветлялся центрифугированием при 800g 5 мин. Надосадочную фракцию, содержащую экстракт солюбилизированных белков, использовали для фракционирования двумерным электрофорезом (ДЭ). Первый этап фракционирования включал разделение белков биоптата по их изоэлектрической точке. Второй этап, колонка полиакриламидного геля (ПААГ) после изоэлектрофокусирования (ИЭФ) выдерживалась в классическом белковом буфере Лэммли (для вытеснения тритона X-100 из связи с белком и замены его на додецилсульфат натрия – SDS, что обеспечивает разделение олигомеров белков на субъединицы в градиенте 5-20% ПААГ.

2.2.5 Иммуногистохимическое исследование

Иммуногистохимическое исследование биоптатов слизистой оболочки постбульбарного отдела двенадцатиперстной кишки и слизистой оболочки сигмовидной кишки для определения количества мукополисахарида-2 (MUC-2) проводилось на базе медико-генетического центра «Геномед».

Идентификация MUC-2 проводилась в фиксированных в формалине и заключенных в парафинбиоптатах слизистой оболочки постбульбарного отдела двенадцатиперстной и сигмовидной кишки.

Срезы депарафинизировали в ксилоле и регидратировали в автоматическом иммуноокрашивателе (BenchMark XT, Ventana® Medical Systems Inc., Тусон, Аризона, США). Предварительную обработку проводили с использованием CC1 (предварительно разбавленный раствор для кондиционирования клеток) в течение 60 мин. Поликлональные антитела мыши против MUC2 человека (Cell Marque; MRQ-18) инкубировали при 37° С в течение 20 мин. Набор для обнаружения DAB Ventana® I-view использовался в соответствии с инструкциями производителя набора. Затем предметные стекла промывали, окрашивали гематоксилином

Майера и монтировали. Включены слайды отрицательного контроля и положительного контроля.

Процент окрашивания был разделен на пять групп:

- 0 – без окрашивания;
- 1 – положительная реакция в <10% эпителиальных клеток;
- 2 – положительная реакция в 10-25% эпителиальных клеток;
- 3 – положительная реакция в 25-50% эпителиальных клеток;
- 4 – положительная реакция в 50% и более эпителиальных клеток.

2.2.6 Иммуноферментный анализ зонулина сыворотки крови

Оценка уровня сывороточного зонулина была проведена методом иммуноферментного анализа с использованием тест-набора ELISA (Immundiagnostik AG, Bensheim, Germany) на базе лаборатории "Экзактэ Лабс" (директор – к.б.н. Казей В.И.) сотрудниками клинико-диагностической лаборатории.

2.2.7 Секвенирование бактериальной 16S рРНК

Секвенирование бактериальной 16S рРНК проводилось на базе лаборатории Института молекулярной биологии имени В. А. Энгельгардта РАН.

Замороженные образцы помещали в контейнер со льдом для разморозки в течение 30 минут. Шпателем отбирали навеску образца массой 10 мкг и помещали в пробирки для гомогенизации. Пробирки с образцами инкубировали в течение 10 минут при 65 °С, затем еще 10 минут при 95 °С. Далее образцы гомогенизировали с помощью автоматического гомогенизатора MagNALyser (Roche) согласно инструкции производителя, после чего центрифугировали при 14000 об/мин в течение 10 минут. Полученный супернатант (400 мкл) использовался для дальнейшего выделения нуклеиновых кислот. Тотальную ДНК

выделяли с использованием реагентов MagNA Pure Compact Nucleic Acid Isolation Kit I (Roche) в системе для автоматического выделения нуклеиновых кислот MagNA Pure LC. Выделенную ДНК хранили при -20С. Для качественной и количественной оценки ДНК использовали NanoDrop 1000 (Thermo Fisher Scientific, США). Подготовка 16S метагеномных библиотек проводилась в соответствии с протоколом 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation (Illumina, США), рекомендованному Illumina для секвенатора MiSeq. Концентрацию полученных библиотек 16S определяли с помощью флуориметра Qubit® 2.0 («Invitrogen», США) и набора QuantiT™ dsDNA High-Sensitivity Assay Kit. Секвенирование проводили на приборе MiSeq (Illumina) в режиме парно-концевых прочтений (2x150 нукл.) с использованием набора MiSeq Reagent Kit v2. Изучение состава бактериального сообщества на уровне родов и семейств производилось с применением прямой таксономической аннотации полученных ампликонов в базе данных RDP (Ribosomal Database Project).

2.2.8 Короткоцепочечные жирные кислоты в кале

Короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК) в образцах кала были определены методом газожидкостной хроматографии. Анализ был проведен согласно стандартной медицинской технологии "Способ определения короткоцепочечных жирных кислот (фракции С2-С6 с изомерами) в различных биологических субстратах методом газожидкостной хроматографии" (Рег. уд: № ФС-2006/030-у).

Исследование проводилось в лаборатории "ИНВИТРО" на газовом хроматографе "Хромос ГХ-1000 с детектором ионизации в пламени".

2.2.9 Статистическая обработка данных

С помощью программы MS Excel проводилось ведение базы данных пациентов.

Статистическая обработка данных была проведена с помощью программы STATISTICA 10 (StatSoft Inc., США). Статистический анализ данных проводился с помощью программ MS Excel и в программе R 3.4.3. Для определения нормальности распределения использовался тест Шапиро-Уилкса. Между двумя группами независимых выборок оценка достоверности различий по параметрическим показателям проводилась с помощью t-критерия Стьюдента. В случае непараметрических критериев определение достоверности различий осуществлялось с помощью точного критерия Фишера и теста χ^2 Пирсона. Для оценки динамики показателей на фоне лечения и групп сравнения использовался непараметрический тест Вилкоксона, критерий Краскела-Уоллеса. При вероятности ошибки $p < 0,05$ значения считались достоверными.

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 Исходные показатели пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД и здоровых лиц группы контроля

3.1.1 Характеристика включенных в исследование пациентов СРК-Д в сочетании с ФД и здоровых лиц группы контроля

В исследование включено 60 пациентов с сочетанием диагнозов «синдром раздраженного кишечника» и «функциональная диспепсия».

В обследованной группе больных 60% составляли женщины (n=36) и 40% составляли мужчины (n=24).

В зависимости от проводимой терапии пациенты были разделены на три группы: группа 1 (тримебутин в сочетании с плацебо), группа 2 (ребамипид и тримебутин) и группа 3 (ребамипид и плацебо).

В группе 1 соотношение мужчин и женщин составило 30% и 70%. Средний возраст больных в группе оказался равным 34,71 [21;57] годам. Средняя продолжительность заболевания - 8,71 [1;27] лет.

В группе 2 соотношение мужчин и женщин в группе оказалось 40% и 60%. Средний возраст пациентов - 33,25 [19;50] года. Средняя продолжительность заболевания - 6,08 [1,5;27] лет.

В группе 3 соотношение мужчин и женщин в группе составило 48% и 52%. Средний возраст больных в группе - 33,48 [23;54] года. Средняя продолжительность заболевания оказалась равной 4,52 [1;15] годам.

В группу контроля было включено 20 человек. В данной группе 75% составляли женщины (n=15) и 25% мужчины (n=5). Средний возраст лиц группы контроля составил 39,12 [19;59] лет.

Различия по возрасту и полу в группах пациентов и в группе контроля, и различия по продолжительности заболевания в группах не достигали статистически значимого уровня (таблица 4).

Таблица 4 - Сравнительная характеристика пациентов и группы контроля по возрасту и продолжительности заболевания

	Группа 1 (n=20)	Группа 2 (n=20)	Группа 3 (n=20)	Контроль (n=20)	P
Возраст, лет	34,71 [21;57]	33,25 [19;50]	33,48 [23;54]	39,12 [19;59]	0,72
Пол, соотношение м/ж, %	30/70	40/60	48/52	25/75	0,1
Продолжительность заболевания, лет	8,71 [1;27]	6,08 [1,5;27]	4,52 [1;15]	-	0,107

3.1.2 Выраженность жалоб и качество жизни пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД

Для оценки наличия и выраженности жалоб всем пациентам было проведено тестирование по Опроснику «7x7» и Опроснику Gastrointestinal Symptom Rating Scale (GSRS). Исходный уровень среднего балла по данным Опросника «7x7» в группе 1 составил $14,06 \pm 5,85$; в группе 2 – $14,32 \pm 5,98$; в группе 3 – $16,22 \pm 6,07$ (рисунок 5); различие между группами оказалось статистически незначимым ($p\text{-value}=0,487$).

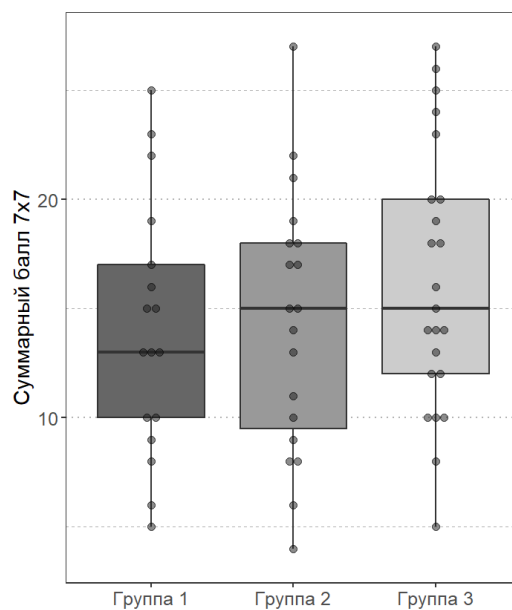


Рисунок 5 - Распределение показателя «сумма баллов» Опросника «7x7» в группах пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД

Исходный средний балл по данным опросника GSRS в группе 1 составил $38 \pm 8,9$; в группе 2 – $38,63 \pm 9,27$; в группе 3 – $40,65 \pm 9,4$ (рисунок 6); различие между группами было статистически незначимым ($p\text{-value}=0,651$).

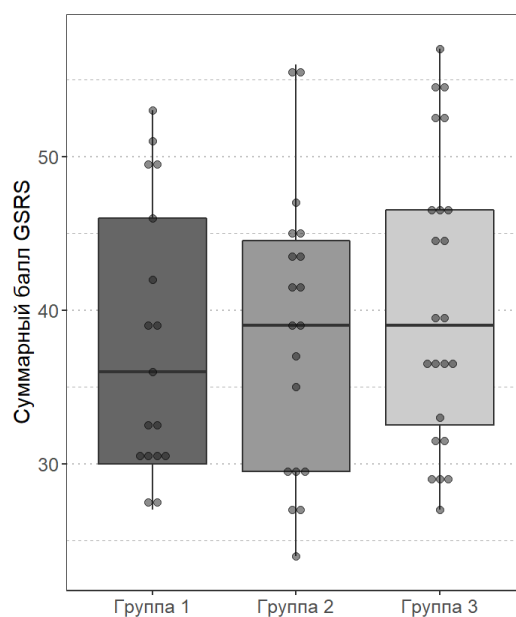


Рисунок 6 - Распределение показателя «средний балл» Опросника GSRS в группах пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД

Для оценки уровня качества жизни всем пациентам перед включением в исследование проводилось тестирование по шкалам Опросника SF-36.

Для показателя «физическое функционирование» исходный уровень в группе 1 составил $87,65 \pm 15,22$ баллов; в группе 2 – $85,25 \pm 15,75$ баллов; в группе 3 – $83,04 \pm 23,58$ балла.

Средний балл показателя «ролевое функционирование, обусловленное физическим состоянием» оказался равным $44,12 \pm 41,95$ баллам в группе 1; $55 \pm 15,16$ баллам в группе 2 и $42,39 \pm 38,02$ баллам в группе 3.

Для показателя «интенсивность боли» в группе 1 исходный уровень составил $48,47 \pm 23,41$ баллов; в группе 2 – $57,2 \pm 25,51$ баллов; в группе 3 – $46,35 \pm 23,23$ баллов.

Исходный уровень показателя «общее состояние здоровья» в группе 1 был равен $56,24 \pm 21,24$ баллам; в группе 2 – $55,9 \pm 16,84$ баллам; в группе 3 – $56,3 \pm 18,71$ баллам.

Объединенный балл по вышеуказанным шкалам, согласно Опроснику SF-36, составляет показатель «физический компонент здоровья». Для данного показателя исходный уровень в группе 1 составил $43,95 \pm 9,81$ баллов; в группе 2 – $45,18 \pm 4,63$ баллов; в группе 3 – $42,79 \pm 9,31$ баллов; различие между группами оказалось статистически незначимым ($p\text{-value}=0,698$).

Средний показатель для параметра «психическое здоровье» составил $51,76 \pm 21,52$ балл в группе 1; $56,4 \pm 18,89$ баллов в группе 2 и $50,96 \pm 20,44$ баллов в группе 3.

Показатель «ролевое функционирование, обусловленное эмоциональным состоянием» оказался равным в группе 1 – $37,25 \pm 38,88$ баллам; в группе 2 – $53,33 \pm 42,44$ баллам, в группе 3 – $42,03 \pm 36,54$ баллам.

Средними значениями параметра «социальное функционирование» для групп являлись $54,41 \pm 21,17$ балла в группе 1; $61,25 \pm 24,3$ балл в группе 2 и $49,46 \pm 23,38$ баллов в группе 3.

Для показателя «жизненная активность» средние значения составили в группе 1 – 47,06±20,54 баллов; в группе 2 – 46,25±18,84 баллов; в группе 3 – 47,61±19,71 баллов.

Показатели этих шкал формируют «психический компонент здоровья», исходный уровень которого в группе 1 составил 35,18±10,46 баллов, в группе 2 – 38,76±12,58 баллов, в группе 3 – 35,67±11,13 баллов; различие между группами было статистически незначимым (p-value=0,680).

Различие между группами пациентов по остальным показателям Опросника SF-36 также оказалось статистически незначимым.

Описанные данные представлены в таблице 5.

Таблица 5 - Описательная статистика шкал Опросника SF-36 в группах пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД

Показатель	Группа	Среднее	Медиана	Мин	Макс	SD	p-value
Физический компонент здоровья	1	43,95	45,06	28,14	63,83	9,81	0,698
	2	45,18	46,78	27,4	56,9	8,62	
	3	42,79	42,89	22,83	57,25	9,31	
Физическое функционирование	1	87,65	95	55	100	15,22	0,42
	2	85,25	90	50	100	13,42	
	3	83,04	90	20	100	19,58	
Ролевое функционирование, обусловленное физическим состоянием	1	44,12	50	0	100	41,95	0,573
	2	55	62,5	0	100	40,23	
	3	42,39	25	0	100	38,02	
Интенсивность боли	1	48,47	41	0	100	23,41	0,282
	2	57,2	51	22	100	25,51	
	3	46,35	41	22	100	23,23	
Общее состояние здоровья	1	56,24	55	25	87	21,24	0,962

Продолжение таблицы 5

Показатель	Группа	Среднее	Медиана	Мин	Макс	SD	p-value
Психический компонент здоровья	1	35,18	36,36	15,73	52,53	10,46	0,680
	2	38,76	37,69	19,95	62,51	12,58	
	3	35,67	34,51	17,64	58,61	11,13	
Психическое здоровье	1	51,76	60	8	80	21,52	0,759
	2	56,4	58	24	88	18,89	
	3	50,96	56	16	88	20,44	
Ролевое функционирование, обусловленное эмоциональным состоянием	1	37,25	33,33	0	100	38,88	0,46
	2	53,33	66,67	0	100	42,44	
	3	42,03	33,33	0	100	36,54	
Социальное функционирование	1	54,41	50	12,5	100	21,17	0,288
	2	61,25	62,5	25	100	24,3	
	3	49,46	50	12,5	100	23,38	
Жизненная активность	1	47,06	50	5	80	20,54	0,952

3.1.3 Морфологическая картина слизистой оболочки

двенадцатиперстной кишки и сигмовидной кишки пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД и здоровых лиц группы контроля

Для определения среднего количества эозинофилов было подсчитано количество клеточных элементов в пяти случайных полях зрения в биоптатах слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки и сигмовидной кишки.

В слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки у пациентов с СРК-Д и ФД количество эозинофилов составило $7,24 \pm 7,31$; в группе 1 - $6,36 \pm 6,17$, группе 2 - $9,47 \pm 10,65$, группе 3 - $5,97 \pm 3,72$ ($p=0,521$); в группе контроля - $3,1 \pm 2,32$.

При определении среднего количества эозинофилов в биоптате слизистой оболочки сигмовидной кишки у больных СРК-Д и ФД количество составило $5,13 \pm 5,63$; в группе 1 - $3,78 \pm 2,79$; группе 2 - $4,39 \pm 3,73$, группе 3 - $6,66 \pm 7,83$ (различие между группами $p=0,657$), а в группе контроля - $2,31 \pm 1,84$ (таблица 6).

Таблица 6 - Количество эозинофилов в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки и сигмовидной кишки у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД и у здоровых лиц группы контроля

Показатель	Группа	Сред- нее	Меди- ана	Мин	Макс	SD	p-value
Эозинофилы в слизистой оболочке двенадцати- перстной кишки	Общая выборка СРК- Д+ФД	7,24	5,40	0,60	43,80	7,31	-
	1	6,36	4,7	1,6	22,3	6,17	0,521
	2	9,47	5,4	2,6	43,8	10,65	
	3	5,97	6,2	0,6	11,6	3,72	
	Контроль	3,1	2,4	0,8	9,8	2,32	-
Эозинофилы в слизистой оболочке сигмовидной кишки	Общая выборка СРК- Д+ФД	5,13	3,40	0	33,60	5,63	-
	1	3,78	3,2	0,4	11	2,79	0,657
	2	4,39	3	0	11,2	3,73	
	3	6,66	4,2	1	33,6	7,83	
	Контроль	2,31	1,6	0,6	6,4	1,84	-

При попарном сравнении с группой контроля оказалось, что у пациентов СРК в сочетании с ФД количество эозинофилов в биоптатах двенадцатиперстной и сигмовидной кишки было достоверно большим, чем у лиц контрольной группы (таблица 7).

Таблица 7 - Попарное сравнение различий количества эозинофилов у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД в группах с показателями группы контроля

Локализация	Группы сравнения		p-value	p-value, с поправкой Бонферрони
	Группа А	Группа Б		
Двенадцатиперстная кишка	Контроль	Общая выборка СРК-Д+ФД	0,0035*	
		Группа 1	0,08	0,240
		Группа 2	0,0025*	0,0076
		Группа 3	0,023*	0,069
Сигмовидная кишка	Контроль	Общая выборка СРК-Д+ФД	0,0142*	
		Группа 1	0,110	0,329
		Группа 2	0,093	0,279
		Группа 3	0,01*	0,031

**различия достигли статистически значимого уровня*

Среднее количество лимфоцитов в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки и сигмовидной кишки было подсчитано путем определения количества клеток в поле зрения на 100 энтероцитов. Все биоптаты были разделены на 5 групп в зависимости от количества лимфоцитов: 0-5 лимфоцитов на 100 энтероцитов в поле зрения, 5-10 лимфоцитов на 100 энтероцитов, 10-15 лимфоцитов на 100 энтероцитов, 15-25 лимфоцитов на 100 энтероцитов и более 25 лимфоцитов на 100 энтероцитов.

Было определено, что у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД в двенадцатиперстной кишке наиболее часто отмечалось содержание 5-10 и 10-15 лимфоцитов на 100 энтероцитов в поле зрения, в то время как в группе контроля преобладало содержание 0-5 лимфоцитов на 100 энтероцитов.

В сигмовидной кишке у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД чаще определялось содержание лимфоцитов в количестве 10-15 и 15-25 на 100 энтероцитов в поле зрения.

В группе контроля в биоптатах сигмовидной кишки у большей части здоровых лиц отмечалось содержание в количестве 0-5 лимфоцитов на 100 энтероцитов в поле зрения (рисунок 7).

Анализ попарного сравнения с показателями группы контроля продемонстрировал статистически достоверную разницу количества лимфоцитов как в двенадцатиперстной кишке (для общей выборки СРК-Д+ФД – $p=0,00012$, в группе 1 - $p=0,036$, группе 2 - $p=0,0004$, группе 3 – $p=0,016$), так и в сигмовидной кишке ($p=0,00064$ для общей выборки СРК-Д и ФД и $p=0,024$ для всех трех групп больных) у пациентов с СРК-Д и ФД в сравнении со здоровыми лицами группы контроля.

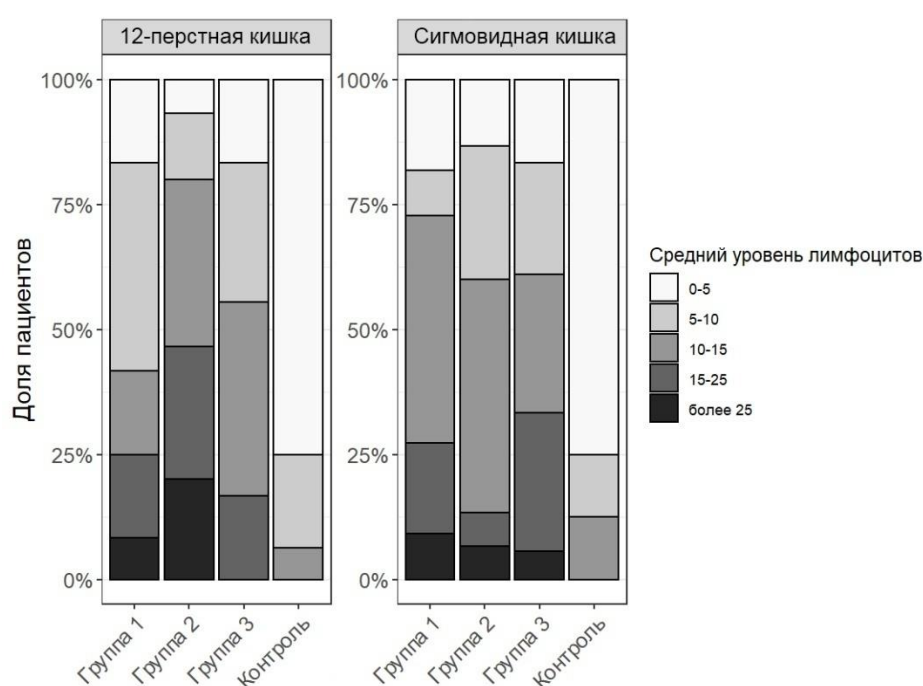


Рисунок 7 - Количество лимфоцитов в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки и сигмовидной кишки у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД и у здоровых лиц группы контроля

Следовательно, у больных СРК-Д в сочетании с ФД отмечалось более выраженная лимфоцитарная инфильтрация (рисунок 8) в сравнении со здоровыми лицами группы контроля.

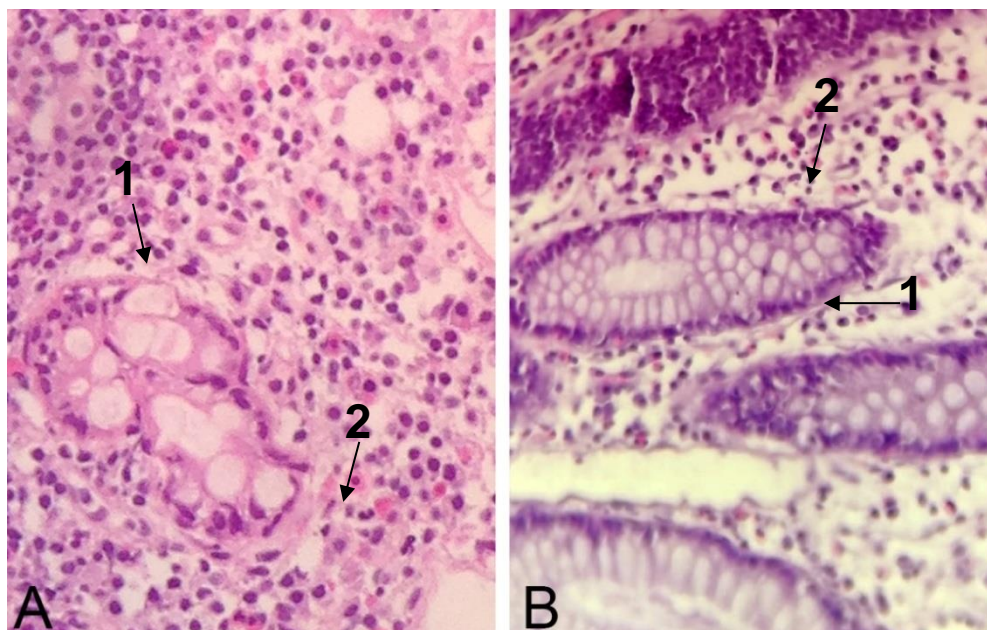


Рисунок 8 - Биоптаты слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки пациента с СРК-Д в сочетании с ФД и здорового лица группы контроля

Увеличение x400

Окраска гематоксилин-эозином. В образце пациента (А) отмечается лимфоцитарная инфильтрация (1) и увеличенное количество эозинофилов (2) в сравнении с образцом группы контроля (В).

3.1.4 Протеомная картина слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки и сигмовидной кишки пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД и здоровых лиц группы контроля

В результате проведения идентификации белков в биоптатах слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки и сигмовидной кишки были оценены протеомные профили с детекцией более 500 фракций в диапазоне молекулярных масс 8 – 500 кДа и изоэлектрической точки (pI) 4,5-10,0 (рисунок 9). Более 100 белков было идентифицировано времяпролетной и тандемной масс-спектрометрией. Для оценки количественного содержания белков были выстроены двумерные электрофореграммы, полученные с помощью сканирования на сканере Epson Expression 1680, и обработанные с помощью пакета программ ImageMaster 2DPlatinum версия 7 («GEHealthcare», Швейцария).

Для расчета количественного соотношения изоформ белка, связывающего жирные кислоты (fatty-acid-binding proteins, FABP), в биоптатах слизистой оболочки исследованных отделов была проведена компьютерная денситометрия. При определении количества белков использовалось не менее трех электрофореграмм с равным нанесением. Разброс значений оптической плотности составлял не более $\pm 1,5\%$. Процентное содержание изоформ было нормировано по процентному содержанию фракции бета-гемоглобина.

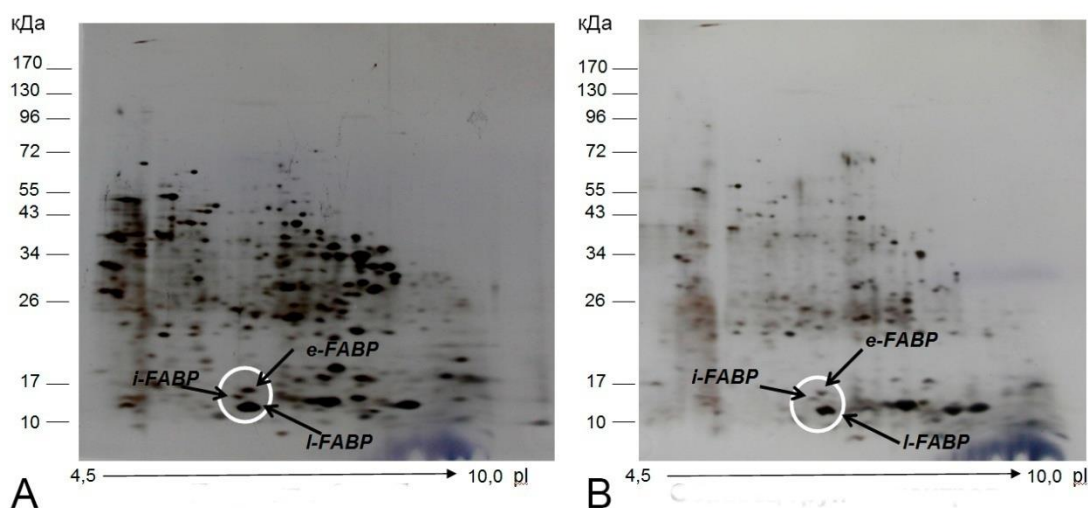


Рисунок 9 - Фрагмент двумерной электрофореграммы с участком, включающим FABP пациента с СРК в сочетании с ФД и здорового лица группы контроля

Образец А – биоптат слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки пациента с СРК-Д+ФД, образец В – биоптат слизистой оболочки сигмовидной кишки здорового лица группы контроля.

В слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки при определении количества печеночной изоформы белка, связывающего жирные кислоты (FABP-1 или i-FABP), в общей выборке СРК-Д и ФД уровень составил $45,95 \pm 24,36\%$, в группе 1 - $57,50 \pm 25,58\%$, в группе 2 – $41,15 \pm 28,8\%$, в группе 3 – $35,55 \pm 14,69\%$; а в группе контроля – $23,26 \pm 12,11\%$. Средний уровень кишечной изоформы белка, связывающего жирные кислоты (FABP-2 или e-FABP), в общей выборке больных составил $6,68 \pm 4,04\%$, в группе 1 - $9,39 \pm 3,73\%$; в группе 2 – $7,19 \pm 3,9\%$; в группе 3 – $3,8 \pm 1,98\%$; а в группе контроля – $4,06 \pm 3,45\%$. Средний уровень эпидермальной

изоформы белка, связывающего жирные кислоты (FABP-5 или e-FABP), в общей выборке СРК-Д и ФД составил $15,80 \pm 8,33\%$, в группе 1 - $19,4 \pm 8,64\%$; в группе 2 - $12,7 \pm 7,7\%$; в группе 3 - $16,96 \pm 8,11\%$; а в группе контроля - $13,14 \pm 6,58\%$.

Не было получено статистически значимой разницы количества различных изоформ FABP в биоптатах слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки между группами пациентов (таблица 8).

Таблица 8 - Уровень FABP в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки у больных СРК-Д в сочетании с ФД и у здоровых лиц группы контроля

Показатель	Группа	Среднее	Медиана	Мин	Макс	SD	p-value
FABP-1	Общая выборка СРК-Д+ФД	45,95	41,90	3,80	98	24,36	-
	1	57,50	50,25	23,2	98,0	25,58	0,241
	2	45,57	41,15	3,8	91,9	27,8	
	3	37,23	35,55	20,4	62,7	14,69	
	Контроль	23,26	20,85	8,1	45,7	12,11	-
FABP-2	Общая выборка СРК-Д+ФД	6,68	6,15	1,20	16,50	4,04	-
	1	9,39	9,3	3,2	16,5	3,73	0,014
	2	7,19	7,9	2	15,8	3,9	
	3	3,8	3,7	1,2	8	1,98	
	Контроль	4,06	2,55	0,2	12,3	3,45	-
FABP-5	Общая выборка СРК-Д+ФД	15,80	13,70	1,90	35,40	8,33	-
	1	19,4	16,45	8,9	35,4	8,64	0,184
	2	12,7	12,1	1,9	25,8	7,77	
	3	16,96	12,85	8,5	28,7	8,11	
	Контроль	13,14	12,2	2,2	24,5	6,58	-

В слизистой оболочке сигмовидной кишки при определении количества печеночной изоформы белка, связывающего жирные кислоты (FABP-1 или I-FABP), в общей выборке СРК-Д и ФД уровень составил $32,8 \pm 31\%$, в группе 1 - $23,70 \pm 13,42\%$, в группе 2 - $49,08 \pm 40,51\%$, в группе 3 - $19,69 \pm 15,68\%$; в группе

контроля – $6,88 \pm 5,88\%$. Средний уровень эпидермальной изоформы белка, связывающего жирные кислоты (FABP-5 или e-FABP), в общей выборке СРК-Д и ФД составил $17,1 \pm 15,0\%$, в группе 1 – $16,99 \pm 16,47\%$, в группе 2 – $16,85 \pm 17,86\%$, в группе 3 – $17,52 \pm 11,57\%$, в группе контроля – $7,98 \pm 7,35\%$. Кишечная изоформа белка, связывающего жирные кислоты, в слизистой оболочке сигмовидной кишки не была выявлена.

Между группами пациентов статистически значимого различия изучаемых показателей получено не было ($p=0,10$ для FABP-1 и $p=0,722$ для FABP-5) (таблица 9).

Таблица 9 - Уровень FABP в слизистой оболочке сигмовидной кишки при СРК-Д в сочетании с ФД и у здоровых лиц группы контроля

Показатель	Группа	Среднее	Медиана	Мин	Макс	SD	p-value
FABP-1	Общая выборка СРК-Д+ФД	32,82	23,30	2,40	127,70	30,95	-
	1	23,70	23,3	4,8	42,7	13,42	0,10
	2	49,08	42,8	2,4	127,7	40,51	
	3	19,69	14,45	4,1	59	15,68	
	Контроль	6,88	3,75	1,1	21	5,88	-
FABP-5	Общая выборка СРК-Д+ФД	17,11	11,80	1,50	52,30	15,05	-
	1	16,99	14,3	3,5	52,3	16,47	0,722
	2	16,85	8,05	1,5	52,3	17,86	
	3	17,52	16,4	4,6	40,4	11,57	
	Контроль	7,98	4,6	1,1	22,6	7,35	-

При попарном сравнении с группой контроля было установлено, что исходные показатели содержания изоформ FABP во всех трех группах выше показателей группы контроля и статистически достоверно отличаются от них (таблица 10).

Таблица 10 - Парное сравнение различий показателей FABP у пациентов в группах с показателями здоровых лиц группы контроля

Локализация	Показатель	Группы сравнения		p-value	p-value, с поправкой Бонферрони
		Группа А	Группа Б		
Двенадцатиперстная кишка	FABP-1	Контроль	Общая выборка СРК-Д+ФД	0,0008*	
			Группа 1	0,0009*	0,0026
			Группа 2	0,0119*	0,036
			Группа 3	0,0625	0,184
	FABP-2	Контроль	Общая выборка СРК-Д+ФД	0,0161*	
			Группа 1	0,0018*	0,005
			Группа 2	0,0177*	0,053
			Группа 3	0,858	1
	FABP-5	Контроль	Общая выборка СРК-Д+ФД	0,369	
			Группа 1	0,09	0,273
			Группа 2	0,832	1
			Группа 3	0,339	1
Сигмовидная кишка	FABP-1	Контроль	Общая выборка СРК-Д+ФД	<0,0001*	
			Группа 1	0,00614*	0,018
			Группа 2	0,00002*	0,00007
			Группа 3	0,0141*	0,042

Продолжение таблицы 10

Локализация	Показатель	Группы сравнения		p-value	p-value, с поправкой Бонферрони
		Группа А	Группа Б		
Сигмовидная кишка	ФАВР-5	Контроль	Общая выборка СРК-Д+ФД	0,0195*	
			Группа 1	0,0985	0,296
			Группа 2	0,149	0,448
			Группа 3	0,0203*	0,061

*различия достигли статистически значимого уровня

3.1.5 Уровень гликопротеина MUC-2 в слизистой оболочке двенадцатиперстной и сигмовидной кишки у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД и здоровых лиц группы контроля

Для оценки состояния наружного слоя слизисто-эпителиального барьера тонкой и толстой кишки было проведено исследование содержания основного гликопротеина муцина-2 (MUC-2) в слизистой оболочке методом иммуногистохимического окрашивания.

Уровень MUC-2 в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки и сигмовидной кишки был оценен путем разделения всех образцов на 5 групп: без окрашивания, с фокальным окрашиванием 1-10% бокаловидных клеток, с фокальным окрашиванием 11-25% бокаловидных клеток, с фокальным окрашиванием 26-50% бокаловидных клеток и с фокальным окрашиванием более 50% бокаловидных клеток.

Было установлено, что у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД в двенадцатиперстной кишке чаще всего был зафиксирован уровень MUC-2, соответствующий положительной реакции в окрашивании 26-50% клеток. У здоровых лиц группы контроля отмечалось либо отсутствие окрашивания, либо окрашивание 11-25% клеток (рисунок 7). Таким образом, экспрессия MUC-2 у

больных оказалась достоверно выше в сравнении со здоровыми лицами ($p=0,0022$).

В слизистой оболочке сигмовидной кишки отмечались несколько более высокие уровни MUC-2. Так, среди больных СРК-Д и ФД при оценке иммуногистохимической реакции преобладало положительное окрашивание 26-50% и более 50% клеток, в то время как для группы контроля наиболее частым результатом было окрашивание 1-10% и 11-25% клеток (рисунок 10). Различие в экспрессии MUC-2 между пациентами группы СРК-Д и ФД и здоровыми лицами оказалось статистически недостоверным ($p=0,097$).

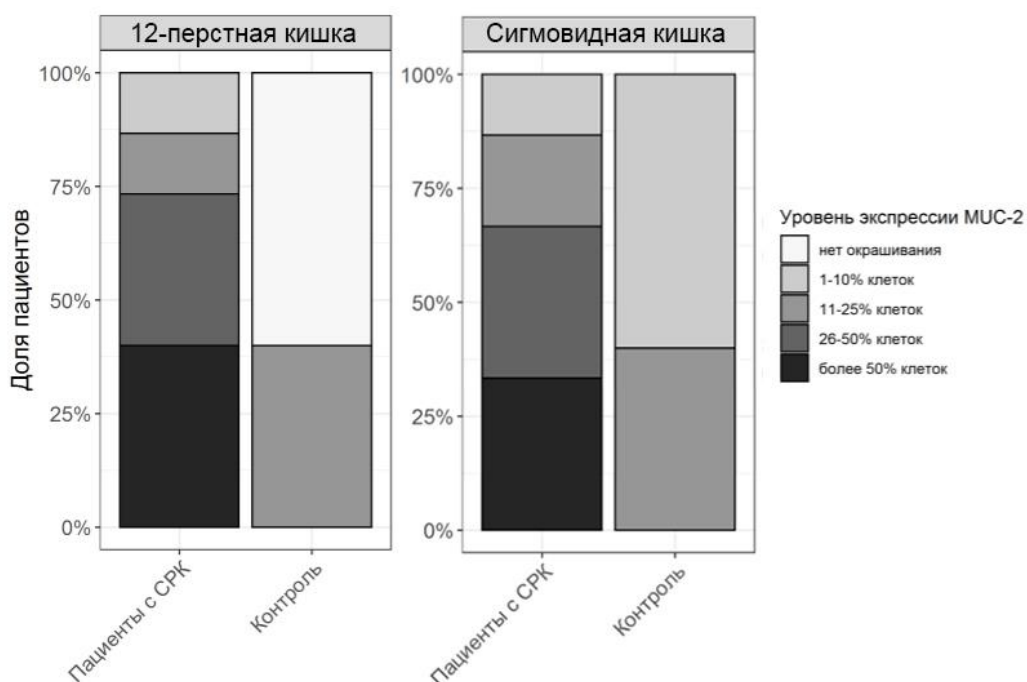


Рисунок 10 - Содержание гликопротеина MUC-2 в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки и сигмовидной кишки у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД и у здоровых лиц группы контроля

Таким образом, у больных СРК-Д в сочетании с ФД отмечалось более высокое содержание MUC-2 в слизистой оболочке тонкой кишки в сравнении со здоровыми лицами группы контроля (рисунок 11).

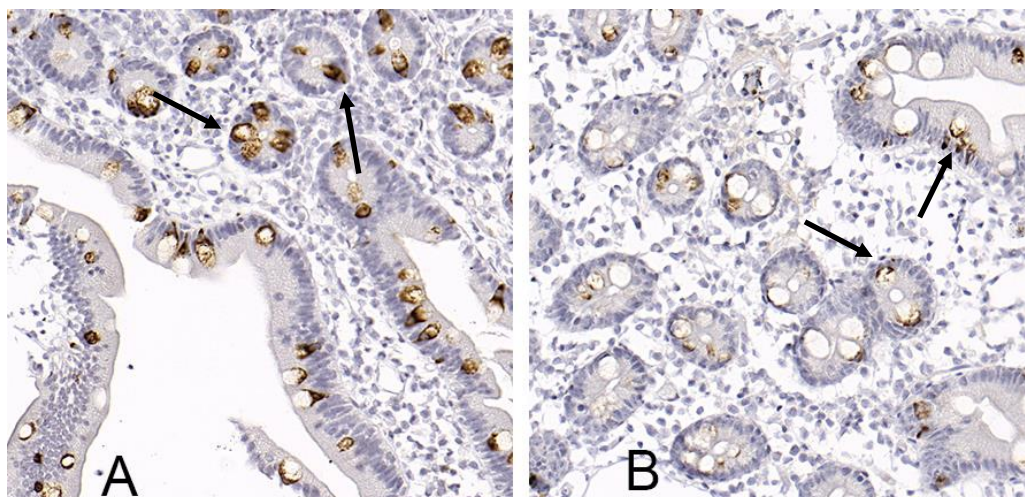


Рисунок 11 - Иммуногистохимическое исследование слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки пациента с СРК-Д в сочетании с ФД и здорового лица группы контроля

Увеличение x400.

В образце пациента (А) отмечается более выраженное фокальное окрашивание в бокаловидных клетках (обозначение стрелкой) в сравнении с образцом группы контроля (В).

3.1.6 Уровень сывороточного зонулина у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД и у здоровых лиц группы контроля

Средний уровень сывороточного зонулина составил в общей выборке СРК-Д и ФД $20,9 \pm 7,57$ нг/мл, в группе 1 - $16,7 \pm 10,09$ нг/мл; в группе 2- $21,85 \pm 3,78$ нг/мл; в группе 3 - $24,91 \pm 6,47$ нг/мл; в группе контроля - $22,4 \pm 7,48$ нг/мл. У больных СРК-Д в сочетании с ФД исходно не определялось статистически значимой разницы уровня сывороточного зонулина между группами ($p=0,146$) (таблица 11).

Таблица 11 - Уровень сывороточного зонулина при СРК-Д в сочетании с ФД и у здоровых лиц группы контроля

Группа	Среднее	Медиана	Мин	Макс	SD	p-value
Общая выборка СРК-Д+ФД	20,87	22,14	0,36	35,42	7,57	-
1	16,7	17,28	0,36	35,42	10,09	0,146
2	21,85	22,2	15,3	27,46	3,78	
3	24,91	23,59	16,34	34,7	6,47	
Контроль	22,4	20,21	12,06	36,28	7,48	-

При попарном сравнении с группой контроля было установлено, что исходные показатели содержания сывороточного зонулина во всех трех группах достоверно не отличаются от таковых у здоровых лиц группы контроля, что отображено в таблице 12.

Таблица 12 - Попарное сравнение различий уровня зонулина сыворотки крови у пациентов в группах с показателями группы контроля

Группы сравнения		p-value	p-value, с поправкой Бонферрони
Группа А	Группа Б		
	Общая выборка СРК-Д+ФД	0,815	
Контроль	Группа 1	0,131	0,394
	Группа 2	0,935	1
	Группа 3	0,296	0,887

3.1.7 Состояние кишечного микробиома пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД и здоровых лиц (по данным молекулярно-генетического исследования секвенирование 16S рРНК)

В исследовании оценивался состав кишечной микробиоты путем секвенирования 16S рибосомальной РНК (рРНК) образцов кала пациентов.

Большинство выявленных микроорганизмов относилось к домену *Bacteria*.

В составе кишечной микробиоты пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД преобладающими типами являлись *Firmicutes*, *Bacteroides* и *Proteobacteria*, в

значительно меньшем количестве были представлены *Actinobacteria* и *Verrucomicrobiota*.

У здоровых добровольцев наиболее распространенными типами микроорганизмов в составе кишечной микробиоты также оказались *Firmicutes*, *Bacteroides* и *Proteobacteria*. Бактерии типа *Actinobacteria* были представлены в количестве, сопоставимом с количеством бактерий данного типа у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД, однако отмечалось несколько меньшее содержание бактерий типа *Verrucomicrobiota* (рисунок 12).

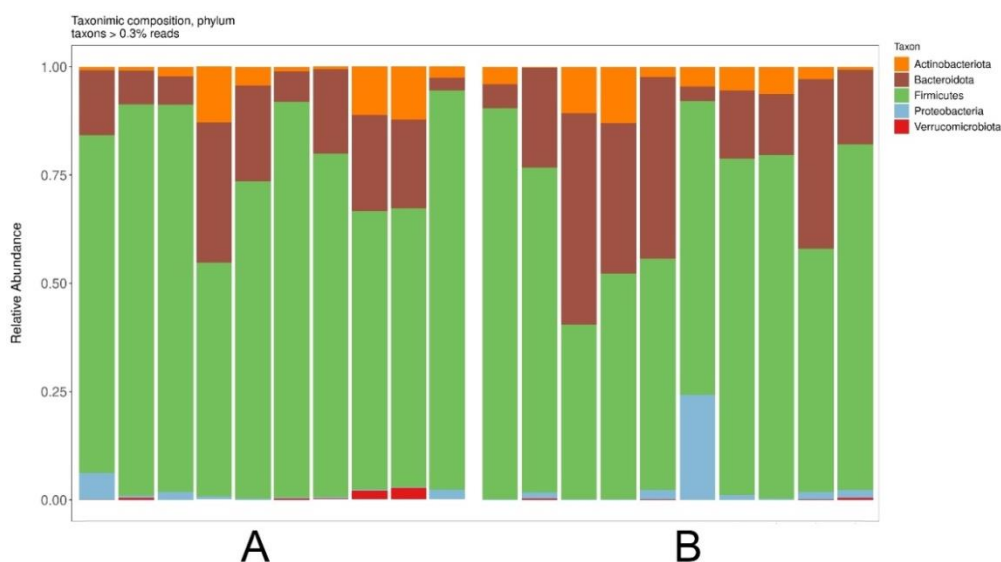


Рисунок 12 - Относительное содержание типов бактерий в кале у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД и у здоровых добровольцев (на примере 10 случайных образцов пациентов и 10 случайных образцов здоровых лиц группы контроля)

Образец А – пациенты с СРК-Д в сочетании с ФД, образец В – здоровые лица группы контроля.

При сравнении относительного содержания основных типов бактерий у больных с СРК-Д в сочетании с ФД и у здоровых лиц группы контроля было выявлено статистически значимое снижение количества бактерий типа *Bacteroides* ($p=0,01$) и увеличение содержания бактерий типов *Firmicutes* ($p=0,01$) и *Euryarchaeota* у пациентов ($p=0,009$) (рисунок 13).

Таксон	LogFC	Контроль	СРК-Д + ФД	t-test p- value	Mann-Wh. p-value
<i>Verrucomicrobiota</i>	2,09	138,8	628,7	0,009	0,2
<i>Bacteroidota</i>	-0,98	27140,8	13721,4	0,02	0,01
<i>Euryarchaeota</i>	2,53	0,0	57,3	0,006	0,009
<i>Firmicutes</i>	0,24	70600,2	83560,2	0,02	0,01
<i>Synergistota</i>	0,16	0,0	1,4	0,004	0,07
<i>Desulfobacterota</i>	0,43	137,6	98,8	0,3	0,1
<i>Actinobacteriota</i>	0,22	4357,4	3733,0	0,6	0,3
<i>Cyanobacteria</i>	0,70	11,8	26,6	0,1	0,07
<i>Proteobacteria</i>	0,18	2739,5	2410,6	0,9	0,5
<i>Fusobacteriota</i>	0,74	0,2	8,4	0,3	0,5
<i>Patescibacteria</i>	0,03	19,1	18,4	0,9	0,4
<i>Campilobacterota</i>	0,03	0,3	0,0	0,3	0,09
<i>Chloroflexi</i>	0,02	0,2	0,0	0,3	0,09
<i>Bdellovibrionota</i>	0,01	0,0	0,1	0,3	0,6
<i>Spirochaetota</i>	0,00	0,0	0,0		

Рисунок 13 - Сравнительная оценка содержания основных типов бактерий в образцах кала у больных с СРК-Д в сочетании с ФД и у здоровых лиц группы контроля

Log₂FC – двоичный логарифм отношения средней доли бактерий данного типа у больных к здоровым лицам. Положительные значения соответствуют таксонам, представленность которых возрастает в группе больных (по сравнению со здоровыми лицами); отрицательные значения – таксонам, представленность которых уменьшается (по сравнению со здоровыми лицами).

В колонках 3 и 4 градацией «синий—белый—красный» показана относительная доля бактерий данного типа. Синий – доля ниже среднего значения по всем образцам, белый – равна среднему, красный – выше среднего. В колонках 5 и 6 показано усреднённое количество бактерий в условных единицах (нормированное число ридов) по всем образцам данной группы.

Корр. Спирмена – коэффициент корреляции Спирмена между относительным количеством бактерий данного типа/семейства и наличием заболевания. Представлены все типы бактерий, найденные в образцах кала.

На уровне класса и отдела у больных СРК-Д в сочетании с ФД отмечалось статистически значимое уменьшение содержания бактерий класса *Bacteroidia* (тип *Bacteroidetes*) ($p=0,01$) и статистически значимое увеличение содержания количества бактерий классов *Bacilli* (тип *Firmicutes*) ($p=0,009$), *Methanobacteria* (тип *Euryarchaeota* домена *Archaea*) ($p=0,009$) и *Alphaproteobacteria* (тип *Proteobacteria*) ($p=0,004$). Кроме того, отмечалось статистически значимое увеличение содержания бактерий отдела *Cyanobacteria* ($p=0,005$) (рисунок 14).

Таксон	LogFC	Контроль	СРК-Д + ФД	t-test p-value	Mann-Wh. p-value
<i>Bacilli</i>	2,11	3373,5	14653,1	4,31438E-06	0,009
<i>Verrucomicrobiae</i>	2,09	138,6	628,7	0,009	0,2
<i>Bacteroidia</i>	-0,98	27140,7	13719,2	0,02	0,01
<i>Methanobacteria</i>	2,53	0,0	57,3	0,006	0,009
<i>Alphaproteobacte</i>	1,08	27,4	71,2	0,06	0,04
<i>Cyanobacteriia</i>	1,04	2,5	17,8	0,001	0,05
<i>Synergistia</i>	0,16	0,0	1,4	0,004	0,07
<i>Desulfovibrionia</i>	-0,43	137,6	98,8	0,3	0,1
<i>Coriobacteriia</i>	-0,82	1040,1	583,6	0,3	0,9
<i>Negativicutes</i>	-0,31	2683,9	2157,1	0,7	0,7
<i>Gammaaproteobac</i>	-0,21	2712,1	2339,4	0,8	0,5
<i>Actinobacteria</i>	-0,08	3317,0	3147,1	0,9	0,2
<i>Clostridia</i>	0,05	64506,2	66610,1	0,7	0,5
<i>Fusobacteriia</i>	0,74	0,2	8,4	0,3	0,5
<i>Saccharimonadia</i>	-0,03	19,1	18,4	0,9	0,4
<i>Thermoleophilia</i>	0,07	0,0	0,6	0,3	0,4
<i>Campylobacteria</i>	-0,03	0,3	0,0	0,3	0,09
<i>Anaerolineae</i>	-0,02	0,2	0,0	0,3	0,09
<i>Lentisphaeria</i>	-0,02	0,2	0,1	0,5	0,4
<i>Vampirivibrionia</i>	-0,03	9,3	8,8	1,0	0,8
<i>Oligoflexia</i>	0,01	0,0	0,1	0,3	0,6
<i>Acidimicrobiia</i>	0,01	0,0	0,1	0,3	0,6
<i>Brevinematia</i>	0,00	0,0	0,0		

Рисунок 14 - Сравнительная оценка содержания основных классов и отделов бактерий в образцах кала у больных с СРК-Д в сочетании с ФД и у здоровых лиц группы контроля

На уровне порядка и семейства у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД также отмечались статистически значимые отличия в сравнении со здоровыми лицами группы контроля (рисунок 15). Наиболее значимое повышение у больных было установлено для порядков *Clostridia UCG-014* (тип *Firmicutes*) ($p=0,00004$), *Erysipelotrichales* (тип *Firmicutes*) ($p=0,00002$), *Christensenellales* (тип *Firmicutes*) ($p=0,02$), *Pseudomonadales* (тип *Proteobacteria*) ($p=0,0004$), *Xanthomonadales* (тип *Proteobacteria*) ($p=0,00005$), *Burkholderiales* (тип *Proteobacteria*) ($p=0,009$), *Rhizobiales* (тип *Proteobacteria*) ($p=0,006$) и *Lachnospirales* (тип *Firmicutes*) ($p=0,002$). Также у больных было установлено уменьшение количества бактерий порядка *Bacteroidales* (тип *Bacteroidetes*) ($p=0,02$).

Таксон	LogFC	Контроль	СРК-Д + ФД	t-test p- value	Mann-Wh. p-value
<i>Clostridia UCG-014</i>	5,75	21,1	1770,0	0,0005	0,00004
<i>Erysipelotrichales</i>	2,70	1527,8	9965,0	0,00001	0,00002
<i>RF39</i>	3,64	0,0	137,9	0,00001	0,0008
<i>Pasteurellales</i>	4,02	7,6	305,2	0,002	0,10
<i>Christensenellales</i>	1,45	257,5	725,8	0,007	0,02
<i>Verrucomicrobiales</i>	2,12	135,6	627,8	0,009	0,2
<i>Bacteroidales</i>	-0,99	27113,7	13692,2	0,02	0,01
<i>Pseudomonadales</i>	1,73	35,3	144,8	0,02	0,0004
<i>Xanthomonadales</i>	1,60	17,4	77,1	0,003	0,00005
<i>Methanobacteriales</i>	2,53	0,0	57,3	0,006	0,009
<i>Lactobacillales</i>	1,29	1824,3	4489,2	0,009	0,8
<i>Burkholderiales</i>	-1,10	227,6	99,9	0,06	0,009
<i>Clostridiales</i>	-1,29	240,1	91,3	0,06	0,06
<i>Micrococcales</i>	0,82	5,6	19,2	0,00009	0,03
<i>Rhizobiales</i>	1,01	9,2	30,7	0,05	0,006
<i>Chloroplast</i>	1,04	2,5	17,8	0,001	0,05
<i>Lachnospirales</i>	0,33	25619,3	32154,7	0,1	0,002
<i>Sphingobacteriales</i>	0,58	3,4	10,9	0,009	0,04
<i>Peptostreptococcales-Tissierellales</i>	-1,05	1170,1	558,5	0,2	0,06
<i>Synergistales</i>	0,16	0,0	1,4	0,004	0,07
<i>Monoglobales</i>	0,77	718,9	1234,2	0,1	0,5
<i>Izemoplasmatales</i>	1,57	0,0	23,7	0,09	0,2
<i>Staphylococcales</i>	0,41	21,4	32,3	0,09	0,2
<i>Oscillospirales</i>	-0,28	35919,2	29486,2	0,2	0,2
<i>Desulfovibrionales</i>	-0,43	137,6	98,8	0,3	0,1
<i>Rhodospirillales</i>	0,67	2,7	11,4	0,06	0,07
<i>Enterobacteriales</i>	-0,51	2421,5	1699,1	0,7	0,5
<i>Acidaminococcales</i>	0,52	273,9	398,2	0,4	0,6
<i>Clostridia vadinBB60 group</i>	0,99	0,8	13,4	0,08	0,2
<i>Coriobacteriales</i>	-0,82	1040,1	583,6	0,3	0,9
<i>Vibrionales</i>	0,23	0,0	2,0	0,06	0,1
<i>Actinomycetales</i>	0,32	34,6	46,3	0,5	0,2
<i>Bifidobacteriales</i>	-0,05	3154,8	3049,3	0,9	0,2
<i>Veillonellales-Selenomonadales</i>	-0,45	2410,1	1756,4	0,6	1,0
<i>DTU014</i>	0,12	0,0	1,0	0,08	0,2

Рисунок 15 - Сравнительная оценка содержания основных порядков бактерий в образцах кала у больных с СРК-Д в сочетании с ФД и у здоровых лиц группы контроля

У пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД в сравнении со здоровыми лицами отмечалось увеличение содержания в кале бактерий семейств *Prevotellaceae* (тип *Bacteroidetes*) ($p=0,004$), *Erysipelotrichaceae* (тип *Firmicutes*) ($p=0,002$), *Erysipelatoclostridiaceae* (тип *Firmicutes*) ($p=0,005$), *Pseudomonadaceae* (тип *Proteobacteria*) ($p=0,0004$), *Xanthomonadaceae* (тип *Proteobacteria*) ($p=0,00005$), *Christensenellaceae* (тип *Firmicutes*) ($p=0,02$), *Methanobacteriaceae* (тип *Euryarchaeota* домена *Archaea*) ($p=0,009$), *Streptococcaceae* (тип *Firmicutes*) ($p=0,005$), *Rhizobiaceae* (тип *Proteobacteria*) ($p=0,004$) и уменьшение содержания семейств *Tannerellaceae* (тип *Bacteroidetes*) ($p=0,003$), *Barnesiellaceae* (тип *Bacteroidetes*) ($p=0,03$), *Rikenellaceae* (тип *Bacteroidetes*) ($p=0,007$), *Peptostreptococcaceae* (тип *Firmicutes*) ($p=0,006$), *Burkholderiaceae* (тип *Proteobacteria*) ($p=0,00003$), *Eubacteriaceae* (тип *Firmicutes*) ($p=0,01$) и *Bacteroidaceae* (тип *Bacteroidetes*) ($p=0,004$) (рисунок 16).

Таксон	LogFC	Контроль	СРК-Д + ФД	t-test p-value	Mann-Wh. p-value
<i>Erysipelotrichaceae</i>	5,02	212,9	7294,1	0,000006	0,002
<i>Prevotellaceae</i>	2,88	254,5	1956,4	0,00001	0,004
<i>Pasteurellaceae</i>	4,02	7,6	305,2	0,002	0,10
<i>UCG-010</i>	3,54	2,1	152,0	0,010	0,003
<i>Tannerellaceae</i>	-1,33	1501,8	590,3	0,007	0,003
<i>Barnesiellaceae</i>	-2,12	738,0	160,7	0,01	0,03
<i>Rikenellaceae</i>	-1,42	2404,9	893,9	0,01	0,007
<i>Christensenellaceae</i>	1,45	257,5	725,8	0,007	0,02
<i>Bacteroidaceae</i>	-1,15	21868,1	9830,4	0,01	0,004
<i>Erysipelatoclostridiaceae</i>	1,02	1314,8	2669,3	0,01	0,005
<i>Akkermansiaceae</i>	2,11	135,6	627,5	0,009	0,2
<i>Pseudomonadaceae</i>	1,69	35,1	139,5	0,02	0,0004
<i>Xanthomonadaceae</i>	1,60	17,4	77,1	0,003	0,00005
<i>Methanobacteriaceae</i>	2,53	0,0	57,3	0,006	0,009
<i>Streptococcaceae</i>	1,51	1538,5	4389,0	0,005	0,8
<i>Clostridiaceae</i>	-1,29	240,1	91,3	0,06	0,06
<i>Carnobacteriaceae</i>	0,89	14,5	37,2	0,002	0,2
<i>Rhizobiaceae</i>	1,10	6,8	28,4	0,01	0,004
<i>Selenomonadaceae</i>	1,32	0,0	18,0	0,003	0,04
<i>Sutterellaceae</i>	-0,68	123,0	72,0	0,09	0,02
<i>Micrococcaceae</i>	0,72	5,3	16,6	0,0008	0,2
<i>Sphingobacteriaceae</i>	0,61	3,0	10,9	0,007	0,02
<i>Lachnospiraceae</i>	0,33	25607,6	32140,1	0,1	0,002
<i>Peptostreptococcaceae</i>	-1,51	971,8	332,4	0,2	0,006
<i>Burkholderiaceae</i>	-2,14	92,1	11,6	0,1	0,00003
<i>Lactobacillaceae</i>	-2,19	244,3	44,1	0,3	0,06
<i>Comamonadaceae</i>	0,42	0,3	4,5	0,03	0,04
<i>Synergistaceae</i>	0,16	0,0	1,4	0,004	0,07
<i>Alcaligenaceae</i>	0,31	1,5	4,8	0,02	0,2
<i>Monoglobaceae</i>	0,77	718,9	1234,2	0,1	0,5
<i>Oscillospirales fa</i>	0,11	0,0	1,0	0,02	0,1
<i>Butyricocccaceae</i>	-0,43	1069,1	792,9	0,3	0,2
<i>Desulfovibrionaceae</i>	-0,43	137,6	98,8	0,3	0,1
<i>Marinifilaceae</i>	-0,41	132,9	96,9	0,5	0,05
<i>Enterobacteriaceae</i>	-0,51	2396,2	1684,5	0,7	0,5
<i>Acidaminococcaceae</i>	0,52	273,9	398,2	0,4	0,6
<i>Ruminococcaceae</i>	-0,24	28062,3	23705,5	0,3	0,5
<i>Oscillospiraceae</i>	-0,15	2932,3	2645,6	0,6	0,2
<i>Neisseriaceae</i>	0,03	0,0	0,3	0,03	0,2
<i>Vibrionaceae</i>	0,23	0,0	2,0	0,06	0,1
<i>Anaerovoracaceae</i>	0,31	171,9	216,0	0,4	0,6
<i>Coriobacteriaceae</i>	-1,12	781,6	352,0	0,2	0,9
<i>Actinomycetaceae</i>	0,32	34,6	46,3	0,5	0,2
<i>Eggerthellaceae</i>	0,05	162,3	168,7	0,9	0,04
<i>Peptostreptococcales-Tissier</i>	-0,94	13,1	1,0	0,1	0,002
<i>Bifidobacteriaceae</i>	-0,05	3154,8	3049,3	0,9	0,2
<i>Aerococcaceae</i>	0,21	0,7	2,6	0,07	0,1
<i>Veillonellaceae</i>	-0,47	2410,1	1736,9	0,6	0,9
<i>Atopobiaceae</i>	-0,48	39,9	25,3	0,4	0,6
<i>Enterococcaceae</i>	0,58	3,6	11,3	0,09	0,5
<i>Gemellaceae</i>	0,26	19,6	25,9	0,3	0,5
<i>Eubacteriaceae</i>	-0,38	6,9	2,5	0,2	0,01
<i>Moraxellaceae</i>	0,51	0,1	5,2	0,2	0,09
<i>Caulobacteraceae</i>	0,39	11,7	19,0	0,2	0,4

Рисунок 16 - Сравнительная оценка содержания основных семейств бактерий в образцах кала у больных с СРК-Д в сочетании с ФД и у здоровых лиц группы контроля

Подробный анализ изменения состава кишечной микробиоты в образцах кала у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД в разных группах не проводился

ввиду малой выборки пациентов и обусловленного этим фактором риском большой погрешности при оценке изменений.

3.1.8 Метаболическая активность кишечной микробиоты пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД и здоровых лиц группы контроля

Для оценки метаболической активности кишечной микробиоты были проанализированы абсолютное содержание основных короткоцепочечных жирных кислот (уксусной, пропионовой, масляной), изокилот, общее содержание короткоцепочечных жирных кислот, и анаэробный индекс, отражающий состояние окислительно-восстановительного потенциала внутрипросветной среды.

Среди пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД средний уровень абсолютного содержания уксусной кислоты (С2) в общей выборке СРК-Д и ФД составил $1,58 \pm 0,78$ мг/г, группе 1 - $1,51 \pm 0,79$ мг/г; в группе 2 – $1,71 \pm 0,73$ мг/г; в группе 3 - $1,51 \pm 0,84$ мг/г. В группе контроля данный показатель составил $0,93 \pm 0,64$ мг/г.

Средний уровень абсолютного содержания пропионовой кислоты (С3) среди пациентов с СРК-Д и ФД составил $0,75 \pm 0,49$ мг/г, в группе 1 - $0,78 \pm 0,45$ мг/г; в группе 2 – $0,72 \pm 0,42$ мг/г; в группе 3 - $0,75 \pm 0,58$ мг/г; в группе контроля $0,37 \pm 0,3$ мг/г.

Средний уровень абсолютного содержания масляной кислоты (С4) в общей выборке СРК-Д и ФД составил $0,62 \pm 0,4$ мг/г, в группе 1 - $0,57 \pm 0,3$ мг/г; в группе 2 – $0,73 \pm 0,43$ мг/г; в группе 3 - $0,56 \pm 0,41$ мг/г; в группе контроля $0,24 \pm 0,21$ мг/г.

Не было выявлено статистически достоверного различия содержания основных видов КЦЖК между группами пациентов (различия между тремя группами пациентов: $p=0,76$ для уксусной кислоты, $p=0,79$ для пропионовой кислоты, $p=0,47$ для масляной кислоты).

Содержание изокилот также было повышено у больных СРК-Д в сочетании с ФД в сравнении с группой контроля: в общей выборке СРК-Д и ФД - $0,19 \pm 0,1$

мг/г, в группе 1 – $0,23 \pm 0,18$ мг/г; в группе 2 – $0,2 \pm 0,06$ мг/г; в группе 3 – $0,16 \pm 0,05$ мг/г ($p=0,283$), в группе контроля $0,14 \pm 0,1$ мг/г. Общее содержание кислот у больных СРК-Д в сочетании с ФД оказалось достоверно выше в сравнении с группой контроля – в общей выборке СРК-Д и ФД - $3,19 \pm 1,69$ мг/г, по группам - $2,97 \pm 1,81$ мг/г, $3,48 \pm 1,57$ мг/г и $3,08 \pm 1,79$ мг/г в группах 1, 2 и 3 соответственно ($p=0,637$) против $1,81 \pm 1,29$ мг/г в группе контроля. Анаэробный индекс был смещен в сторону более отрицательных значений у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД в сравнении с группой контроля: в группе 1 показатель составил - $0,9 \pm 21$ Ед, в группе 2 - $0,7 \pm 0,46$ Ед, в группе 3 - $0,82 \pm 0,25$ Ед ($p=0,425$), в общей выборке СРК-Д и ФД - $-0,79 \pm 0,33$ Ед, в группе контроля $-0,69 \pm 0,19$ Ед.

Суммарные показатели содержания КЦЖК в кале у пациентов с СРК-Д и ФД и здоровых лиц группы контроля представлены в таблице 13.

Таблица 13 - Содержание КЦЖК в кале при СРК-Д в сочетании с ФД и у здоровых лиц группы контроля

Показатель	Группа	Сред- нее	Медиана	Мин	Макс	SD	p
Уксусная кислота (С2)	Общая выборка СРК- Д+ФД	1,58	1,44	0,35	3,07	0,78	-
	1	1,51	1,34	0,35	2,85	0,79	0,76
	2	1,71	1,44	0,78	2,8	0,73	
	3	1,51	1,41	0,39	3,07	0,84	
	Контроль	0,93	0,68	0,32	2,29	0,64	-
Пропионо- вая кислота (С3)	Общая выборка СРК- Д+ФД	0,75	0,55	0,15	1,96	0,49	-
	1	0,78	0,67	0,15	1,6	0,45	0,79
Масляная кислота (С4)	Общая выборка СРК- Д+ФД	0,62	0,54	0,07	1,63	0,40	-
	1	0,57	0,57	0,07	1,22	0,3	0,47
	2	0,73	0,7	0,14	1,42	0,43	
	3	0,56	0,44	0,07	1,63	0,41	
	Контроль	0,24	0,15	0,05	0,77	0,21	-

Продолжение таблицы 13

Показатель	Группа	Среднее	Медиана	Мин	Макс	SD	p
ИзоСп+ изоС4+ изоС5+ изоС6	Общая выборка СРК-Д+ФД	0,19	0,18	0,06	0,56	0,10	-
	1	0,23	0,2	0,06	0,56	0,18	0,283
	2	0,2	0,18	0,1	0,32	0,06	
	3	0,16	0,16	0,07	0,27	0,05	
	Контроль	0,14	0,11	0,05	0,46	0,1	-
Общее содержание кислот	Общая выборка СРК-Д+ФД	3,19	2,83	0,58	7,01	1,69	-
	1	2,97	2,73	0,58	5,83	1,81	0,637
	2	3,48	2,93	1,38	6,09	1,57	
	3	3,08	2,91	0,82	7,01	1,79	
	Контроль	1,81	1,26	0,55	4,42	1,29	-
Анаэробный индекс	Общая выборка СРК-Д+ФД	-0,79	-0,83	-1,19	0,82	0,33	-
	1	-0,9	-0,96	-1,15	-0,51	0,21	0,425
	2	-0,7	-0,82	-1,12	0,82	0,46	
	3	-0,82	-0,81	-1,19	-0,36	0,25	
	Контроль	-0,69	-0,65	-1,05	-0,36	0,19	-

При попарном сравнении было установлено статистически достоверное увеличение абсолютного содержания всех трех основных видов КЦЖК в кале у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД в сравнении со здоровыми лицами. Уровень общего содержания кислот был также статистически значимо повышен у больных в сравнении со здоровыми лицами (таблица 14).

В то же время статистически значимое отличие с показателями группы контроля для изокилот было получено только в группе 2. Анаэробный индекс статически достоверно отличался от показателей группы контроля только в группе 1 (таблица 14). Отсутствие достоверных отличий в сравнении между

контролем и отдельными группами терапии относительно содержания изокилот, общего содержания кислот и анаэробного индекса может быть обусловлено небольшой выборкой пациентов и здоровых лиц группы контроля.

Таблица 14 - Парная сравнительная оценка различий содержания основных форм КЦЖК у пациентов в группах с показателями группы контроля

Показатель	Группы сравнения		p-value	p-value, с поправкой Бонферрони
	Группа А	Группа Б		
Уксусная кислота (С2)	Контроль	Общая выборка СРК-Д+ФД	0,00281*	
		Группа 1	0,054*	0,162
		Группа 2	0,0045*	0,013
		Группа 3	0,0254*	0,076
Пропионовая кислота (С3)	Контроль	Общая выборка СРК-Д+ФД	0,00186*	
		Группа 1	0,0094*	0,028
		Группа 2	0,0078*	0,023
		Группа 3	0,019*	0,058
Масляная кислота (С4)	Контроль	Общая выборка СРК-Д+ФД	0,00021*	
		Группа 1	0,0087*	0,026
		Группа 2	0,00028*	0,0008
		Группа 3	0,00714*	0,021
ИзоСп+изоС4+изоС5+изоС6	Контроль	Общая выборка СРК-Д+ФД	0,0278*	
		Группа 1	0,117	0,352
		Группа 2	0,0093*	0,028
		Группа 3	0,227	0,682
Общее содержание кислот	Контроль	Общая выборка СРК-Д+ФД	0,00337*	
		Группа 1	0,0978	0,293
		Группа 2	0,0034*	0,01
		Группа 3	0,026*	0,08

Продолжение таблицы 14

Показатель	Группы сравнения		p-value	p-value, с поправкой Бонферрони
	Группа А	Группа Б		
Анаэробный индекс	Контроль	Общая выборка СРК-Д+ФД	0,046*	
		Группа 1	0,02*	0,06
		Группа 2	0,261	0,781
		Группа 3	0,113	0,340

**различия достигли статистически значимого уровня*

Таким образом, было установлено, что у больных СРК-Д в сочетании с ФД определяется:

- умеренно выраженная интенсивность жалоб (согласно Опроснику 7x7 и Опроснику GSRS);
- снижение уровня качества жизни за счет снижения физического и психического компонентов здоровья согласно Опроснику SF-36;
- достоверно бóльшая эозинофильная и лимфоцитарная инфильтрация слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки и сигмовидной кишки в сравнении со лицами группы контроля;
- увеличение экспрессии белков, связывающих жирные кислоты, в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки и сигмовидной кишки в сравнении со здоровыми лицами группы контроля, что свидетельствует об изменении состояния эпителиального уровня кишечного барьера;
- увеличение содержания муцина-2 в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки и сигмовидной кишки в сравнении со здоровыми лицами группы контроля, возможно, компенсаторного характера;
- уровень зонулина сыворотки крови, сопоставимый с уровнем зонулина сыворотки крови лиц группы контроля;

- изменение состава кишечной микробиоты в сравнении со лицами группы контроля;

- увеличение содержания уксусной, пропионовой и масляной кислот в кале в сравнении с лицами группы контроля, указывающее на модификацию метаболической активности микробиоты.

3.2 Динамика показателей на фоне лечения

3.2.1 Выраженность жалоб и качество жизни пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД

Динамика на фоне лечения была оценена путем применения Опросников 7x7, GSRS и SF-36 через 28 дней (визит 2) и 56 дней (визит 3) от начала терапии.

При оценке выраженности жалоб было установлено, что средний балл по данным Опросника «7x7» через 28 дней после начала лечения в группе 1 уровень составил $9,13 \pm 4,45$ баллов, в группе 2 - $7 \pm 3,61$ баллов, в группе 3 - $8,05 \pm 3,98$ баллов.

Через 56 дней после начала лечения в группе 1 уровень составил $7,93 \pm 3,17$ балла, в группе 2 – $3,37 \pm 3,6$ балла, в группе 3 – $4,85 \pm 3,36$ балла (таблица 15).

Таким образом, во всех группах средний балл Опросника «7x7» достоверно снизился от визита 1 к визиту 3 – в группе 1 на 46,9% ($p=0,014$), в группе 2 на 74,5% ($p=0,009$) и в группе 3 на 71,6% ($p=0,003$). От визита 1 к визиту 2 показатель статистически значимо снизился во всех группах – на 38,8% ($p=0,008$), 52,6% ($p=0,001$) и 52,9% ($p=0,0003$) соответственно. В то же время от визита 2 к визиту 3 данный показатель статистически значимо снизился только в группах 2 и 3 – на 46,3% ($p=0,002$) и 39,8% ($p=0,005$) соответственно (рисунок 17).

Таблица 15 - Динамика показателя «сумма баллов» по данным Опросника «7х7» у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД на фоне лечения

Группа	Визит	Среднее	Медиана	Мин	Макс	SD	р
1	1	14,06	13	5	25	5,85	0,014*
	2	9,13	10	1	17	4,45	
	3	7,93	8	3	14	3,17	
2	1	14,32	15	4	27	5,98	0,009*
	2	7	7	2	16	3,61	
	3	3,76	3	0	13	3,6	
3	1	16,22	15	5	27	6,07	0,003*
	2	8,05	8	1	16	3,98	
	3	4,85	5	0	12	3,36	

*различия достигли статистически значимого уровня

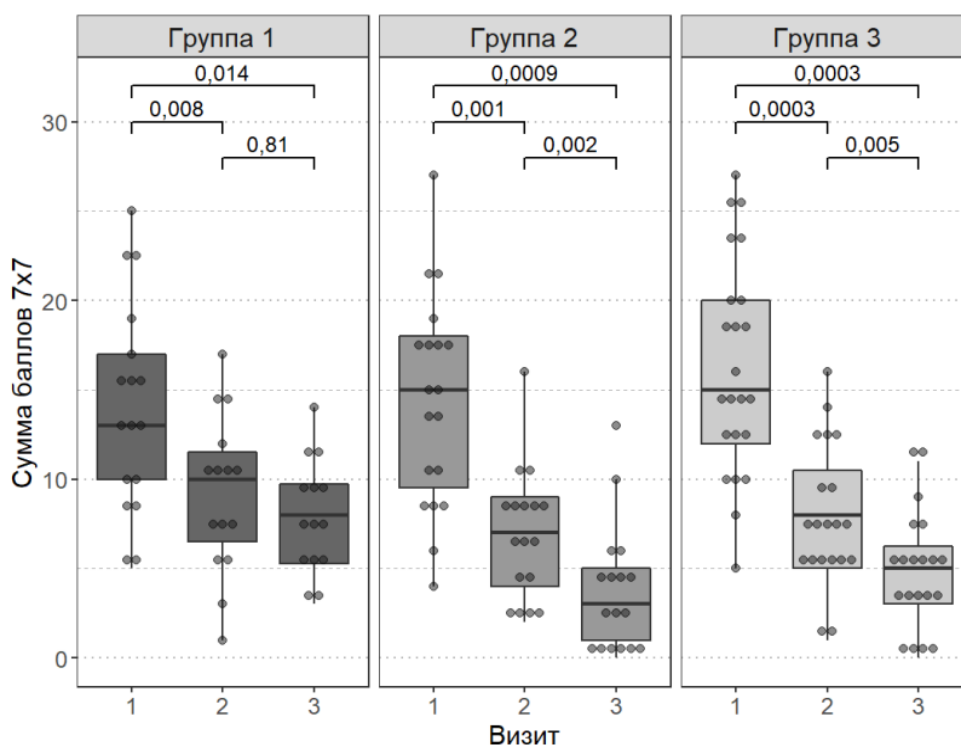


Рисунок 17 - Диаграмма изменения показателя «сумма баллов» по данным Опросника «7х7» у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД на фоне лечения

Средний балл по данным Опросника GSRS через 28 дней после начала лечения в группе 1 составил $29 \pm 6,63$ баллов, в группе 2 – $24,88 \pm 6,67$ баллов, в группе 3 - $29,5 \pm 6,5$ баллов. Через 56 дней после начала лечения в группе 1

уровень составил $25,77 \pm 6,62$ баллов, в группе 2 – $20,88 \pm 5,59$ баллов, в группе 3 – $23,3 \pm 4,39$ балла (таблица 15).

Во всех группах средний балл Опросника GSRS статистически значимо снизился от визита 1 к визиту 3 – в группе 1 на 33,3% ($p=0,005$), в группе 2 на 47,4% ($p=0,001$) и в группе 3 на 45,0% ($p=0,0003$). От визита 1 к визиту 2 этот показатель достоверно снизился во всех группах – на 26,8% ($p=0,0032$), 37,3% ($p=0,001$) и 30,4% ($p=0,0004$) соответственно. От визита 2 к визиту 3 данный показатель также статистически значимо снизился во всех группах – на 10,2% ($p=0,0203$), 16,1% ($p=0,01$) и 21% ($p=0,0005$) (рисунок 16).

Таблица 16 - Динамика показателя «средний балл» по данным опросника GSRS у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД на фоне лечения

Группа	Визит	Среднее	Медиана	Мин	Макс	SD	p
1	1	38	36	27	53	8,9	0,005*
	2	29	26	22	40	6,63	
	3	25,77	23	17	42	6,62	
2	1	38,63	39	24	56	9,27	0,001*
	2	24,88	23	18	43	6,67	
	3	20,88	19	16	38	5,59	
3	1	40,65	39	27	57	9,4	0,0003*
	2	29,5	30	20	46	6,5	
	3	23,3	22	16	32	4,39	

*различия достигли статистически значимого уровня

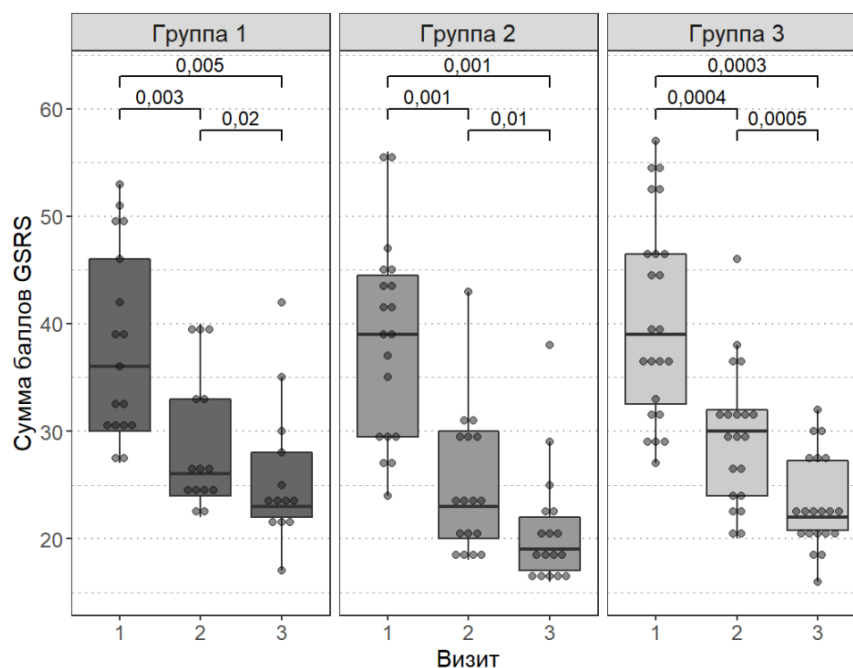


Рисунок 18 - Диаграмма изменения параметра «средний балл» по данным опросника GRSR у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД на фоне лечения

При анализе показателей, полученных в результате тестирования по шкалам Опросника для оценки качества жизни пациента The Short Form-3 (Опросник SF-36), были получены следующие результаты.

Основные компоненты «физический компонент здоровья» и «психический компонент здоровья» были оценены через 28 и 56 дней от начала терапии.

Для показателя «физический компонент здоровья» через 28 дней после начала лечения в группе 1 средний балл составил $47,91 \pm 7,19$ баллов, в группе 2 - $51,7 \pm 6,75$ балл, в группе 3 - $50,19 \pm 7,28$ баллов. Через 56 дней после начала лечения в группе 1 средний балл составил $52,91 \pm 4,63$ балла, в группе 2 - $55,09 \pm 4,81$ баллов, в группе 3 - $52,93 \pm 5,53$ балла (таблица 17).

Во всех группах данный показатель достоверно повысился от визита 1 к визиту 3 – в группе 1 на 18,7% ($p=0,0054$), в группе 2 на 19,4% ($p=0,0015$) и в группе 3 на 29,6% ($p=0,0004$). От визита 1 к визиту 2 показатель статистически значимо вырос в группах 2 и 3 – на 12,1% ($p=0,0009$) и 22,9% ($p=0,0003$) соответственно. От визита 2 к визиту 3 также отмечалась достоверная положительная динамика во всех трех группах – увеличение на 8,7% ($p=0,0015$) в

группе 1, 6,6% ($p=0,0117$) в группе 2 и 5,5% ($p=0,0048$) в группе 3 соответственно (рисунок 19).

Таблица 17 - Динамика показателя «физический компонент здоровья» (Опросник SF-36) у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД на фоне лечения

Группа	Визит	Среднее	Медиана	Мин	Макс	SD	p
1	1	43,95	45,06	28,14	63,83	9,81	0,0054*
	2	47,91	50,52	35,35	57,96	7,19	
	3	52,91	52,39	45,08	61,55	4,63	
2	1	45,18	46,78	27,4	56,9	8,62	0,0015*
	2	51,7	51,67	35,15	59,67	6,75	
	3	55,09	56	44,93	60,83	4,81	
3	1	42,79	42,89	22,83	57,25	9,31	0,0004*
	2	50,19	49,44	37,04	63,43	7,28	
	3	52,93	52,66	42,44	62,55	5,53	

*различия достигли статистически значимого уровня

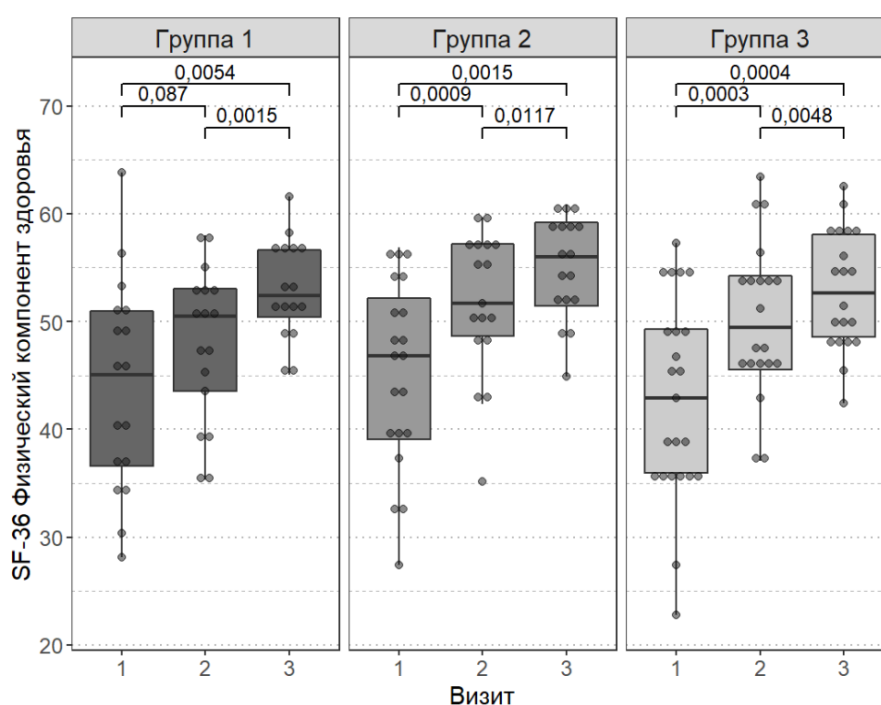


Рисунок 19 - Диаграмма изменения параметра «физический компонент здоровья» (Опросник SF-36) у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД на фоне лечения

Показатель «психический компонент здоровья» на фоне терапии через 28 дней после начала лечения составил в группе 1 $41,2 \pm 12,52$ баллов, в группе 2 - $45,59 \pm 6$

баллов, в группе 3 - 41,88±9,99 баллов. Через 56 дней после начала лечения этот показатель в группе 1 составил 42,59±11,67 баллов, в группе 2 - 47,37±5,95 баллов, в группе 3 - 45,08±9,9 баллов (таблица 18).

Во всех группах упомянутый показатель статистически значимо возрос от визита 1 к визиту 3 – в группе 1 на 18,9% (p=0,0021), в группе 2 на 25% (p=0,0135) и в группе 3 на 33,8% (p=0,001). От визита 1 к визиту 2 показатель также статистически значимо увеличился во всех трех группах – на 17,1% (p=0,009) в группе 1, 20,4% (p=0,012) в группе 2 и 24,3% (p=0,003) в группе 3. От визита 2 к визиту 3 данный показатель статистически значимо вырос в группе 3 на 7,6% (p=0,001) (рисунок 20).

Таблица 18 - Динамика показателя «психический компонент здоровья» (Опросник SF-36) у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД на фоне лечения

Группа	Визит	Среднее	Медиана	Мин	Макс	SD	p
1	1	35,18	36,36	15,73	52,53	10,46	0,0021*
	2	41,2	42,87	16,25	55,49	12,52	
	3	42,59	46,48	18,53	58,14	11,67	
2	1	38,76	37,69	19,95	62,51	12,58	0,0135*
	2	45,59	46,27	32,27	57,68	6	
	3	47,37	48,46	34,35	55,35	5,95	
3	1	35,67	34,51	17,64	58,61	11,13	0,001*
	2	41,88	43,73	10,62	54,24	9,99	
	3	45,08	47,09	14,47	61,62	9,9	

*различия достигли статистически значимого уровня

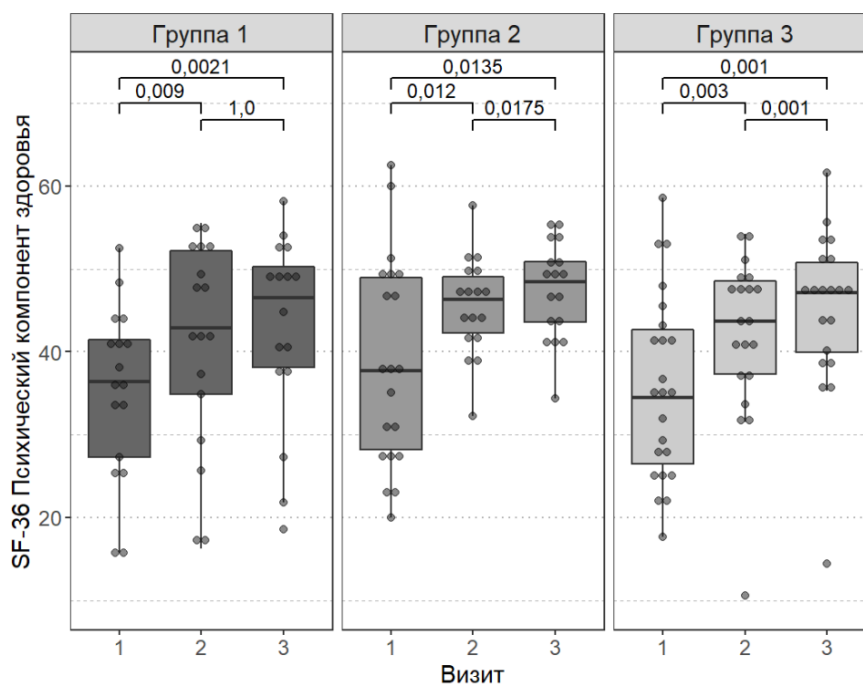


Рисунок 20 - Диаграмма изменения параметра «психический компонент здоровья» (Опросник SF-36) у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД на фоне лечения

Для более полного анализа качества жизни была проанализирована динамика параметров, формирующих физический и психический компоненты здоровья согласно Опроснику SF-36 через 56 дней после начала терапии (визит 3).

Показатель «физическое функционирование» через 56 дней после начала лечения составил в группе 1 – $95,94 \pm 15,22$ баллов, в группе 2 – $95,88 \pm 5,37$ баллов, в группе 3 - $90 \pm 19,13$ баллов. Таким образом, во всех трех группах отмечалась достоверная положительная динамика (в группе 1 изменение 7%, $p=0,022$, в группе 2 изменение 9,4%, $p=0,0015$, в группе 3 изменение 10,8%, $p=0,0009$).

Динамика показателя «ролевое функционирование, обусловленное физическим состоянием», была следующей: у пациентов группы 1 после 56 дней лечения его значение составило $88,38 \pm 17,97$ баллов (изменение 80%, $p=0,00355$), группы 2 – $91,18 \pm 15,16$ баллов (изменение 55%, $p=0,00514$), группы 3 – $88,75 \pm 18,98$ баллов (изменение 163%, $p=0,00013$). Во всех группах так же, как и для предыдущего показателя, отмечалась достоверная положительная динамика.

Показатель «интенсивность боли» через 56 дней после начала лечения статистически значимо возрос во всех трех группах и составил $72,62 \pm 17,9$ баллов в группе 1 (изменение 48,4%, $p\text{-value}=0,0049$); $82,78 \pm 17,49$ баллов в группе 2 (изменение 44,9%, $p\text{-value}=0,0016$) и $80,05 \pm 14,41$ баллов в группе 3 (изменение 104,7%, $p\text{-value}=0,0001$).

Показатель «общее состояние здоровья» через 56 дней после начала статистически также статистически достоверно увеличился во всех трех группах и составил $67,31 \pm 15,53$ баллов в группе 1 (изменение 16,3%, $p\text{-value}=0,01431$); $71,29 \pm 18,33$ баллов в группе 2 (изменение 24,8%, $p\text{-value}=0,00176$) и $68,45 \pm 14,04$ баллов в группе 3 (изменение 25,7%, $p\text{-value}=0,00027$).

Показатели составных компонентов параметра «физический компонент здоровья» вынесены в таблицу 19.

Таблица 19 - Динамика показателей, составляющих «физический компонент здоровья» (Опросник SF-36), у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД на фоне лечения

Показатель	Группа	Визит	Среднее	Медиана	Мин	Макс	SD	p
Физическое функционирование	1	1	87,65	95	55	100	87,65	0,022*
		3	95,94	97,5	80	100	95,94	
	2	1	85,25	90	50	100	85,25	0,0015*
		3	95,88	100	85	100	95,88	
	3	1	83,04	90	20	100	83,04	0,0009*
		3	90	95	15	100	90	
Ролевое функционирование, обусловленное физическим состоянием	1	1	44,12	50	0	100	41,95	0,00355*
		3	84,38	87,5	50	100	17,97	
	2	1	55	62,5	0	100	40,23	0,00514*
		3	91,18	100	50	100	15,16	
	3	1	42,39	25	0	100	38,02	0,00013*
		3	88,75	100	50	100	18,98	
Интенсивность боли	1	1	48,47	41	0	100	23,41	0,0049*
		3	72,62	73	42	100	17,9	

Продолжение таблицы 19

Показатель	Группа	Визит	Среднее	Медиана	Мин	Макс	SD	p
Интенсивность боли	2	1	57,2	51	22	100	25,51	0,0016*
		3	82,76	84	51	100	17,49	
	3	1	46,35	41	22	100	23,23	0,0001*
		3	80,05	82	61	100	14,41	
Общее состояние здоровья	1	1	56,24	55	25	87	21,24	0,01431*
		3	67,31	67	45	97	15,73	
	2	1	55,9	57	10	82	16,84	0,00176*
		3	71,29	72	25	100	18,33	
	3	1	56,3	62	15	87	18,71	0,00027*

**различия достигли статистически значимого уровня*

Для показателей, составляющих «психический компонент здоровья», динамика через 56 дней после начала лечения была следующая.

Показатель «психическое здоровье» после завершения терапии составил в группе 1 – $63 \pm 18,27$ баллов, в группе 2 – $66,12 \pm 12,18$ баллов, в группе 3 – $67,2 \pm 14,89$ баллов. Таким образом, во всех трех группах отмечалась достоверная положительная динамика (в группе 1 изменение 16,1%, $p=0,004937$, в группе 2 изменение 16,6%, $p=0,00891$, в группе 3 изменение составило 42,4%, $p=0,00014$). Показатель «ролевое функционирование, обусловленное эмоциональным состоянием» на фоне лечения составил $70,83 \pm 36,26$ баллов в группе 1 (изменение 78,9%, $p=0,00554$), в группе 2 – $94,12 \pm 13,1$ баллов (изменение 84,6%, $p=0,00237$), в группе 3 – $78,33 \pm 32,94$ баллов (изменение 104,3%, $p=0,00051$). Во всех группах отмечалась статистически значимая положительная динамика. Показатель «социальное функционирование» также достоверно повысился на фоне терапии и составил $69,53 \pm 22,35$ баллов в группе 1 (изменение 30,9%, $p=0,0062$), $75,74 \pm 19,5$ баллов в группе 2 (изменение 28,7%, $p=0,0173$) и $65,62 \pm 18,08$ баллов в группе 3 (изменение 54,5%, $p=0,0007$). Показатель «жизненная активность» через 56 дней после начала статистически значимо вырос во всех трех группах и составил

60,62±17,4 баллов в группе 1 (изменение 25,2%, p-value=0,00243); 67,94±12,13 баллов в группе 2 (изменение 46,2%, p-value=0,0011) и 67±14,99 баллов в группе 3 (изменение 54%, p-value=0,00014). Общие данные для составных компонентов параметра «психический компонент здоровья» вынесены в таблицу 20.

Таблица 20 - Динамика показателей, составляющих «психический компонент здоровья» (Опросник SF-36), у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД на фоне лечения

Показатель	Группа	Визит	Среднее	Медиана	Мин	Макс	SD	p
Психическое здоровье	1	1	51,76	60	8	80	21,52	0,004937*
		3	63	68	28	88	18,27	
	2	1	56,4	58	24	88	18,89	0,00891*
		3	66,12	68	44	88	12,18	
	3	1	50,96	56	16	88	20,44	0,00014*
		3	67,2	68	28	84	14,89	
Ролевое функционирование, обусловленное эмоц. состоянием	1	1	37,25	33,33	0	100	38,88	0,00554*
		3	70,83	83,33	0	100	36,26	
	2	1	53,33	66,67	0	100	42,44	0,00237*
		3	94,12	100	66,67	100	13,1	
	3	1	42,03	33,33	0	100	36,54	0,00051*
		3	78,33	100	0	100	32,94	
Социальное функционирование	1	1	54,41	50	12,5	100	21,17	0,0062*
		3	69,53	68,75	25	100	22,35	
	2	1	61,25	62,5	25	100	24,3	0,0173*
		3	75,74	75	37,5	100	19,5	
	3	1	49,46	50	12,5	100	23,38	0,0007*
		3	65,62	62,5	37,5	100	18,08	
Жизненная активность	1	1	47,06	50	5	80	20,54	0,00243*
		3	60,62	67,5	30	85	17,4	
	2	1	46,25	42,5	15	80	18,84	0,0011*
		3	67,94	70	45	85	12,13	
	3	1	47,61	50	10	90	19,71	0,00014*
		3	67	65	30	90	14,99	

*различия достигли статистически значимого уровня

3.2.2 Морфологическая картина слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки и сигмовидной кишки

На фоне проводимого лечения через 56 дней от начала терапии в биоптатах пациентов группы 1 количество эозинофилов в поле зрения в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки уменьшилось на $1,47 \pm 2,04$ до среднего значения $5,04 \pm 5,09$ ($p=0,036$), в группе 2 на $4,89 \pm 8,44$ до среднего значения до $4,61 \pm 3,19$ ($p=0,009$), в группе 3 на $2,32 \pm 3,45$ до среднего значения $3,65 \pm 2,25$ ($p=0,010$) (таблица 21). Таким образом, достоверное уменьшение данного показателя было зафиксировано во всех группах терапии, достигнув наиболее выраженной динамики в группе 2 (рисунок 21).

Таблица 21 - Динамика уровня эозинофилов в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД на фоне лечения

Показатель	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Различия между группами
Исходный уровень эозинофилов (визит 1)	$6,36 \pm 6,17$	$9,47 \pm 10,65$	$5,97 \pm 3,72$	$p=0,521$
Уровень эозинофилов после лечения (визит 3)	$5,04 \pm 5,09$	$4,61 \pm 3,19$	$3,65 \pm 2,25$	$p=0,829$
Абсолютное изменение уровня	$-1,47 \pm 2,04$ $p=0,036^*$	$-4,89 \pm 8,44$ $p=0,009^*$	$-2,32 \pm 3,45$ $p=0,010^*$	$p=0,443$
Относительное изменение уровня	$-16\% \pm 24\%$	$-30\% \pm 47\%$	$34\% \pm 277\%$	$p=0,298$
Величина эффекта	0,678	0,705	0,611	

**различия достигли статистически значимого уровня*

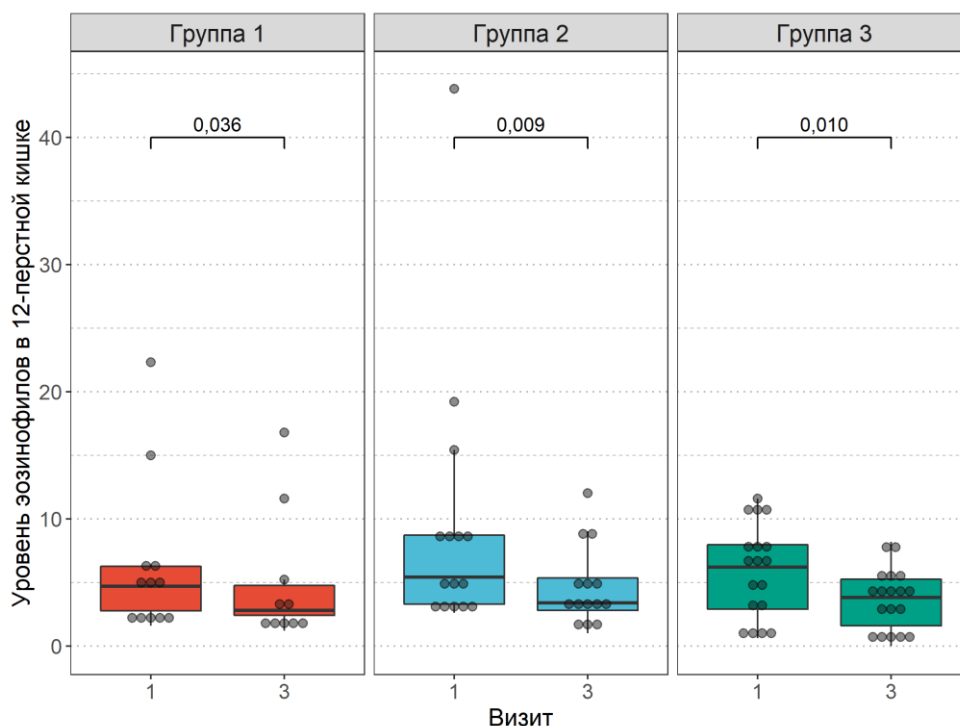


Рисунок 21 - Динамика уровня эозинофилов в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД на фоне лечения

Также на фоне проводимого лечения в группе 1 количество эозинофилов в поле зрения в слизистой оболочке сигмовидной кишки уменьшилось на $0,18 \pm 2,32$ до среднего значения $3,55 \pm 1,89$ ($p=0,905$), в группе 2 на $2,14 \pm 3,11$ до среднего значения до $2,43 \pm 2,08$ ($p=0,0181$), в группе 3 на $2,39 \pm 4,33$ до среднего значения $4,26 \pm 5,19$ ($p=0,0386$) (таблица 22).

Следовательно, достоверное уменьшение выраженности эозинофильной инфильтрации слизистой было достигнуто в группах 2 и 3, но не в группе 1 (рисунок 22).

Таблица 22 - Динамика уровня эозинофилов в слизистой оболочке сигмовидной кишки у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД на фоне лечения

Показатель	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Различия между группами
Исходный уровень эозинофилов (визит 1)	3,78±2,79	4,39±3,73	6,66±7,83	p=0,657
Уровень эозинофилов после лечения (визит 3)	3,55±1,89	2,43±2,08	4,26±5,19	p=0,246
Абсолютное изменение уровня	-0,18±2,32 p=0,905	-2,14±3,11 p=0,0181*	-2,39±4,33 p=0,0386*	p=0,144
Относительное изменение уровня	50%±139%	-29%±56%	5%±127%	p=0,0635
Величина эффекта	0,0675	0,683	0,493	

*различия достигли статистически значимого уровня

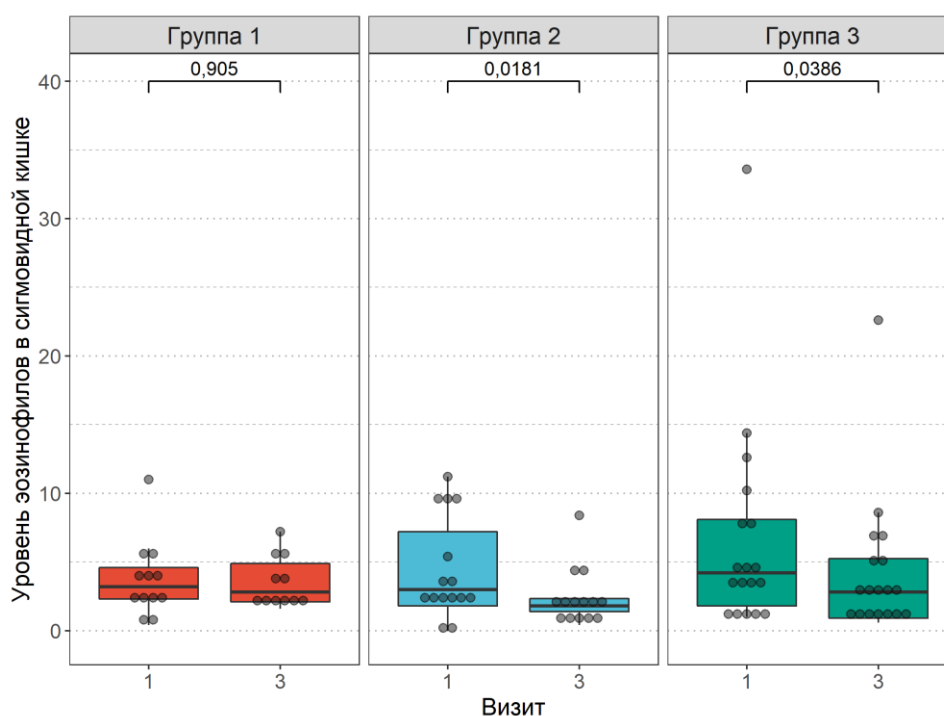


Рисунок 22 - Динамика уровня эозинофилов в слизистой оболочке сигмовидной кишки у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД на фоне лечения

Количество лимфоцитов в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки достоверно уменьшилось на фоне лечения у 78,6% пациентов в группе 2 ($p < 0,0001$) и у 55% пациентов группы 3 ($p = 0,038$) и снизилось у 25% пациентов

группы 1 ($p=0,369$) (рисунок 23). Таким образом, в группах 2 и 3 была получена статистически значимая положительная динамика относительно уменьшения количества лимфоцитов в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки.

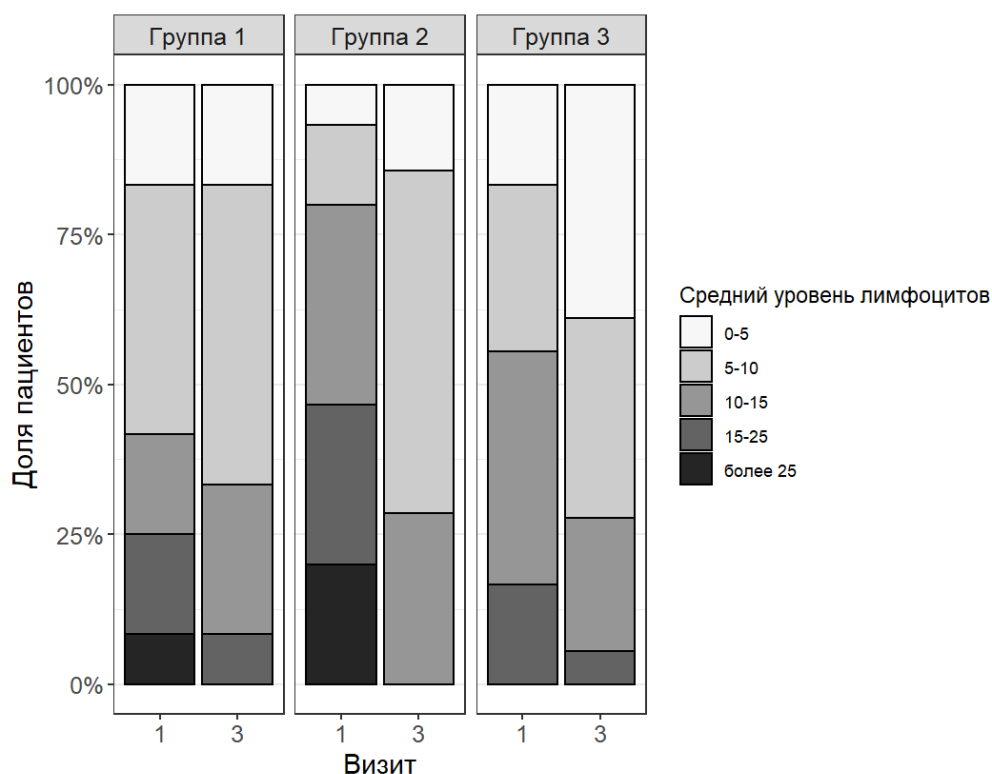


Рисунок 23 - Динамика уровня лимфоцитов в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД на фоне лечения

В слизистой оболочке сигмовидной кишки уменьшение уровня лимфоцитов было достигнуто у 27% пациентов группы 1 ($p=0,088$), 60% пациентов группы 2 ($p=0,053$) и 61% пациентов группы 3 ($p=0,00019$). Соответственно, статистически значимое уменьшение этого показателя было достигнуто только в группе 3 (рисунок 24).

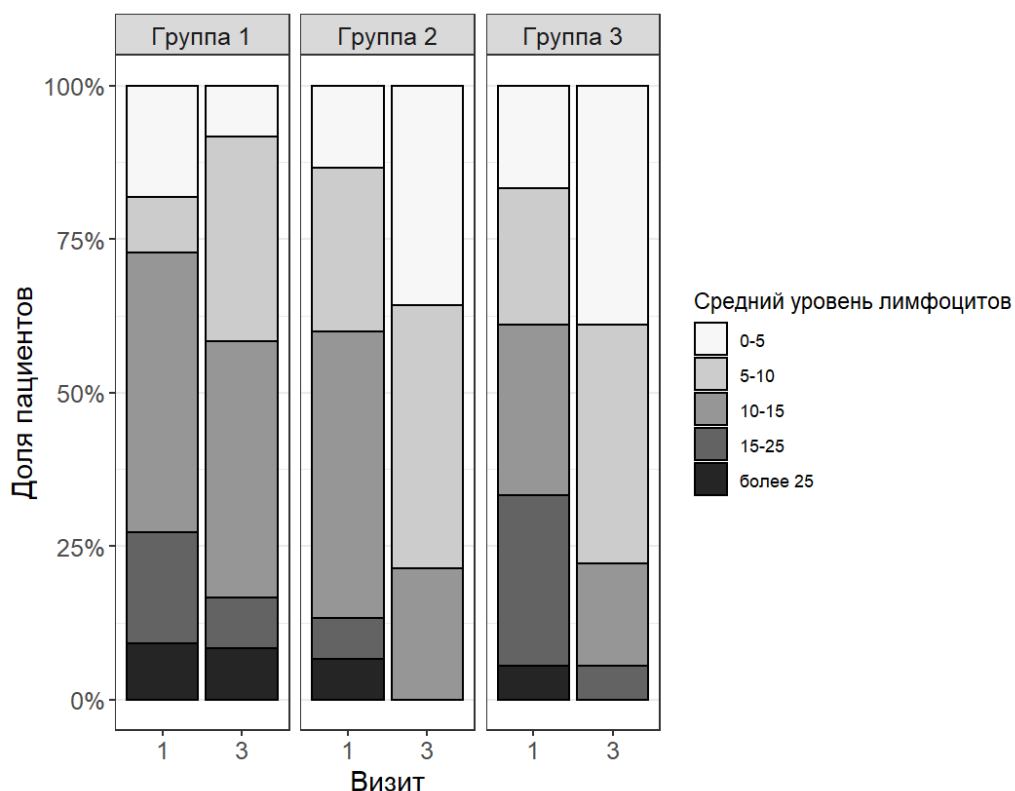


Рисунок 24 - Динамика уровня лимфоцитов в сигмовидной кишке у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД на фоне лечения

3.2.3 Протеомная картина слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки и сигмовидной кишки

В слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки на фоне проводимого лечения в группе 1 количество FABP-1 уменьшилось на $15,68 \pm 9,62$ до среднего значения $36,62 \pm 19,64\%$ ($p=0,063$), в группе 2 на $8,93 \pm 31,86$ до среднего значения $32,09 \pm 22,55\%$ ($p=0,65$), в группе 3 на $12,49 \pm 14,57$ до среднего значения $27,95 \pm 15,32\%$ ($p=0,0098$).

Количество FABP-2 уменьшилось на $4,65 \pm 5,02$ до среднего значения $5,8 \pm 2,36\%$ ($p=0,81$), в группе 2 на $1,73 \pm 2,86$ до среднего значения $5,6 \pm 3,32\%$ ($p=0,055$), в группе 3 на $1,44 \pm 2,12$ до среднего значения $2,28 \pm 1,24\%$ ($p=0,006$).

Количество FABP-5 уменьшилось на $0,85 \pm 1,2$ до среднего значения $15,25 \pm 8,98\%$, в группе 2 на $2,24 \pm 6,62$ до среднего значения $12,32 \pm 5,68\%$, в группе

3 на $5,04 \pm 13,65$ до среднего значения $12,02 \pm 7,86\%$ (таблица 23). Во всех трех группах динамика показателя была статистически незначимой ($p=0,361$, $p=0,461$ и $p=0,275$ соответственно).

Таблица 23 - Динамика уровня FABP в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД на фоне лечения

Изо-форма	Группа	Визит	Среднее	Медиана	Мин	Макс	SD	p
FABP-1	1	1	66,35	64,05	40,8	98	22,72	0,063
		3	36,62	48,1	19,3	62,9	19,64	
	2	1	45,57	41,15	3,8	91,9	27,8	0,65
		3	32,09	33,3	1,2	67,3	22,55	
	3	1	37,23	35,55	20,4	62,7	14,69	0,0098*
		3	27,95	22,2	5,1	60	15,32	
FABP-2	1	1	10,27	9,4	5,7	16,5	3,73	0,81
		3	5,8	5,5	3,6	8,3	2,36	
	2	1	7,19	7,9	2	15,8	3,9	0,055
		3	5,6	6,35	0,4	11,2	3,32	
	3	1	3,8	3,7	1,2	8	1,98	0,006*
		3	2,28	2,4	0,7	4,3	1,24	
FABP-5	1	1	19,4	16,45	8,9	35,4	8,64	0,361
		3	15,25	15,25	8,9	21,6	8,98	
	2	1	12,7	12,1	1,9	25,8	7,77	0,461
		3	12,32	13	1,7	21,6	5,68	
	3	1	16,96	12,85	8,5	28,7	8,11	0,275
		3	12,02	12,6	2	26	7,86	

*различия достигли статистически значимого уровня

В слизистой оболочке сигмовидной кишки на фоне проводимого лечения в группе 1 количество FABP-1 уменьшилось на $4,2 \pm 3,03$, до среднего значения $12,3 \pm 19,1\%$ ($p=0,0625$), в группе 2 - на $26,6 \pm 23,05$ до среднего значения $8,31 \pm 5,1\%$ ($p=0,016$), в группе 3 - на $7,23 \pm 10,77$ до среднего значения $17,81 \pm 14,75\%$ ($p=0,109$).

Количество FABP-5 статистически значимо не изменилось. В группе 1 содержание данного белка уменьшилось на $1,6 \pm 4,53$ до среднего значения $11,12 \pm 6,65\%$ ($p=0,438$), в группе 2 - на $1,03 \pm 6,2$ до среднего значения $9,71 \pm 8\%$

($p=0,813$), в группе 3 - на $7,26 \pm 11,01\%$ до среднего значения $16,39 \pm 17,95$ ($p=0,148$) (таблица 24).

Таблица 24 - Динамика уровня FABP в слизистой оболочке сигмовидной кишки у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД на фоне лечения

Изо-форма	Группа	Визит	Среднее	Медиана	Мин	Макс	SD	p
FABP-1	1	1	20,32	20,8	4,8	42,7	14,64	0,0625
		3	12,3	3,35	1,6	40,9	19,1	
	2	1	49,08	42,8	2,4	127,7	40,51	0,016*
		3	8,31	8	1,9	14,1	5,1	
	3	1	19,69	14,45	4,1	59	15,68	0,109
		3	17,81	8,8	2,7	40,9	14,75	
FABP-5	1	1	21,58	14,65	4,7	52,3	21,2	0,438
		3	11,12	12,85	2,3	16,5	6,65	
	2	1	16,85	8,05	1,5	52,3	17,86	0,813
		3	9,71	6,45	1,4	26,9	8	
	3	1	17,52	16,4	4,6	40,4	11,57	0,148
		3	16,39	8,2	4,5	62	17,95	

*различия достигли статистически значимого уровня

3.2.4 Уровень гликопротеина MUC-2 в слизистой оболочке двенадцатиперстной и сигмовидной кишки

Содержание MUC-2 в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД достоверно уменьшилось на фоне лечения ($p=0,000003$).

Динамика отмечалась у пациентов во всех трех группах (в группе 1 – $p=0,017$, в группе 2 - $p=0,000004$, в группе 3 - $p=0,0005$).

Наиболее часто у больных СРК-Д в сочетании с ФД после лечения отмечалось окрашивание 1-10% бокаловидных клеток, в то время как до лечения наиболее распространенным было окрашивание 26-50% и более 50% клеток (рисунок 22).

В слизистой оболочке сигмовидной кишки у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД уровень MUC-2 на фоне лечения также достоверно уменьшился ($p=0,017$). Так же, как и в двенадцатиперстной кишке, наиболее распространенным вариантом окрашивания после лечения было окрашивание 1-10% бокаловидных клеток, тогда как до терапии аналогично двенадцатиперстной кишке наиболее часто встречалось окрашивание 26-50% и более 50% клеток (рисунок 25).

В группах пациентов достоверное снижение степени окрашивания было зафиксировано только для группы 1 ($p=0,000002$), в то время как для групп 2 ($p=0,56$) и 3 ($p=0,11$) достоверная динамика изучаемого показателя отсутствовала.

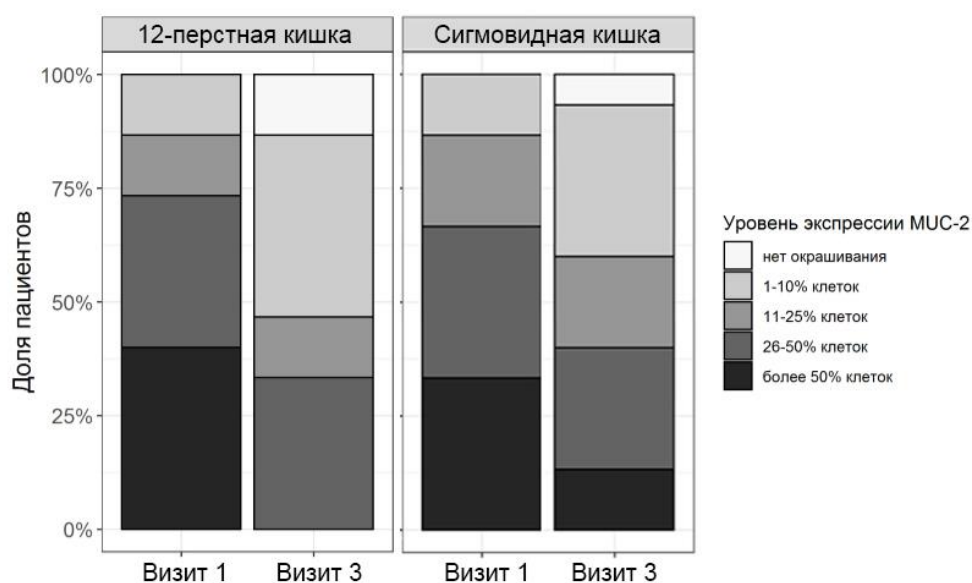


Рисунок 25 - Динамика уровня MUC-2 в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки и сигмовидной кишки у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД на фоне лечения

3.2.5 Сывороточный зонулин

Через 56 дней от начала терапии в группе 1 уровень сывороточного зонулина сывортки крови увеличился на $4,31 \pm 10,19$ нг/мл до среднего значения $21,01 \pm 5,72$ нг/мл ($p=0,365$), в группе 2, напротив, уменьшился на $0,51 \pm 4,35$ нг/мл

до среднего значения $21,34 \pm 5,15$ нг/мл ($p=0,442$), в группе 3 также уменьшился на $12,15 \pm 8,71$ нг/мл до среднего значения $12,76 \pm 9,82$ нг/мл ($p=0,0078$) (таблица 25 и рисунок 26). Таким образом, достоверное уменьшение показателя было достигнуто только в группе 3.

Таблица 25 - Динамика уровня сывороточного зонулина у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД на фоне лечения

Группа	Визит	Среднее	Медиана	Мин	Макс	SD	p
1	1	16,7	17,28	0,36	35,42	10,09	0,365
	3	21,01	22,94	13,12	28,34	5,72	
2	1	21,85	22,2	15,3	27,46	3,78	0,442
	3	21,34	20,77	14,56	30,72	5,15	
3	1	24,91	23,59	16,34	34,7	6,47	0,0078*
	3	12,76	12,16	0,8	24,46	9,82	

*различия достигли статистически значимого уровня

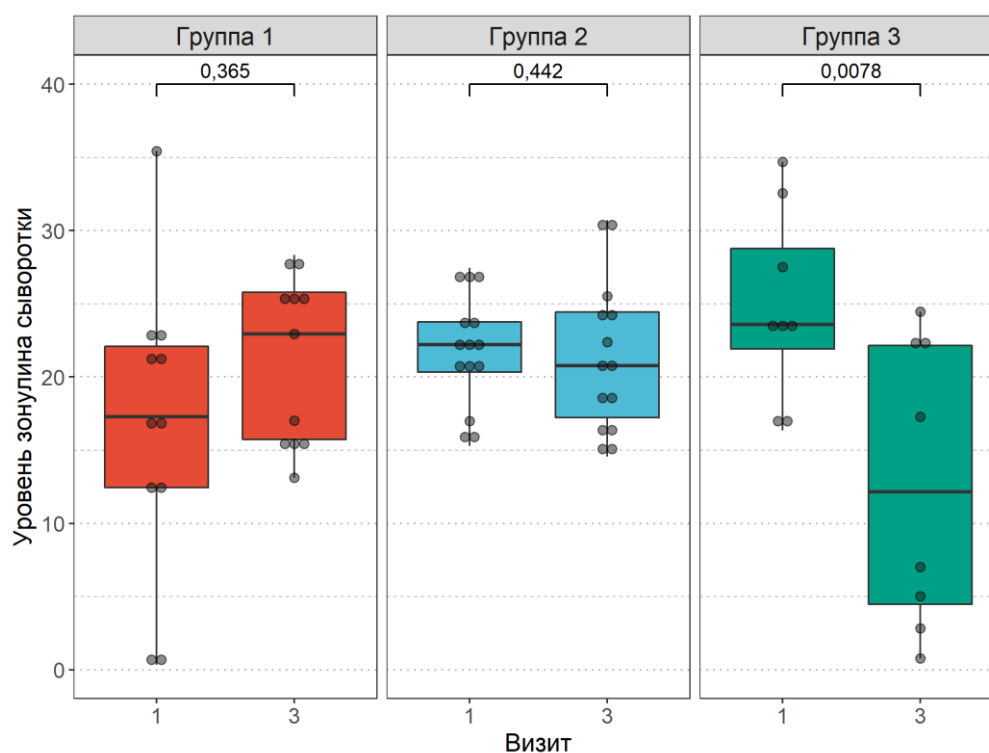


Рисунок 26 - Динамика уровня сывороточного зонулина у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД на фоне лечения

3.2.6 Состояние кишечного микробиома по данным молекулярно-генетического исследования (секвенирование 16S рРНК)

Через 56 дней после начала терапии всем пациентам был проведен забор образцов кала с последующим определением состава кишечной микробиоты путем секвенирования 16S рибосомальной РНК (рРНК). При анализе изменений относительного количества бактерий было установлено, что суммарно в группе больных СРК-Д в сочетании с ФД на уровне типа отмечалось достоверное увеличение содержания бактерий типов *Bacteroidota* ($p=0,05$) и уменьшение содержания бактерий типов *Euryarchaeota* ($p=0,01$), *Proteobacteria* ($p=0,002$) и *Synergistota* ($p=0,002$). В то же время общее содержание бактерий одного из основных типов, *Firmicutes*, уменьшалось незначительно ($p=0,08$).

На уровне класса отмечалось уменьшение содержания бактерий классов *Bacilli* типа *Firmicutes* ($p=0,008$), *Methanobacteria* домена *Archaea* ($p=0,01$), *Gammaproteobacteria* типа *Proteobacteria* ($p=0,002$) и *Synergistia* типа *Synergistota* ($p=0,002$), а также увеличение численности бактерий класса *Bacteroidia* типа *Bacteroidota* ($p=0,06$).

На уровне бактериальных порядков обращало на себя внимание увеличение на фоне лечения относительного содержания бактерий порядков *Bacteroidales* типа *Bacteroidota* ($p=0,005$). В то же время отмечалось снижение относительного содержания бактерий следующих порядков: *Erysipelotrichales* ($p=0,003$), *Staphylococcales* ($p=0,004$) и *Peptococcales* ($p=0,002$) типа *Firmicutes*, *Enterobacterales* ($p=0,002$) и *Pasteurellales* ($p=0,005$) типа *Proteobacteria*, *Methanobacteriales* (домен *Archaea*) ($p=0,01$), *Micrococcales* типа *Actinobacteria* ($p=0,02$) и *Synergistales* типа *Synergistota* ($p=0,002$). Также на фоне лечения у больных СРК-Д и ФД отмечались некоторые изменения относительного содержания определенных семейств бактерий, которые отражены в таблице 26.

Таблица 26 - Динамика изменений состава кишечной микробиоты у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД на фоне лечения

Тип	Семейство	Характер изменения (повышение ↑ /понижение ↓)	p
Actinobacteria	Micrococcaceae	↓	0,02*
Firmicutes	Lactobacillaceae	↓	0,00009*
	Erysipelotrichaceae	↓	0,003*
	Carnobacteriaceae	↓	0,02*
	Gemellaceae	↓	0,03*
	Peptococcaceae	↓	0,02*
	Aerococcaceae	↓	0,03*
Bacteroides	Bacteroidaceae	↑	0,02*
	Tannerellaceae	↑	0,04*
Proteobacteria	Pasteurellaceae	↓	0,005*
	Enterobacteriaceae	↓	0,003*
Synergistetes	Synergistaceae	↓	0,002*

*различия достигли статистически значимого уровня

При анализе изменений внутри групп терапии было установлено, что на уровне типа в группе 1 достоверная динамика повышения содержания бактерий была достигнута для типа *Bacteroidota* ($p=0,02$), а уменьшения содержания – для типа *Synergistota* ($p=0,002$).

В группе 2 отмечалось достоверное уменьшение содержания бактерий типа *Euryarchaeota* ($p=0,02$) и уменьшение содержания бактерий типа *Proteobacteria* ($p=0,008$), в то время как достоверного изменения численности для других семейств достигнуто не было.

В группе 3 у пациентов на фоне лечения не отмечалось достоверной динамики показателей при анализе типов бактерий (рисунок 27).

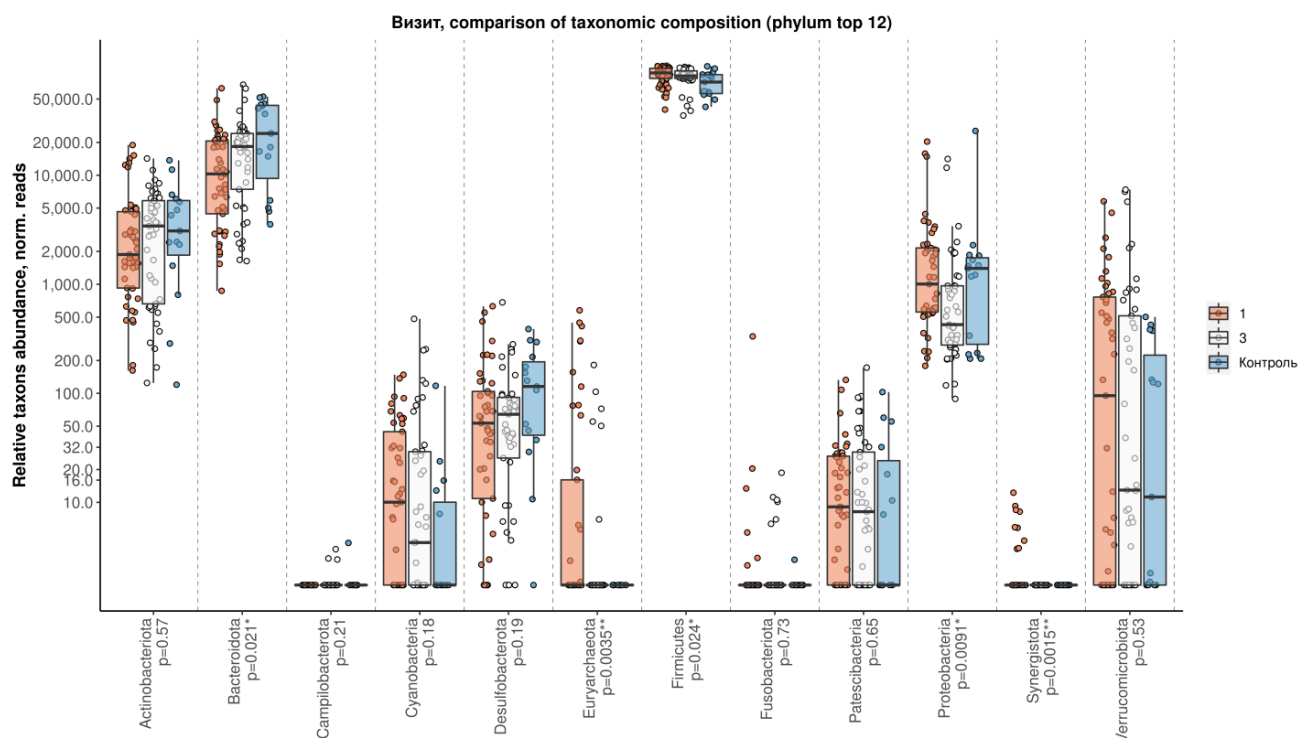


Рисунок 27 - Динамика содержания бактерий различных типов у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД на фоне лечения

На уровне класса у больных группы 1 на фоне лечения отмечалось достоверное уменьшение содержания бактерий класса *Bacilli* типа *Firmicutes* ($p=0,01$), *Methanobacteria* домена *Archaea* ($p=0,02$) и *Gamma*proteobacteria типа *Proteobacteria* ($p=0,007$).

В группе 2 было установлено изменение содержания бактерий классов *Bacteroidia* типа *Bacteroidota* ($p=0,01$) и *Synergistia* типа *Synergistota* ($p=0,04$).

У пациентов группы 3 было выявлено достоверное увеличение содержания бактерий класса *Clostridia* типа *Firmicutes* ($p=0,03$) и *Coriobacteriia* типа *Actinobacteria* ($p=0,01$) (рисунок 28).

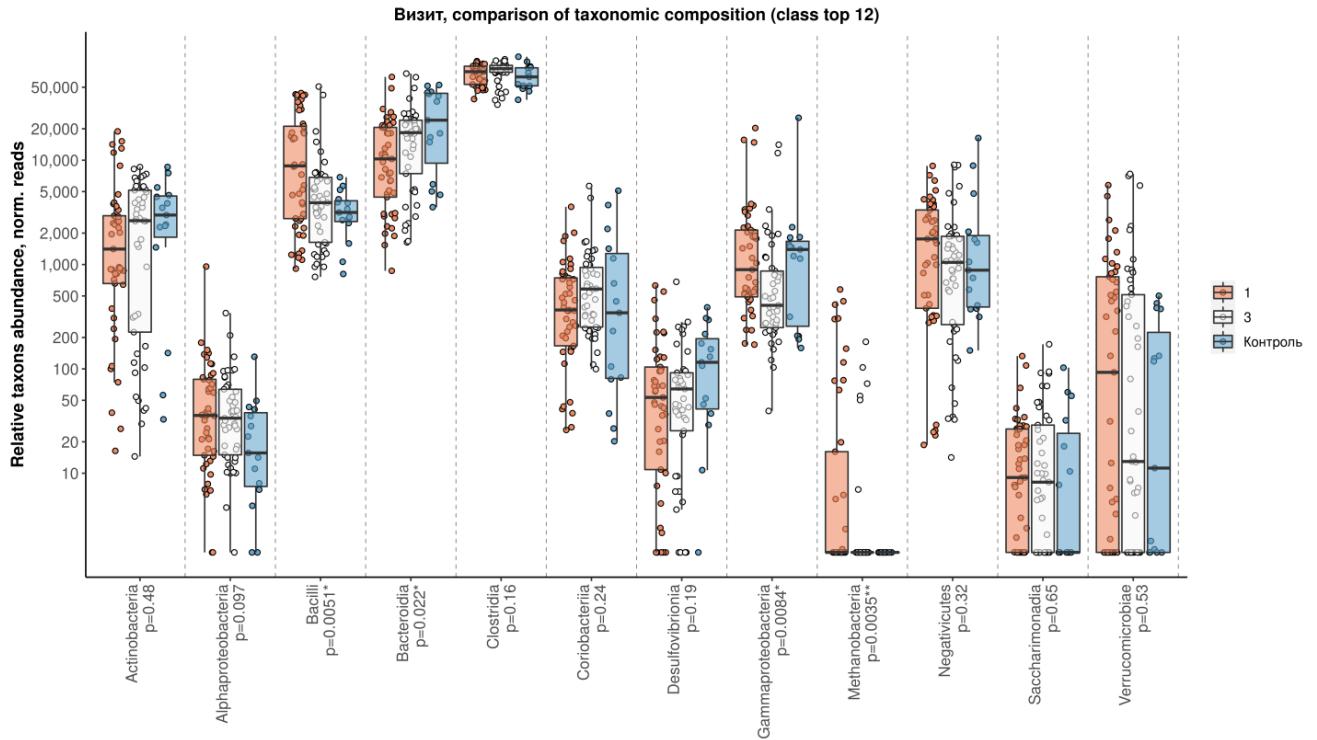


Рисунок 28 - Динамика относительного содержания бактерий различных классов у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД на фоне лечения

3.2.7 Метаболическая активность кишечной микробиоты

Средний уровень абсолютного содержания уксусной кислоты (C2) в группе 1 уменьшился на $0,15 \pm 1,03$ до показателя $1,37 \pm 0,68$ мг/г, в группе 2 на $0,28 \pm 0,78$ до уровня $1,43 \pm 0,71$ мг/г, в группе 3 на $0,05 \pm 1,18$ до уровня $1,46 \pm 0,91$ мг/г.

Все изменения для данной кислоты были статистически незначимы ($p=0,625$, $0,33$ и $0,832$) (рисунок 29).

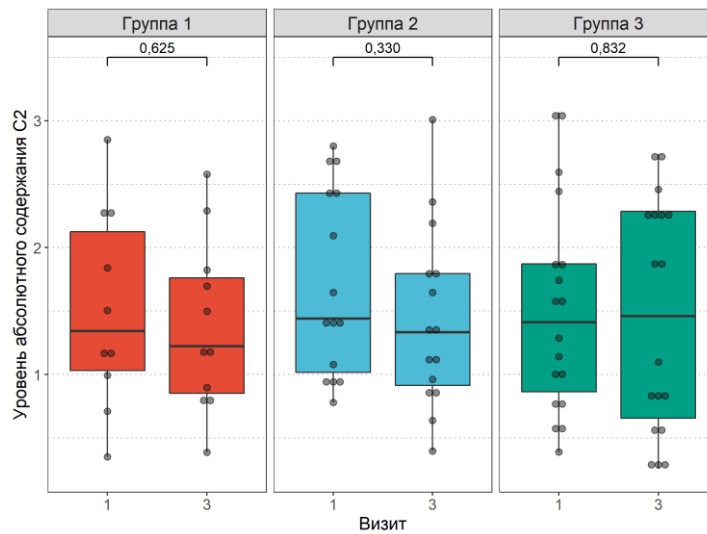


Рисунок 29 - Динамика содержания уксусной кислоты (С2) у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД на фоне лечения

Средний уровень абсолютного содержания пропионовой кислоты (С3) в группе 1 уменьшился на $0,16 \pm 0,64$, до показателя $0,61 \pm 0,36$ мг/г, в группе 2 на $0,07 \pm 0,42$, до $0,65 \pm 0,4$ мг/г, в группе 3 на $0,21 \pm 0,52$, до уровня $0,54 \pm 0,36$ мг/г.

Для пропионовой кислоты изменение показателей также было статически незначимым ($p=0,56$, $0,59$ и $0,13$) (рисунок 30).

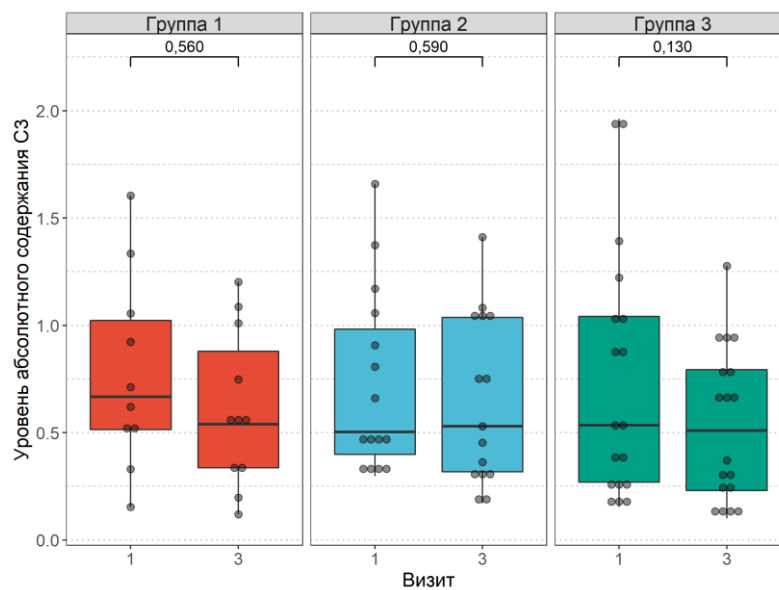


Рисунок 30 - Динамика содержания пропионовой кислоты (С3) у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД на фоне лечения

Средний уровень абсолютного содержания масляной кислоты (С4) в группе 1 уменьшился на $0,07 \pm 0,39$, до показателя $0,47 \pm 0,29$ мг/г, в группе 2 на $0,25 \pm 0,5$, до $0,48 \pm 0,37$ мг/г, в группе 3 показатель увеличился на $0,01 \pm 0,45$, до уровня $0,57 \pm 0,42$ мг/г.

Для масляной кислоты изменение абсолютного содержания кислоты в кале также было статистически незначимым ($p=0,695$, $0,095$ и $0,966$) (рисунок 31).

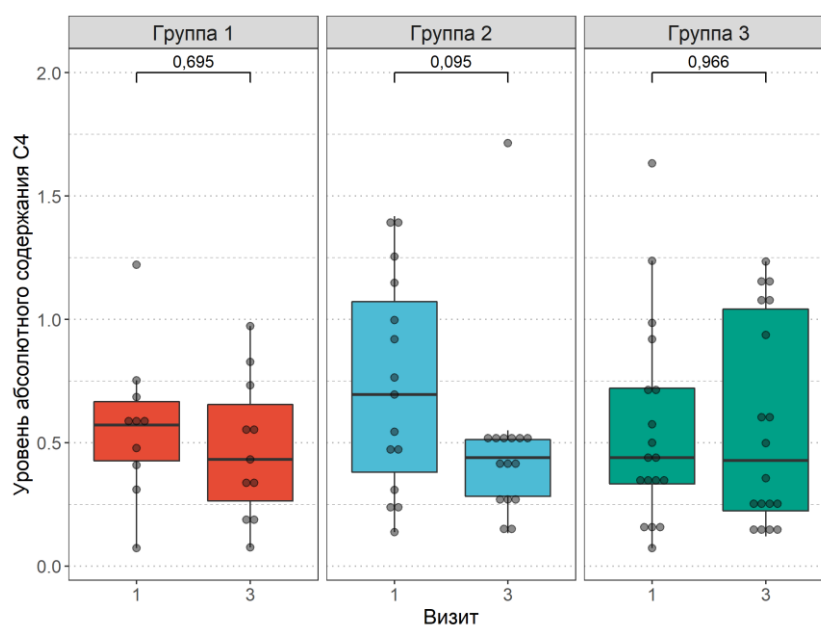


Рисунок 31 - Динамика содержания масляной кислоты (С4) у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД на фоне лечения

Содержание изокилот у пациентов на фоне терапии снизилось в группе 1 на $0,04 \pm 0,19$, до показателя $0,18 \pm 0,03$ мг/г ($p=0,375$), незначительно увеличилось в группе 2 – на $0,02 \pm 0,1$, до $0,22 \pm 0,03$ мг/г ($p=0,679$) и не изменилось в группе 3 – изменение показателя на $0 \pm 0,09$, до уровня $0,16 \pm 0,01$ мг/г ($p=0,966$).

Общее содержание кислот уменьшилось во всех группах терапии: в группе 1 на $0,21 \pm 2,01$, до показателя $2,74 \pm 0,4$ мг/г ($p=0,85$), в группе 2 на $0,59 \pm 1,58$, до показателя $2,89 \pm 0,36$ мг/г ($p=0,33$), в группе 3 на $0,13 \pm 2,09$, до показателя $2,95 \pm 0,47$ мг/г ($p=0,73$).

На фоне терапии значение анаэробного индекса сместилось в сторону более положительных значений в группах 1 и 3 и в сторону более отрицательных в группе 2. В группе 1 показатель увеличился на $0,09 \pm 0,3$, до значения $-0,78 \pm 0,08$ Ед ($p=0,625$), в группе 2 уменьшился на $0,09 \pm 0,3$, до значения $-0,8 \pm 0,06$ Ед ($p=0,89$), в группе 3 увеличился на $0,04 \pm 0,31$ до значения $-0,78 \pm 0,05$ Ед ($p=0,325$).

Указанные изменения отображены в таблице 27.

Таблица 27 - Динамика метаболической активности кишечной микробиоты у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД на фоне лечения

Изоформа	Группа	Визит	Среднее	Медиана	Мин	Макс	SD	p
Уксусная кислота (С2)	1	Визит 1	1,51	1,34	0,35	2,85	0,79	0,625
		Визит 3	1,37	1,22	0,39	2,58	0,68	
	2	Визит 1	1,71	1,44	0,78	2,8	0,73	0,33
		Визит 3	1,43	1,33	0,4	3,01	0,71	
	3	Визит 1	1,51	1,41	0,39	3,07	0,84	0,832
		Визит 3	1,46	1,46	0,26	2,74	0,91	
Пропионовая кислота (С3)	1	Визит 1	0,78	0,67	0,15	1,6	0,45	0,56
		Визит 3	0,61	0,54	0,12	1,2	0,36	
	2	Визит 1	0,72	0,5	0,3	1,66	0,42	0,59
		Визит 3	0,65	0,53	0,17	1,41	0,4	
	3	Визит 1	0,75	0,53	0,15	1,96	0,58	0,13
		Визит 3	0,54	0,51	0,1	1,28	0,36	
Масляная кислота (С4)	1	Визит 1	0,57	0,57	0,07	1,22	0,3	0,695
		Визит 3	0,47	0,43	0,08	0,97	0,29	
	2	Визит 1	0,73	0,7	0,14	1,42	0,43	0,095
		Визит 3	0,48	0,44	0,13	1,71	0,37	
	3	Визит 1	0,56	0,44	0,07	1,63	0,41	0,966
		Визит 3	0,57	0,43	0,12	1,23	0,42	
ИзоСп+изоС4+изоС5+изоС6	1	Визит 1	0,23	0,2	0,06	0,56	0,18	0,375
		Визит 3	0,18	0,16	0,06	0,32	0,09	
	2	Визит 1	0,2	0,18	0,1	0,32	0,06	0,679
		Визит 3	0,22	0,19	0,12	0,52	0,12	
	3	Визит 1	0,16	0,16	0,07	0,27	0,05	0,966
		Визит 3	0,16	0,15	0,07	0,25	0,06	

Продолжение таблицы 27

Изоформа	Группа	Визит	Среднее	Медиана	Мин	Макс	SD	p
Общее содержание кислот	1	Визит 1	2,97	2,73	0,58	5,83	1,81	0,85
		Визит 3	2,74	2,46	0,67	4,84	1,33	
	2	Визит 1	3,48	2,93	1,38	6,09	1,57	0,33
		Визит 3	2,89	2,56	1,17	6,09	1,41	
	3	Визит 1	3,08	2,91	0,82	7,01	1,79	0,73
		Визит 3	2,95	2,64	0,59	6,98	1,98	
Анаэробный индекс	1	Визит 1	-0,96	-1,15	-0,51	-1,03	0,21	0,625
		Визит 3	-0,73	-1,21	-0,47	-0,98	0,27	
	2	Визит 1	-0,82	-1,12	0,82	-0,92	0,46	0,89
		Визит 3	-0,81	-1,27	-0,4	-0,9	0,24	
	3	Визит 1	-0,81	-1,19	-0,36	-1	0,25	0,325

Таким образом, нами, помимо динамики клинических симптомов, определяемой при помощи Опросника «7x7» и GSRs; динамики уровня качества жизни, определяемой при помощи Опросника SF-36, была изучена динамика составляющих, формирующих преэпителиальный (муцин-2), эпителиальный (белки, связывающие жирные кислоты) и субэпителиальный (признаки неспецифического воспаления) уровни слизисто-эпителиального барьера. Также была исследована динамика микробного состава ЖКТ и его метаболической активности у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД на фоне лечения разными группами препаратов.

Краткая информация относительно достоверной динамики показателей в группах пациентов представлена в таблице 28.

Таблица 28 - Достоверная динамика клинических, инструментальных и лабораторных показателей в группах пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД

Показатели	Группа 1 (Тримебутин + плацебо)	Группа 2 (Тримебутин + ребамипид)	Группа 3 (Ребамипид + плацебо)
Средний балл Опросника 7x7	↓	↓	↓
Средний балл Опросника GSRS	↓	↓	↓
Физический компонент здоровья (Опросник SF-36)	↑	↑	↑
Психический компонент здоровья (Опросник SF-36)	↑	↑	↑
Уровень лимфоцитов в слизистой оболочке ДПК		↓	↓
Уровень лимфоцитов в слизистой оболочке сигмовидной кишки			↓
Уровень эозинофилов в слизистой оболочке ДПК	↓	↓	↓
Уровень эозинофилов в слизистой оболочке сигмовидной кишки		↓	↓
Уровень FABP-1 (l-FABP) в слизистой оболочке ДПК			↓
Уровень FABP-2 (i-FABP) в слизистой оболочке ДПК			↓
Уровень FABP-1 (l-FABP) в слизистой оболочке сигмовидной кишки		↓	
Уровень муцина-2 в слизистой оболочке ДПК	↓	↓	↓
Уровень муцина-2 в слизистой оболочке сигмовидной кишки	↓		
Уровень зонулина в сыворотке крови			↓

3.3 Корреляционный анализ

Положительная корреляция наблюдалась между степенью лимфоцитарной инфильтрации слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки и выраженностью жалоб согласно среднему баллу Опросника 7x7 ($r=0,26$ (слабая сила связи), $p=0,04$) и согласно Опроснику GSRS ($r=0,29$ (слабая сила связи), $p=0,02$).

Также была установлена достоверная прямая связь между выраженностью жалоб, установленной по среднему баллу Опросника GSRS, и степенью лимфоцитарной инфильтрации слизистой оболочки сигмовидной кишки ($r=0,27$ (слабая сила связи), $p=0,04$).

Положительная прямая корреляционная связь отмечалась для выраженности эозинофильной инфильтрации двенадцатиперстной кишки и наличием неоформленного стула по данным Опросника 7x7 ($r=0,37$ (умеренная сила связи), $p=0,0004$).

Была установлена положительная корреляционная связь между наличием диареи по данным Опросника GSRS и уровнем FABP-2 в двенадцатиперстной кишке ($r=0,29$ (слабая сила связи), $p=0,03$) и FABP-1 в сигмовидной кишке ($r=0,49$ (умеренная сила связи), $p=0,003$). Кроме того, более высокий уровень FABP-5 в двенадцатиперстной кишке был достоверно ассоциирован с частотой стула более 3 раз в день по данным Опросника 7x7 ($r=0,28$ (слабая сила связи), $p=0,04$).

Также для уровня лимфоцитов в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки было установлено наличие положительной корреляционной связи с абсолютным содержанием масляной кислоты ($r=0,28$ (слабая сила связи), $p=0,005$), изокилот ($r=0,25$ (слабая сила связи), $p=0,01$) и общим содержанием КЦЖК ($r=0,21$ (слабая сила связи), $p=0,03$).

Корреляционный анализ также показал наличие следующих взаимосвязей между полученными показателями и основными типами бактерий кишечной микробиоты.

При анализе качества жизни было установлено наличие отрицательной корреляции между интенсивностью боли и количеством бактерий типов *Verrucomicrobiota* ($r=-0,38$ (умеренная сила связи), $p=0,03$), *Firmicutes* ($r=-0,39$ (умеренная сила связи), $p=0,03$) и *Fusobacteriota* ($r=-0,35$ (умеренная сила связи), $p=0,05$). Для типа *Euryarchaeota* было установлено наличие достоверной положительной связи с показателем «физический компонент здоровья» опросника SF-36 ($r=0,42$ (умеренная сила связи), $p=0,02$).

При анализе выраженности жалоб было установлено наличие положительной корреляции между уровнем *Cyanobacteria* и суммой баллов по данным опросников GSRS ($r=0,35$ (умеренная сила связи), $p=0,04$).

Содержание бактерий типа *Euryarchaeota* было достоверно ассоциировано с уровнем FABP-2 в двенадцатиперстной кишке ($r=0,35$ (умеренная сила связи), $p=0,05$), в то время как для типа *Actinobacteria* было установлено наличие отрицательной корреляционной связи ($r=-0,42$ (умеренная сила связи), $p=0,02$).

Наибольшая частота корреляционных связей была установлена для определенных типов бактерий и показателей метаболического профиля. Данные приведены в таблице 29.

Таблица 29 - Корреляция типов кишечной микробиоты и компонентов, отображающих метаболическую активность

Тип	Показатель					
	Абс. содержание С2	Абс. содержание С3	Абс. содержание С4	Абс. содержание изокислот	Общее содержание кислот	Анаэробный индекс
Bacteroidota						$r=0,58$ $p=0,0002^*$
Cyanobacteria		$r=0,3$ $p=0,05^*$	$r=0,3$ $p=0,04^*$			

Продолжение таблицы 29

Тип	Показатель					
	Абс. содержание C2	Абс. содержание C3	Абс. содержание C4	Абс. содержание изокислот	Общее содержание кислот	Анаэробный индекс
Euryarchaeota	r=-0,42 p=0,004 *	r=-0,33 p=0,03*	r=-0,32 p=0,03*		r=-0,36 p=0,02*	
Firmicutes						r=-0,52 p=0,000 3*
Fusobacteriota				r=0,58 p=0,000 02*		
Patescibacteria		r=0,56 p=0,000 06*		r=0,40 p=0,007 *	r=0,34 p=0,02*	r=-0,34 p=0,02*
Verrucomicrobiota				r=0,50 p=0,000 4*		

*различия достигли статистически значимого уровня

Таким образом, было установлено, что наличие неспецифического воспаления слизистой оболочки тонкой и толстой кишки (являющейся субэпителиальным уровнем слизисто-эпителиального барьера) и повышение содержания белков, связывающих жирные кислоты (являющихся частью эпителиального уровня слизисто-эпителиального барьера) ассоциировано с выраженностью жалоб у больных СРК-Д и ФД.

Изменения состава кишечной микробиоты также коррелируют с выраженностью жалоб и качеством жизни больных СРК-Д и ФД, а также с уровнем белков, связывающих жирные кислоты, в слизистой оболочке тонкой кишки и с показателями, отражающими метаболическую функцию микробиоты.

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

Клинический пример 1

Пациентка Т., 31 года, обратилась в клинику пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии им. В.Х. Василенко с жалобами на неоформленный стул до 3 раз в день (ночной диареи нет), без патологических примесей; ноющую боль в эпигастрии, возникающую через полчаса после еды, купирующуюся приемом спазмолитиков, тошноту после еды.

Из анамнеза известно, что эпизоды неоформленного стула и боли в эпигастрии, иногда сопровождающиеся тошнотой и рвотой, беспокоили пациентку со студенческого возраста. По этому поводу эпизодически принимала спазмолитики, с кратковременным эффектом. За несколько месяцев до госпитализации, после перенесенного стресса, жалобы усилились, в связи с чем обратилась в клинику.

Объективно: состояние относительно удовлетворительное. Сознание ясное. Рост 172 см, вес 70 кг. Температура тела 36,6 градусов. Кожные покровы нормальной окраски и достаточной влажности. Отеков нет. Над легкими дыхание везикулярное, хрипов нет. ЧД 16 ударов в минуту. Пульс = ЧСС = 78 ударов в минуту. АД 105 и 80 мм рт.ст. Живот мягкий, при пальпации чувствительный в нижних отделах, больше слева. Симптомов раздражения брюшины нет. Печень не увеличена. Симптом поколачивания отрицательный с обеих сторон. Диурез не нарушен.

На основании жалоб, анамнеза заболевания, данных объективного осмотра пациентке был установлен предварительный диагноз: синдром раздраженного кишечника, вариант с преобладанием диареи. Функциональная диспепсия.

Пациенткой было подписано информированное согласие на участие в исследовании и заполнены опросники для оценки выраженности жалоб и качества жизни.

По данным опросника GRSR результат составил 30 баллов. По данным Опросника 7x7 суммарный балл составил 15 баллов, что соответствовало умеренному расстройству. По данным опросника SF-36: психический компонент здоровья – 43 балла, физический компонент здоровья – 49 баллов; физическое функционирование – 95 баллов, ролевое функционирование, обусловленное физическим состоянием – 100 баллов, интенсивность боли – 51 баллов, общее состояние здоровья – 57 баллов, жизненная активность – 55 баллов, социальное функционирование – 62,5 баллов, ролевое функционирование, обусловленное эмоциональным состоянием – 66 баллов, психическое здоровье – 72 баллов. Данные опросника подтверждали наличие у пациентки снижения качества жизни, в большей степени обусловленное физическим компонентом.

При обследовании:

Клинический, биохимический анализы крови, анализы мочи и кала: без отклонений от нормальных значений.

Анализ состава кишечной микробиоты (в сравнении со средними показателями группы контроля): уменьшение содержания бактерий типа *Bacteroidota* (в основном за счет семейства *Bacteroidaceae*) и *Proteobacteria*, практически в два раза, увеличение содержания бактерий типа *Firmicutes* (в том числе за счет относящегося к ним семейства *Erysipelatoclostridiaceae*) и *Verrucomicrobiota* (в большей степени за счет семейства *Akkermansiaceae*). Также обращало внимание снижение содержания бактерий семейства *Lactobacillaceae* (тип *Firmicutes*) более чем в десять раз в сравнении с показателями контроля.

Оценка метаболической функции кишечной микробиоты: исходное абсолютное содержание уксусной кислоты- 1,984 мг/г (контроль –0,93 мг/г; здесь и далее в скобках указан средний показатель группы контроля), пропионовой кислоты –1,213 мг/г (контроль – 0,37 мг/г), масляной –0,439 мг/г (контроль – 0,24 мг/г), изокилот - 0,161 мг/г (контроль – 0,14 мг/г). Следовательно, у пациентки отмечалось увеличение содержания основных типов КЦЖК в сравнении со средними показателями группы контроля, полученными в настоящем

исследовании, и уровень изокислот, сопоставимый с нормальными значениями. Суммарное содержание КЦЖК составило 3,94 мг/г (контроль – 1,81 мг/г), что также превышало значение у здоровых лиц. Анаэробный индекс был равен -0,833 Ед (контроль - -0,69 Ед), что указывало на угнетение популяции строгой анаэробной микрофлоры.

УЗИ органов брюшной полости: без патологии.

ЭГДС: хронический гастрит, *Helicobacter pylori*-негативный, взята биопсия слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки.

Колоноскопия: слизистая оболочка толстой кишки и осмотренных 20 сантиметров подвздошной кишки - без патологии; взята биопсия слизистой оболочки сигмовидной кишки.

Морфологическое исследование:

Двенадцатиперстная кишка: количество лимфоцитов в слизистой оболочке - до 10 на 100 эпителиоцитов в поле зрения (контроль 5-15 на 100), среднее содержание эозинофилов – 4,8 (контроль 3,1); содержание белка FABP-1 в слизистой оболочке - 53,5% (контроль 24,26%), FABP-2 – 9,4% (контроль 4,06%), FABP-5 - 14,7% (контроль 13,14%); ИГХ окрашивание на MUC-2 - фокальное окрашивание в вакуолях, фокальная цитоплазматическая реакция в 50% бокаловидных клеток (контроль 11-25%).

Сигмовидная кишка: количество лимфоцитов в слизистой оболочке - до 15 на 100 эпителиоцитов в поле зрения (контроль 0-5 на 100), среднее содержание эозинофилов – 4,4 (контроль 2,31); уровень белка FABP-1 - 20,8% (контроль 6,88%), FABP-5 – 4,7% (контроль 7,98%); ИГХ окрашивание на MUC-2 - отсутствие окрашивания в вакуолях, фокальная цитоплазматическая реакция в 5% бокаловидных клеток (контроль 1-25%).

Серологическое исследование: исходный уровень зонулина сыворотки крови составил 17,28 нг/мл (контроль – 22,4 нг/мл).

Клинический диагноз: Синдром раздраженного кишечника, вариант с преобладанием диареи. Функциональная диспепсия.

Таким образом, у пациентки отмечались умеренно выраженные жалобы, вызывающие снижение качества жизни; измененный состав кишечной микробиоты и нарушение ее метаболической активности; признаки умеренного воспаления слизистой оболочки ЖКТ, обусловленного нарушением проницаемости слизисто-эпителиального барьера.

Методом случайной рандомизации пациентка была распределена в группу 1, и ей была назначена терапия тримебутином 200 мг 3 раза в сутки в сочетании с плацебо продолжительностью 56 дней.

Динамика на фоне лечения через 56 дней:

Клинически отмечалось сохранение на фоне лечения эпизодов неоформленного стула до 2 раз в сутки, который пациентка отмечала 2-3 раза в неделю. Остальные жалобы не беспокоили.

При анализе результатов опросников было установлено, что у пациентки отмечалась некоторая положительная динамика, однако полной нормализации состояния на фоне терапии достичь не удалось. Подробная динамика показателей указана в таблице 30.

Таблица 30 – Динамика результатов опросников GSRS, 7x7 и The SF-36 пациентки Т. на фоне лечения

Показатель		До лечения, балл	Через 28 дней после начала лечения, балл	Через 56 дней после начала лечения, балл
GSRS		30	25	17
7x7		15	7	5
The SF-36	Психич. компонент здоровья	43	48	54
	Физич. компонент здоровья	49	52	53
	Физич. функционирование	95	100	100

Продолжение таблицы 30

The SF-36	Ролевое функционирование, обусловленное физич. состоянием	100	100	100
	Интенсивность боли	51	74	80
	Общее сост. здоровья	57	62	67
	Жизненная активность	55	70	70
	Социал. функционирование	62,5	75	87,5
	Ролевое функционирование, обусловленное эмоциональным состоянием	66	66	100
	Психическое здоровье	72	84	84

При обследовании:

Анализ состава кишечной микробиоты: содержание бактерий типа *Verrucomicrobiota* незначительно уменьшилось относительно исходных значений, в то время как относящееся к данному типу семейство *Akkermansiaceae* количественно увеличилось. Также отмечалось снижение количества бактерий типов *Proteobacteria* и *Actinobacteria* в кале. Количество бактерий семейства *Erysipelatoclostridiaceae* сохранялось в практически неизменных значениях. Уровень *Lactobacillaceae* практически не изменился.

Оценка метаболической функции кишечной микробиоты: уменьшение абсолютного содержания уксусной кислоты до 0,275 мг/г (контроль – 0,93 мг/г), пропионовой кислоты до 0,117 мг/г (контроль – 0,37 мг/г), масляной кислоты до 0,107 мг/г (контроль – 0,23 мг/г), изокилот до 0,075 мг/г (контроль – 0,14 мг/г), что указывало на улучшение метаболической активности кишечной микробиоты. В то же время анаэробный индекс практически не изменился и составил -0,812 после лечения (контроль - -0,69 Ед).

ЭГДС: слизистая оболочка пищевода, желудка и двенадцатиперстной кишки без патологии; взята биопсия слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки.

Колоноскопия: слизистая оболочка толстой кишки и осмотренных 20 сантиметров подвздошной кишки - без патологии; взята биопсия слизистой оболочки сигмовидной кишки.

Морфологическое исследование:

Двенадцатиперстная кишка: количество лимфоцитов в слизистой оболочке - до 10 на 100 эпителиоцитов в поле зрения (контроль 5-15 на 100), среднее содержание эозинофилов – уменьшилось до 3,6 (контроль 3,1); содержание белка FABP-1 в слизистой оболочке – уменьшилось до 31,5% (контроль 24,26%), FABP-2 – до 2,5% (контроль 4,06%), FABP-5 – до 4,3% (контроль 13,14%); ИГХ окрашивание на MUC-2 - фокальное окрашивание в вакуолях, фокальная цитоплазматическая реакция на MUC-2 в 10% бокаловидных клеток (контроль 11-25%).

Сигмовидная кишка: количество лимфоцитов в слизистой оболочке - до 15 на 100 эпителиоцитов в поле зрения (контроль 0-5 на 100), среднее содержание эозинофилов – 4,2 (контроль 2,31); уровень белка FABP-1 – 19,9% (контроль 6,88%), FABP-5 – 5,4% (контроль 7,98%); ИГХ окрашивание на MUC-2 - отсутствие окрашивания в вакуолях, фокальная цитоплазматическая реакция в 10% бокаловидных клеток (контроль 1-25%).

Серологическое исследование: уровень зонулина в сыворотке крови на фоне лечения практически не изменился и составил 22,94 нг/мл.

Таким образом, у пациентки Т., страдающей СРК-Д в сочетании с ФД, с жалобами на неоформленный стул и боль в эпигастрии и тошноту, которые приводили к снижению качества жизни, при морфологическом исследовании было выявлено воспаление слизистой оболочки двенадцатиперстной и сигмовидной кишки признаки нарушения проницаемости слизисто-эпителиального барьера ЖКТ; также отмечалось изменение состава кишечной микробиоты,

проявляющееся в увеличении содержания условно-патогенных и уменьшении содержания комменсальных микроорганизмов, в том числе анаэробов семейства *Lactobacillaceae*. На фоне монотерапии препаратом, действие которого направлено на восстановление моторики ЖКТ, у пациентки была зафиксирована положительная динамика, однако отмечались эпизоды диареи. Кроме того, на фоне лечения сохранялись признаки неспецифического воспаления слизистой оболочки сигмовидной кишки, а уровень мембранных белков слизистой оболочки и муцинов слизи приблизился к показателям здоровых лиц только в двенадцатиперстной кишке, не изменившись в сигмовидной кишке. Состав кишечной микробиоты на фоне лечения также значительно не изменился, и у пациентки сохранялись некоторые отклонения в показателях метаболической активности, ассоциированные с угнетением анаэробной флоры. Таким образом, данное наблюдение подтвердило, что у пациентов с СРК-Д и ФД отмечается изменение состава микробиоты и строения слизисто-эпителиального барьера ЖКТ, однако монотерапии регуляторами моторики, которые не оказывают патогенетического действия на слизисто-эпителиальный барьер ЖКТ, недостаточно для достижения полной ремиссии заболевания.

Клинический пример 2

Пациент Р., 25 лет, обратился в клинику пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии им. В.Х. Василенко с жалобами на ноющую боль в нижних отделах живота до 5 баллов по визуально-аналоговой шкале, уменьшающуюся после дефекации, ежедневный неоформленный стул до 5 раз в сутки (ночной диареи нет), без примесей, вздутие живота, чувство быстрого насыщения после еды.

Из анамнеза известно, что боль в животе и неоформленный стул беспокоят пациента приблизительно с 14 лет, чаще – на фоне психоэмоциональных перегрузок. Самостоятельно принимал спазмолитики, противодиарейные

препараты - с кратковременным эффектом. Ухудшение самочувствия отметил за 3 месяца до госпитализации, после стресса, когда боль в животе и неоформленный стул начали беспокоить регулярно, в связи с чем обратился в клинику.

При объективном осмотре: состояние относительно удовлетворительное. Рост 179 см, вес 65 кг. ИМТ=20,29 кг/м². Температура тела 36,5 градусов. Кожные покровы обычной окраски. Над легкими везикулярное дыхание, хрипы не выслушиваются. ЧДД 17 в минуту. Тоны сердца ясные, ритмичные. Пульс=ЧСС=68 ударов в минуту. АД 120 и 80 мм рт. ст. Живот умеренно вздут, при пальпации мягкий, чувствительный в нижних отделах. Симптомы раздражения брюшины отрицательные. Печень – у края реберной дуги. Селезенка не пальпируется. Симптом поколачивания отрицательный с обеих сторон. Отеков нет.

На основании жалоб, анамнеза заболевания, данных объективного осмотра пациенту был установлен предварительный диагноз: Синдром раздраженного кишечника, вариант с преобладанием диареи. Функциональная диспепсия.

Пациент подписал информированное согласие на участие в исследовании и заполнил опросники для оценки выраженности жалоб и качества жизни.

По данным опросника GRSR результат составил 42 балла. По данным опросника 7x7 суммарный балл составил 26 баллов, что соответствовало тяжелому расстройству. По данным опросника The SF-36 были зафиксированы следующие показатели: психический компонент здоровья – 27 баллов, физический компонент здоровья – 49 баллов; физическое функционирование – 86 баллов, ролевое функционирование, обусловленное физическим состоянием – 75 баллов, интенсивность боли – 22 балла, общее состояние здоровья – 72 балла, жизненная активность – 30 баллов, социальное функционирование – 50 баллов, ролевое функционирование, обусловленное эмоциональным состоянием – 66 баллов, психическое здоровье – 16 баллов. Следовательно, у пациента с выраженной клинической картиной заболевания отмечается значительное

снижения качества жизни относительно физического и психического компонентов здоровья.

При обследовании:

Клинический, биохимический анализы крови, анализы мочи и кала: без отклонений.

Анализ состава кишечной микробиоты (в сравнении со средними показателями группы контроля): уменьшение содержания бактерий типа *Bacteroidota* (включая семейство *Bacteroidaceae*) и *Proteobacteria*, увеличение содержания бактерий типа *Verrucomicrobiota* (включая повышение содержания семейства *Akkermansiaceae*) и *Desulfobacterota*. На уровне семейства - увеличение содержания бактерий *Bifidobacteriaceae* (тип *Actinobacteria*) и *Veillonellaceae* (тип *Firmicutes*).

Оценка метаболической функции кишечной микробиоты: содержание уксусной кислоты - 2,267 мг/г (контроль – 0,93 мг/г), пропионовой кислоты - 0,947 мг/г (контроль – 0,37 мг/г), масляной - 1,078 мг/г (контроль – 0,24 мг/г), изокилот - 0,251 мг/г (контроль – 0,14 мг/г), суммарное содержание КЦЖК - 4,709 мг/г (контроль – 1,81 мг/г). Анаэробный индекс был равен -0,893 Ед (контроль - -0,69 Ед). Соответственно, у пациента отмечается изменение метаболической активности микробиоты и признаки угнетения популяции строгой анаэробной микрофлоры.

УЗИ органов брюшной полости: УЗ признаки деформации желчного пузыря.

ЭГДС: хронический гастрит, *Helicobacter pylori*-негативный, взята биопсия слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки.

Колоноскопия: слизистая оболочка толстой кишки и осмотренных 20 сантиметров подвздошной кишки - без патологии; взята биопсия слизистой оболочки сигмовидной кишки.

Морфологическое исследование:

Двенадцатиперстная кишка (рисунок 32): количество лимфоцитов в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки - до 15 на 100 эпителиоцитов в поле зрения) (контроль 5-15 на 100), среднее содержание эозинофилов – 3,8 (контроль 4,1); содержание белка FABP-1 - 34,8% (контроль 24,26%), FABP-2 - 1,2% (контроль 4,06%), FABP-5 - 11,5% (контроль 13,14%); ИГХ окрашивание на MUC-2 - фокальное окрашивание в вакуолях, фокальная цитоплазматическая реакция в 60% бокаловидных клеток (рисунок 30, часть 2).

Сигмовидная кишка: количество лимфоцитов в слизистой оболочке - до 25 на 100 эпителиоцитов в поле зрения (контроль 0-5 на 100), среднее содержание эозинофилов – 3,2 (контроль 2,31); уровень белка FABP-1 - 8,5% (контроль 6,88%), FABP-5 – 13,7% (контроль 7,98%); ИГХ окрашивание на MUC-2 - отсутствие окрашивания в вакуолях, фокальная цитоплазматическая реакция в 20% бокаловидных клеток.

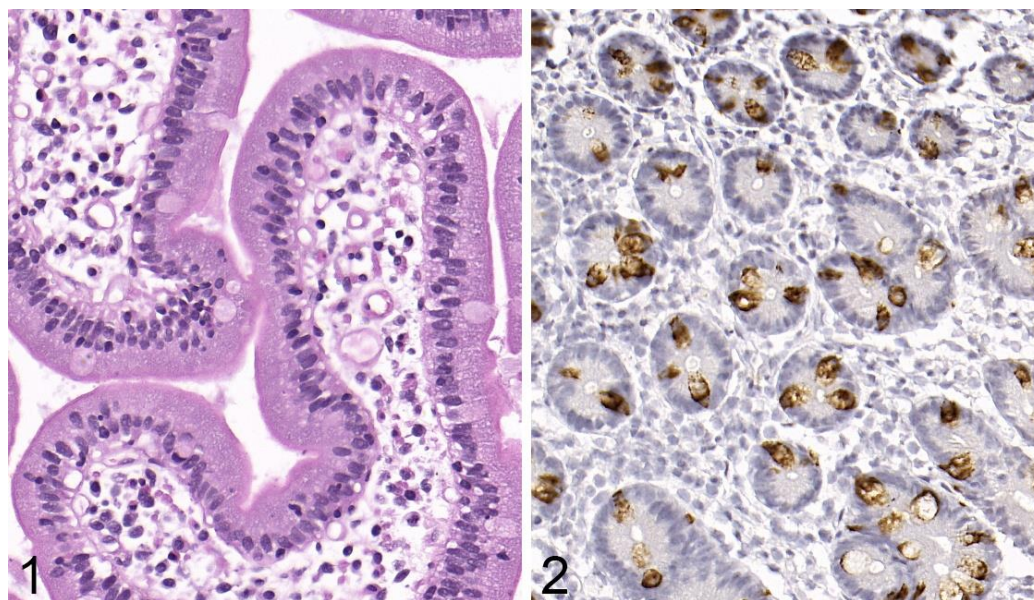


Рисунок 32 - Биоптат слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки пациента Р., 25 лет.

Увеличение x400

1 – окрашивание гематоксилин-эозином; лимфоцитарная и эозинофильная инфильтрация слизистой оболочки; 2 – иммуногистохимическое окрашивание; количество иммунореактивных бокаловидных клеток – 60%.

Серологическое исследование: зонулин сыворотки крови - 27,52 нг/мл (контроль – 22,4 нг/мл).

Клинический диагноз: Синдром раздраженного кишечника, вариант с преобладанием диареи. Функциональная диспепсия.

У данного пациента отмечались значительно выраженные жалобы, вызывающие снижение качества жизни; измененный состав кишечной микробиоты и нарушение ее метаболической активности; признаки воспаления слизистой оболочки ЖКТ, обусловленного нарушением проницаемости слизисто-эпителиального барьера.

Методом случайной рандомизации пациент был распределен в группу 3, и ему была назначена терапия ребамипидом 100 мг 3 раза в сутки в сочетании с плацебо продолжительностью 56 дней.

Динамика на фоне лечения через 56 дней:

Жалобы не беспокоили.

При анализе результатов опросников было установлено, что выраженность симптомов значительно снизилась. У данного пациента отмечалась нормализация всех исследуемых клинических показателей.

Динамика показателей приведена в таблице 31.

Таблица 31 – Динамика результатов опросников GSRS, 7x7 и The SF-36 пациента Р. на фоне лечения

Показатель		До лечения, балл	Через 28 дней после начала лечения, балл	Через 56 дней после начала лечения, балл
GSRS		42	31	23
7x7		26	8	0
The SF-36	Психич. компонент здоровья	27	40	43
	Физич. компонент здоровья	49	61	58
	Физич. функционирование	86	100	100

Продолжение таблицы 31

The SF-36	Ролевое функционирование, обусловленное физич. состоянием	75	100	100
	Интенсивность боли	22	84	84
	Общее сост. здоровья	72	87	82
	Жизненная активность	30	50	50
	Социал. функционирование	50	75	62,5
	Ролевое функционирование, обусловленное эмоциональным состоянием	66	100	100
	Психическое здоровье	16	48	64

При обследовании:

Клинический, биохимический анализы крови, анализы мочи и кала: без отклонений.

УЗИ ОБП, ЭГДС, колоноскопия: без патологии.

Анализ состава кишечной микробиоты: в составе кишечной микробиоты сохранялось увеличение содержания бактерий типа *Desulfobacterota*, в то время как содержание типов *Bacteroidota* (в том числе снизилось содержание бактерий семейства *Bacteroidaceae*, которые являются продуцентами бутирата), *Actinobacteria* (в том числе семейства *Bifidobacteriaceae*) и *Verrucomicrobiota* (включая семейство *Akkermansiaceae*) уменьшилось. Также отмечалось увеличение содержания бактерий семейства *Lachnospiraceae* (анаэробные бактерии типа *Firmicutes*).

Оценка метаболической функции кишечной микробиоты: уменьшение абсолютного содержания уксусной кислоты до 0,999 мг/г (контроль – 0,93 мг/г), пропионовой кислоты до 0,947 мг/г (контроль – 0,37 мг/г), масляной кислоты до 0,345 мг/г (контроль – 0,23 мг/г), изокилот до 0,169 мг/г (контроль – 0,14 мг/г), суммарное содержание кислот до 1,875 мг/г (контроль – 1,81 мг/г). Уровень

ацетата уменьшился до показателей, сопоставимого с группой контроля, в то время как для пропионата и бутирата сохранялось некоторое превышение показателей контроля. Анаэробный индекс сместился в сторону более положительных значений до уровня -0,642 Ед (контроль - -0,69 Ед), что было сопоставимо с увеличением содержания бактерий-анаэробов.

ЭГДС: слизистая оболочка пищевода, желудка и двенадцатиперстной кишки без патологии; взята биопсия слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки.

Колоноскопия: слизистая оболочка толстой кишки и осмотренных 20 сантиметров подвздошной кишки - без патологии; взята биопсия слизистой оболочки сигмовидной кишки.

Морфологическое исследование:

Двенадцатиперстная кишка: количество лимфоцитов в слизистой оболочке - до 15 на 100 эпителиоцитов в поле зрения (контроль 5-15 на 100, ранее у пациента до 25 на 100), среднее содержание эозинофилов – уменьшилось до 3,4 (контроль 3,1); содержание белка FABP-1 в слизистой оболочке – уменьшилось до 18,8% (контроль 24,26%), FABP-2 – до 0,9% (контроль 4,06%), FABP-5 составил 12,7%, практически не изменившись (контроль 13,14%); ИГХ окрашивание на MUC-2 - фокальное окрашивание в вакуолях, фокальная цитоплазматическая реакция в 10% бокаловидных клеток (контроль 11-25%).

Сигмовидная кишка: количество лимфоцитов в слизистой оболочке - до 15 на 100 эпителиоцитов в поле зрения (контроль 0-5 на 100, ранее у пациента до 25 на 100), среднее содержание эозинофилов – 2,2 (контроль 2,31); уровень белка FABP-1 – 8,6% (контроль 6,88%), FABP-5 – 8,2% (контроль 7,98%); ИГХ окрашивание на MUC-2 - отсутствие окрашивания в вакуолях, фокальная цитоплазматическая реакция в 3% бокаловидных клеток (контроль 1-25%).

Серологическое исследование: уровень зонулина сыворотки крови - 24,46 нг/мл (контроль – 22,4 нг/мл).

Таким образом, у данного пациента был диагностирован СРК-Д в сочетании с ФД, проявляющийся выраженными жалобами, которые приводили к значительному снижению качества жизни. У больного Р. были выявлены признаки нарушения слизисто-эпителиального барьера на трех уровнях – увеличение содержания гликопротеинов слизи, изменение количества белков, связывающих жирные кислоты, и признаки достаточно выраженного неспецифического воспаления. Состав кишечной микробиоты у пациента также был значительно изменен в сторону угнетения анаэробной флоры и увеличения содержания условно-патогенных штаммов, что обуславливало нарушение метаболической активности микроорганизмов. Назначение терапии, направленной на целостность слизисто-эпителиального барьера, привело к восстановлению слизисто-эпителиального барьера ЖКТ и нормализации состава кишечной микробиоты, что вызвало уменьшение клинических проявлений заболеваний.

Приведенные клинические наблюдения подтверждают вовлечение проницаемости слизисто-эпителиального барьера ЖКТ и кишечной микробиоты в патогенез и развитие СРК-Д и ФД, и также показывают эффективность включения препарата, влияющего на проницаемость слизисто-эпителиального барьера ЖКТ, в схему лечения пациента с СРК-Д в сочетании с ФД.

ГЛАВА 4 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В настоящее время повышенная проницаемость слизисто-эпителиального барьера ЖКТ и изменение состава кишечной микробиоты рассматриваются как ключевые звенья патогенеза СРК-Д и ФД. Предположительно, изменение проницаемости барьера, обусловленное в том числе снижением содержания мембранных белков, приводит к изменению микробного состава толстой кишки, развитию воспаления в кишечной стенке, что вызывает изменение чувствительности и моторики ЖКТ [91].

Исследований, в которых у пациентов с СРК-Д и ФД изучались взаимосвязь жалоб, нарушений слизисто-эпителиального барьера тонкой и толстой кишки, выраженности воспаления слизистой оболочки ЖКТ, изменения состава кишечной микробиоты и ее метаболической активности пока недостаточно. Проведенные ранее исследования демонстрировали наличие у больных СРК-Д и ФД повышенной проницаемости слизисто-эпителиального барьера ЖКТ за счет изменения содержания формирующих его отдельных компонентов, а также нарушения состава кишечной микробиоты, однако ввиду малого количества исследований и небольшой выборки пациентов, включенных в них, эти данные нуждаются в уточнении. [57, 91]. Несмотря на то, что нарушенная проницаемость слизисто-эпителиального барьера ЖКТ рассматривается как часть патогенеза СРК, препараты, направленные на восстановление нормальной функции слизисто-эпителиального барьера, в России пока не включены в клинические рекомендации по лечению данного заболевания [3]. Кроме того, достоверность применения неинвазивных методов диагностики повышенной проницаемости – таких как определение уровня сывороточного зонулина, – также подлежит сомнению, так как результаты различных исследований противоречат друг другу [23, 120].

В ходе настоящего исследования была проведена оценка качества жизни и выраженности жалоб у больных с СРК-Д и ФД. Для определения интенсивности жалоб были использованы Опросники 7x7 и GSRS, показавшие эффективность

воценке состояния пациентов с данными заболеваниями [7, 58, 81]. Установлено, что у большинства больных с СРК-Д и ФД отмечается умеренно выраженная интенсивность симптомов. Также у обследованных пациентов, согласно опроснику The SF-36, было выявлено снижение качества жизни, причем как за счет физического, так и за счет психологического компонентов здоровья. Названные показатели в дальнейшем были использованы для определения динамики на фоне терапии, для определения связи наличия и интенсивности жалоб и изменений качества жизни с лабораторными и инструментальными показателями, оцениваемыми в ходе исследования.

У пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД была выявлена эозинофильная и лимфоцитарная инфильтрация слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки и сигмовидной кишки, что свидетельствовало о наличии субклинического воспаления [118]. Выраженность лимфоцитарной инфильтрации была менее значительной при сравнении с описанными в литературе значениями, характерными для больных ВЗК и целиакией, однако показатели пациентов с СРК-Д и ФД были достоверно выше при сравнении с группой контроля. При этом в настоящем исследовании было выявлено, что степень лимфоцитарной инфильтрации слизистой оболочки ЖКТ при СРК-Д и ФД коррелировала с выраженностью жалоб у пациентов, что напрямую подтверждает вклад субклинического воспаления в формирование клинической картины заболевания.

Роль эозинофилов в патогенезе СРК-Д и ФД в настоящий момент остается недостаточно ясной. В зарубежных публикациях отмечается связь эозинофилии слизистой оболочки ЖКТ у больных СРК и ФД с повышением проницаемости слизисто-эпителиального барьера. Так, согласно данным Katiniotis G. и соавторов, у 69% пациентов с СРК отмечается повышение содержания эозинофилов в слизистой оболочке толстой кишки, достоверно связанное с повышением проницаемости слизисто-эпителиального барьера ЖКТ, также согласно результатам Vanheel H. и соавт., при ФД в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки отмечается инфильтрация эозинофилами,

ассоциированная с повышенной проницаемостью тонкой кишки [64, 135]. Предположительно, эозинофилы слизистой оболочки могут активировать местный иммунный ответ, стимулируя выработку противовоспалительных и провоспалительных цитокинов, что вносит вклад в формирование клинических симптомов СРК-Д и ФД [82, 108, 137]. В нашем исследовании была установлена связь между выраженностью диареи у пациентов и степенью эозинофильной инфильтрации. Однако механизм влияния эозинофилии слизистой оболочки ЖКТ на развитие диареи требует уточнения, что служит обоснованием необходимости проведения дальнейших исследований.

Публикации, посвященные исследованиям экспрессии белков, формирующих слизисто-эпителиальный барьер, демонстрируют, что у больных СРК-Д и ФД отмечаются нарушения содержания белков плотных контактов, приводящие к повышению проницаемости слизисто-эпителиального барьера. В нашем исследовании проводилась оценка уровня белков, связывающих жирные кислоты (FABP). В ранее проводимых экспериментах было установлено, что уровень кишечной формы белка, связывающего жирные кислоты (FABP-2), в сыворотке крови повышается при заболеваниях тонкой кишки, в том числе при болезни Крона и целиакии [19, 20]. Данную регион-специфичную форму белка расценивали как маркер повреждения целостности энтероцитов тонкой кишки. Её повышение в сыворотке крови было также выявлено у больных постинфекционным СРК-Д [116], в то время как при СРК, не ассоциированным с ранее перенесенной инфекцией или без указания на связь с инфекцией, повышения уровня белка не отмечалось [79, 120].

Мы впервые оценили уровень данного белка не в сыворотке крови, а непосредственно в слизистой оболочке тонкой кишки. У больных СРК-Д и ФД было зафиксировано повышение его содержания в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки в сравнении со здоровыми лицами группы контроля. Функция FABP-2 в настоящий момент изучена недостаточно, и сделать заключение о причине повышения фракции белка в слизистой оболочке тонкой

кишки пока не представляется возможным. Однако увеличение содержания белка подтверждает наличие измененной структуры слизисто-эпителиального барьера ЖКТ. Функция FABP-5 в ЖКТ также малоизучена, однако высказывается предположение, согласно которому данный белок может являться медиатором воспаления [65].

В ходе настоящего исследования также было установлено, что у больных СРК-Д и ФД уровень эпидермальной формы белка, связывающего жирные кислоты (FABP-5), достоверно выше в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки и сигмовидной кишки в сравнении с показателями здоровых лиц группы контроля.

Известно, что в кератиноцитах эпидермиса FABP-5 широко экспрессируется в иммунных клетках, включая Т-клетки и макрофаги, и регулирует их иммунологические функции, что позволяет рассматривать повышение уровня белка в слизистой оболочке ЖКТ у больных СРК-Д и ФД как ассоциированное с изменением местного иммунного ответа и развитием воспаления в кишечной стенке [76].

Изменение количества MUC-2 в слизистой оболочке тонкой и толстой кишки при СРК-Д и ФД также ранее не исследовалось. Установлено, что при ВЗК и колоректальном раке уровень MUC-2 снижен, что исследователи связывали с истощением пула бокаловидных клеток в результате механического разрушения нормальной слизистой оболочки [46].

В настоящем исследовании было установлено, что у больных СРК-Д и ФД уровень MUC-2 в слизистой оболочке двенадцатиперстной и сигмовидной кишки достоверно выше в сравнении с уровнем у здоровых лиц группы контроля. Учитывая защитную функцию, которую выполняет этот гликопротеин, можно предположить, что увеличение его уровня при СРК-Д и ФД является ответной реакцией, направленной на предотвращение воздействия бактериальных агентов на эпителиальные клетки.

Наличие признаков лимфоцитарно-эозинофильного воспаления слизистой оболочки тонкой и толстой кишки при СРК-Д и ФД позволяет подтвердить, что у больных отмечается повышение проницаемости слизисто-эпителиального барьера ЖКТ. Любые методы прямой оценки проницаемости являются труднодоступными, а установление наличия воспаления и изменения уровня компонентов, формирующих слизисто-эпителиальный барьер, также может быть достаточно трудоемким в рутинной клинической практике. Данный факт обуславливает необходимость поиска неинвазивных маркеров повышенной проницаемости слизисто-эпителиального барьера ЖКТ. В настоящее время в Российской Федерации наиболее распространенным методом её диагностики является определение уровня сывороточного зонулина. Однако, как было сказано ранее, результаты международных публикаций относительно уровня этого показателя при СРК-Д и ФД противоречивы, что определяет необходимость рассматривать зонулин в качестве надежного маркера с осторожностью [23, 120]. Результаты проведенного нами исследования не выявили достоверной разницы между уровнем сывороточного зонулина у больных СРК-Д и ФД и его уровнем у здоровых лиц. Кроме того, терапия, в ходе которой также было достигнуто клиническое и морфологическое улучшение, также не привела к достоверному снижению данного показателя у больных. Следовательно, результаты исследования не позволяют рекомендовать зонулин в качестве сывороточного маркера для достоверной неинвазивной оценки проницаемости слизисто-эпителиального барьера ЖКТ при СРК-Д и ФД.

Участью кишечной микробиоты в патогенезе СРК и ФД в настоящее время посвящено большое количество исследований. Известно, что изменение качественного и количественного состава микробиоты опосредованно влияет на двигательную активность ЖКТ, висцеральную чувствительность, нейроиммунные взаимосвязи [2]. Исследование изменений состава кишечной микробиоты и её метаболической активности было одним из основных этапов настоящего исследования.

Нами было установлено, что у пациентов с СРК-Д и ФД отмечаются изменения в составе микробиоты на разных таксономических уровнях в сравнении со здоровыми лицами.

Сравнение полученных результатов с данными международных исследований приведены в таблице 32, где указаны изменения на уровне типа и семейства бактерий.

Таблица 32 - Изменения состава кишечной микробиоты у больных СРК-Д в сочетании с ФД в сравнении со здоровыми лицами

	Firmicutes	Bacteroidetes	Actinobacteria	Proteobacteria	Verrucomicrobia
Zhuang X. и соавт. (2018) [147]	↓ Тип ↓ семейство Ruminococcaceae ↓ семейство Lachnospiraceae	↑ Тип			
Liu H.N. и соавт. (2017) [80]	↓ вид Faecalibacterium prausnitzii		↓ Bifidobacterium		
Su T. и соавт. (2018) [121]	↓ семейство Lactobacillus		↓ Bifidobacterium		
Carroll I.M. и соавт. (2012) [28]				↑ семейство Enterobacteriaceae	
Krogius-Kurikka L и соавт. (2009) [71]		↓ Тип			

Продолжение таблицы 32

	Firmicutes	Bacteroidetes	Actinobacteria	Proteobacteria	Verrucomicrobia
Ковалева А.Л. и соавт. (2022)	↑ Тип ↑ семейство Bacilli ↑ семейство Clostridia ↑ семейство Erysipelotrichales ↑ семейство Lachnospirales	↓ Тип ↓ семейство Bacteroidales ↓ семейство Prevotellaceae		↑ семейство Alphaproteobacteria ↑ семейство Pseudomonadales ↑ семейство Xanthomonadales ↑ семейство Burkholderiales ↑ семейство Rhizobiales	↑ семейство Akkermansiaaceae

Как можно увидеть из представленной выше таблицы, наличие изменений состава кишечной микробиоты при СРК-Д в сочетании с ФД не вызывает сомнений, однако какую-либо общую тенденцию изменений в настоящий момент времени проследить не представляется возможным. Нельзя исключить наличие условной погрешности изменений, вызванной различиями в питании у пациентов. Кроме того, все ранее проводимые исследования включали пациентов с диагнозом СРК-Д, в то время как в настоящем исследовании оценивались изменения у больных с сочетанием СРК-Д и ФД.

Как было указано ранее, исследований изменения состава кишечной микробиоты у больных с ФД прежде не проводилось. В составе слизи двенадцатиперстной кишки у больных с ФД отмечалось увеличение содержания бактерий рода *Streptococcus*, относящихся к типу *Firmicutes*. Учитывая, что у больных в настоящем исследовании, в отличие от пациентов, включенных в других эксперименты, отмечалось увеличение содержания бактерий типа *Firmicutes*, нельзя исключать, что различия между нашими результатами и

данными литературы могут быть обусловлены влиянием изменений, ассоциированных с ФД, на изменения, связанные с СРК-Д.

В настоящем исследовании интересным представляется установленное увеличение содержания бактерий семейства *Akkermansiaceae* у пациентов с СРК-Д и ФД. Ранее проведенные исследования демонстрировали, что увеличение содержания бактерий семейства *Akkermansiaceae* у детей, страдающих СРК, коррелирует с частотой возникновения абдоминальной боли, которая является одним из основных клинических симптомов заболевания [110]. Нами также было установлено повышение содержания бактерий типа *Proteobacteria* в составе кишечной микробиоты, которые, по мнению ряда авторов, участвуют в развитии воспаления слизистой оболочки ЖКТ [90, 105].

Согласно полученным нами результатам, у пациентов с СРК-Д и ФД отмечается увеличение доли условно-патогенных микроорганизмов. Учитывая множество выполняемых бактериями функций, изменение состава кишечной микробиоты может приводить к развитию симптомов заболеваний, в том числе за счет нарушения синтеза КЦЖК, которые, как было сказано ранее, отображают метаболическую активность кишечной микробиоты. Нами было зафиксировано, что у больных СРК-Д и ФД отмечается увеличение содержания общего числа короткоцепочечных жирных кислот в кале, в том числе - трех основных типов КЦЖК: уксусной, пропионовой и масляной. Кроме того, у пациентов с СРК-Д и ФД отмечается повышение содержания изокилот.

Повышение содержания пропионовой кислоты согласуется с результатами практически всех ранее опубликованных исследований. Изменения содержания уксусной и масляной кислот более противоречивы, о чем свидетельствуют результаты, приведенные в таблице 33. Данные литературы демонстрируют, что у больных СРК-Д достоверно повышается содержание бутирата в кале в сравнении со здоровыми лицами группы контроля. Повышение уровня бутирата может быть обусловлено увеличением содержания бактерий типа *Firmicutes*, которые являются основным продуцентом масляной кислоты [122].

Таблица 33 - Изменения содержания КЦЖК у пациентов с СРК-Д в сочетании с ФД в сравнении со здоровыми лицами

	Ringel-Kulka Т.и соавт. (2015) [103]	Fredericks Е. и соавт. (2020) [41]	Gargari G. и соавт. (2018) [45]	Sun Q.Н. и соавт. (2021) [123]	Sun Q. и соавт. (2019) [122]	Ковалева А.Л. и соавт. (2022)
Уксусная кислота	Не изменено	↓	↑	↓ (у пациентов мужского пола)	Не изменено	↑
Пропионовая кислота	Не изменено	↑	↑	↑ (у пациентов мужского пола)	Не изменено	↑
Масляная кислота	Не изменено	Тенденция к снижению (статистически незначимая)	Не изменено	Не изменено	↑	↑
Изокислоты	-	-	-	Не изменено	-	↑
Общее содержание кислот	Не изменено	-	↑	-	-	↑

Известно, что пропионовая и масляная кислоты регулируют моторику кишечника, и повышение их содержания может быть связано с усилением перистальтики, которое в свою очередь проявляется увеличением частоты стула [88]. Это подтверждают результаты опытов на мышинной модели, опубликованные в 2021 году Шайдулловым И. и соавторами, демонстрирующие, что при СРК-Д отмечается увеличение уровня КЦЖК, ассоциированное с усилением

перистальтики ЖКТ и ускорением пассажа содержимого по кишечнику [115]. Повышение уровня масляной кислоты также может приводить к увеличению содержания MUC-2 в слизи, что было показано в ранее проведенном *in vitro* на клеточной линии исследовании, согласно которому бутират влияет на выработку слизи и экспрессию гена MUC-2 в кишечнике [26].

Также в ходе настоящего исследования обращало на себя внимание наличие положительной прямой корреляционной связи между уровнем масляной кислоты у пациентов с СРК-Д и ФД и выраженностью лимфоцитарной инфильтрации. Известно, что масляная кислота ингибирует синтез медиаторов воспаления в слизистой оболочке и снижает концентрацию провоспалительных цитокинов (интерлейкина-8 и фактора некроза опухоли- α), тем самым влияя на местные воспалительные реакции [143]. Учитывая связь с выраженностью воспаления, можно предположить, что повышение уровня бутирата у больных СРК-Д и ФД может быть компенсаторной реакцией организма на наличие воспаления в слизистой оболочке ЖКТ.

Можно предположить также, что изменения содержания КЦЖК и состава кишечной микробиоты при СРК-Д образуют порочный круг, в котором содержание бактерий меняется из-за измененного профиля кислот, что в свою очередь приводит к нарушению их синтеза и нарушению моторики, которая способствует нарушению качественного и количественного состава микробиоты.

Таким образом, на основании анализа полученных данных, мы можем расценивать нарушения строения слизисто-эпителиального барьера ЖКТ, изменение кишечной микробиоты и ассоциированной с этими изменениями метаболической активности бактерий как ключевые факторы, приводящие к развитию СРК-Д и ФД.

Подобное предположение делает рациональным включение в схему лечения пациентов с СРК-Д и ФД препаратов, влияющих на проницаемость слизисто-эпителиального барьера ЖКТ.

В ходе исследования пациентам, включенным в программу, проводилось лечение с применением одной из трех схем терапии. Пациенты первой группы получали терапию регулятором моторики ЖКТ тримебутином в сочетании с плацебо, второй группы – сочетанием регулятора моторики ЖКТ тримебутина и ребамипида - препарата, влияющего на слизисто-эпителиальный барьер ЖКТ, - а пациенты третьей группы – терапию ребамипидом, влияющим на слизисто-эпителиальный барьер ЖКТ, в сочетании с плацебо.

При анализе результатов лечения было установлено, что наибольшая эффективность была достигнута в группе пациентов, получавших сочетание регулятора моторики тримебутина с ребамипидом, влияющим на проницаемость слизисто-эпителиального барьера.

Тем самым установлено, что включение в стандартную схему лечения ребамипида оказывает положительное влияние на следующие факторы:

- выраженность жалоб и качество жизни больных;
- выраженность неспецифического воспаления слизистой оболочки тонкой и толстой кишки;
- уровень мембранных белков, связывающих жирные кислоты, в слизистой оболочке тонкой и толстой кишки;
- уровень муцина-2 в тонкой и толстой кишке;
- состав кишечной микробиоты;
- метаболическая активность кишечной микробиоты.

ВЫВОДЫ

1. У пациентов, страдающих синдромом раздраженного кишечника с диареей в сочетании с функциональной диспепсией, определяются симптомы обоих заболеваний умеренной степени выраженности, приводящие к снижению уровня качества жизни за счет ухудшения как физического, так и эмоционального состояния.

2. У больных с диарейным вариантом синдрома раздраженного кишечника в сочетании с функциональной диспепсией доказано нарушение проницаемости слизисто-эпителиального барьера на субэпителиальном уровне, заключающееся в развитии достоверно большей, в сравнении со здоровыми добровольцами, проявляющееся признаками воспаления (лимфоцитарно-эозинофильной инфильтрацией слизистой оболочки как тонкой, так и толстой кишки).

3. У больных с диарейным вариантом синдрома раздраженного кишечника в сочетании с функциональной диспепсией доказано нарушение проницаемости слизисто-эпителиального барьера на преэпителиальном уровне (достоверное, в сравнении со здоровыми добровольцами, повышение уровня MUC-2 в слизистой оболочке тонкой кишки) и на эпителиальном уровне (достоверное, в сравнении со здоровыми добровольцами, повышение уровня экспрессии белков, связывающих жирные кислоты как в тонкой (FABP-1; FABP-2), так и в толстой (FABP-1; FABP-5) кишке).

4. У пациентов с диарейным вариантом синдрома раздраженного кишечника в сочетании с функциональной диспепсией доказано ассоциированное с нарушением проницаемости слизисто-эпителиального барьера изменение состава кишечной микробиоты за счет повышения содержания условно-патогенных микроорганизмов на уровне типов, классов, порядков и семейств и компенсаторного увеличения доли продуцентов короткоцепочечных жирных кислот, а также ассоциированное с изменением состава кишечной микробиоты

увеличение абсолютного содержания уксусной, пропионовой, масляной кислоты и изокислот и сдвиг анаэробного индекса в сторону более отрицательных значений в сравнении со здоровыми лицами группы контроля.

5. Интенсивность и общее количество симптомов у больных с синдромом раздраженного кишечника с преобладанием диареи в сочетании с функциональной диспепсией прямо коррелирует со степенью нарушения проницаемости слизисто-эпителиального барьера, нарушением состава кишечной микробиоты и спектра короткоцепочечных жирных кислот.

6. В группах пациентов, которым проводилась терапия тримебутином в сочетании с ребамипидом, а также монотерапия ребамипидом, отмечается положительная динамика клинических симптомов, ассоциированная с нормализацией слизисто-эпителиального барьера на надэпителиальном, эпителиальном, субэпителиальном уровнях и нормализацией микробного состава толстой кишки на уровне типов и семейств бактерий. У пациентов, которые получали только регулятор моторики тримебутин, положительная динамика клинических симптомов менее выражена и коррелирует с нормализацией слизисто-эпителиального барьера на надэпителиальном и субэпителиальном уровнях, но не с изменением микробного состава толстой кишки.

7. Включение в схему терапии пациентов с сочетанием синдрома раздраженного кишечника с преобладанием диареи и функциональной диспепсией препарата, влияющего на проницаемость слизисто-эпителиального барьера ЖКТ, безопасно и более эффективно в сравнении с терапией регулятором моторики.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Диагнозы «синдром раздраженного кишечника с преобладанием диареи» и «функциональная диспепсия» следует рассматривать как диагнозы исключения, для верификации которых необходимо проведение комплекса диагностических исследований, включающих в том числе эзофагогастродуоденоскопию и колоноскопию с оценкой биопсийного материала для исключения органических заболеваний.

2. Нарушение проницаемости слизисто-эпителиального барьера ЖКТ формируется в том числе у тех пациентов с диарейным вариантом синдрома раздраженного кишечника в сочетании с функциональной диспепсией, у которых не выявляется синдром избыточного бактериального роста. У таких больных нарушение проницаемости может быть обусловлено изменением а) микробного состава толстой кишки и б) содержания короткоцепочечных жирных кислот.

3. В качестве новой терапевтической тактики лечения пациентов с диарейным вариантом синдрома раздраженного кишечника в сочетании с функциональной диспепсией показана терапия препаратами, которые нормализуют проницаемость слизисто-эпителиального барьера ЖКТ на всем его протяжении, в частности, ребамипидом.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

СРК – синдром раздраженного кишечника

СРК-Д - синдром раздраженного кишечника с преобладанием диареи

СРК-З - синдром раздраженного кишечника с преобладанием запора

СРК-М – синдром раздраженного кишечника, смешанный вариант

СРК-Н - синдром раздраженного кишечника, неклассифицируемый вариант

УЗИ – ультразвуковое исследование

ФД – функциональная диспепсия

ФЗ ЖКТ – функциональные заболевания желудочно-кишечного тракта

ЭГДС – эзофагогастродуоденоскопия

FABPs - fatty-acid-binding proteins

FABP-1 – печеночная фракция белка, связывающего жирные кислоты

FABP-2 - кишечная фракция белка, связывающего жирные кислоты

FABP-5 - эпидермальная фракция белка, связывающего жирные кислоты

JAMs – junctional adhesion molecules

MUC - муцин

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андреев Д.Н., Маев И.В. Ребамипид: доказательная база применения в гастроэнтерологии // Терапевтический архив. - 2020. - Т. 92. - №12. - С. 97-104
2. Ивашкин В.Т., Зольникова О.Ю. Синдром раздраженного кишечника с позиций изменений микробиоты // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2019. - Т.29. - №1. - С.68-76
3. Ивашкин В.Т., Маев И.В., Шельгин Ю.А., Баранская Е.К., Белоус С.С., Белоусова Е.А., Бениашвили А.Г., Васильев С.В., Веселов А.В., Григорьев Е.Г., Костенко Н.В., Кашников В.Н., Куликовский В.Ф., Лоранская И.Д., Ляшенко О.С., Полуэктова Е.А., Румянцев В.Г., Тимербулатов В.М., Фоменко О.Ю., Хубезов Д.А., Чашкова Е.Ю., Чибисов Г.И., Шапина М.В., Шептулин А.А., Шифрин О.С., Трухманов А.С., Алексеева О.П., Алексеенко С.А., Барановский А.Ю., Зольникова О.Ю., Корочанская Н.В., Маммаев С.Н., Хлынов И.Б., Цуканов В.В. Диагностика и лечение синдрома раздраженного кишечника (Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации и Ассоциации колопроктологов России) // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2021. - Т.31. - №5. - С.74-95
4. Ивашкин В.Т., Маев И.В., Шептулин А.А., Лапина Т.Л., Трухманов А.С., Картавенко И.М., Киприанис В.А., Охлобыстина О.З. Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению функциональной диспепсии // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2017. - Т.27. - №1. - С.50-61
5. Ивашкин В.Т., Полуэктова Е.А., Рейхарт Д.В., Шифрин О.С., Бениашвили А.Г., Ляшенко О.С., Белостоцкий А.В. Эффективность наиболее часто назначаемых групп препаратов у пациентов с функциональными расстройствами желудочно-кишечного тракта - синдромом функциональной диспепсии и синдромом раздраженного кишечника (Результаты наблюдательного

исследования) // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2016. - Т.26. - №4. - С.14-23

6. Ивашкин В.Т., Трухманов А.С., Гоник М.И. Применение ребамипида в лечении гастроэзофагеальной рефлюксной болезни // Терапевтический архив. - 2020. - Т.92. - №4. - С.98-104

7. Ивашкин В.Т., Шептулин А.А., Полуэктова Е.А., Рейхарт Д.В., Белостоцкий А.В., Дроздова А.А., Арнаут В.С. Возможности применения Опросника «7x7» (7 симптомов за 7 дней) для оценки динамики симптомов функциональной диспепсии и синдрома раздраженного кишечника // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2016. - Т.26. - №3. - С.24-33

8. Ковалева А.Л., Полуэктова Е.А., Шифрин О.С. Кишечный барьер, кишечная проницаемость, неспецифическое воспаление и их роль в формировании функциональных заболеваний желудочно-кишечного тракта // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2020. - Т.30. - №4. - С.52–59

9. Ковалева А.Л., Ульянин А.И., Киселева О.Ю., Полуэктова Е.А., Шифрин О.С., Тертычный А.С., Ивашкин В.Т. Прукалоприд и мультиштаммовый пробиотик в разрешении автономной кишечной нейропатии у пациентов, находящихся в критическом состоянии (Клинический разбор) // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2018. – Т.28. - №3. – С.88-100.

10. Лоранская И.Д., Козлова Ю.А. Роль вегетативных нарушений в патогенезе синдрома раздраженного кишечника // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. - 2014. - Т.107. - №7. - С.86-90

11. Лоранская И.Д., Лаврентьева О.А. Системный подход к лечению синдрома раздраженного кишечника // Российский медицинский журнал. - 2012. - №15. - С.758

12. Маев И.В., Черемушкин С.В., Кучерявый Ю.А., Черемушкина Н.В. Алгоритм ведения пациентов с синдромом раздраженного кишечника. Римские критерии IV // Российский медицинский журнал. – 2017. – Т.10. – С.718-722

13. Мамиева З.А., Полуэктова Е.А., Ковалева А.Л., Шифрин О.С., Соболев В.П., Свистушкин В.М., Ульянин А.И., Тертычный А.С., Ивашкин В.Т. Колоректальный рак у пациентки с симптомами функционального заболевания желудочно-кишечного тракта // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2021. – Т.31. - №5. – С.66-73

14. Минушкин О.Н. Новые представления о функциональных расстройствах кишечника и место современных пробиотиков в их лечении // Медицинский совет. -2018. -Т.21. –С.126-131

15. Минушкин О.Н. Сочетанные функциональные расстройства (заболевания) желудочно-кишечного тракта их диагностика и лечебные подходы // Медицинский Совет. - 2015;. – Т.13. – С.20-25

16. Минушкин О.Н., Елизаветина Г.А., Ардатская М.Д., Балыкина В.В., Кручинина М.А. Тримебутин при синдроме раздраженного кишечника // Consilium medicum. – 2011. - т.13. - №8. - С.46–51

17. Симаненков В.И., Маев И.В., Ткачева О.Н., Алексеенко С.А., Андреев Д.Н., Бордин Д.С., Власов Т.Д., Воробьева Н.М., Гриневич В.Б., Губонина И.В., Дробижев М.Ю., Ефремов Н.С., Каратеев А.Е., Котовская Ю.В., Кравчук Ю.А., Кривобородов Г.Г., Кульчавеня Е.В., Лиля А.М., Маевская М.В., Полуэктова Е.А., Попкова Т.В., Саблин О.А., Соловьева О.И., Суворов А.Н., Тарасова Г.Н., Трухан Д.И., Федотова А.В. Синдром повышенной эпителиальной проницаемости в клинической практике. Мультидисциплинарный национальный консенсус // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. - 2021. - Т.20. - №1. - С.27-58

18. Ситкин С.И., Ткаченко Е.И., Вахитов Т.Я. Метаболический дисбиоз кишечника и его биомаркеры // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. - 2015. - Т.12. - С.6-29

19. Adriaanse M. P. M., Tack G. J., Passos V. L., Damoiseaux J. G. M. C., Schreurs M. W. J., van Wijck K., Riedl R.G., Masclee A.A.M., Buurman W.A., Mulder C.J.J., Vreugdenhil A.C.E. Serum I-FABP as marker for enterocyte damage in coeliac disease and its relation to villous atrophy and circulating autoantibodies // *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. – 2013. - Vol. 37. - №4. - P.482–490
20. Adriaanse M.P.M., Mubarak A., Riedl R.G., Ten Kate F.J.W., Damoiseaux J.G.M.C., Buurman W.A., Houwen R.H.J., Vreughenhil A.C.E., Celiac Disease Study Group. Progress towards non-invasive diagnosis and follow-up of celiac disease in children; a prospective multicentre study to the usefulness of plasma I-FABP // *Scientific Reports*. - 2017. - Vol.7. - №1. – P.86-71
21. Arakawa T., Higuchi K., Fujiwara Y., Watanabe T., Tominaga K., Sasaki E., Oshitani N., Yoshikawa T., Tarnawski A.S. 15th anniversary of rebamipide: looking ahead to the new mechanisms and new applications // *Digestive Diseases and Sciences*. – 2005. – Vol.50. – P.S3-S11
22. Barbara G., Feinle-Bisset C., Ghoshal U. C., Santos J., Vanner S. J., Vergnolle N., Zoetendal E.G., Quigley E.M. The Intestinal Microenvironment and Functional Gastrointestinal Disorders // *Gastroenterology*. - 2016. –T.150. – Vol.6. - P.1305–1318
23. Barbaro M.R., Cremon C., Morselli-Labate A.M., Di Sabatino A., Giuffrida P., Corazza G.R., Di Stefano M., Caio G., Latella G., Ciacci C., Fuschi D., Mastroberto M., Bellacosa L., Stanghellini V., Volta U., Barbara G. Serum zonulin and its diagnostic performance in non-coeliac gluten sensitivity // *Gut*. – 2020. – P.1-9
24. Barcenilla A., Pryde S. E., Martin J. C., Duncan S. H., Stewart C. S., Henderson C., Flint H.J. Phylogenetic Relationships of Butyrate-Producing Bacteria from the Human Gut // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2000. - Vol.66. - №4, - P.1654–1661
25. Bertiaux-Vandaele N., Youmba S.B., Belmonte L., Lecleire S., Antonietti M., Gourcerol G., Leroi A-M., Dechelotte P., Menard J-F., Ducrotte P., Coeffier M. The expression and the cellular distribution of the tight junction proteins are altered in

irritable bowel syndrome patients with differences according to the disease subtype // *The American Journal of Gastroenterology*. – 2011. – Vol.106. - №12. – P.2165–2173

26. Burger-van Paassen N., Vincent A., Puiman P.J.J., van der Sluis M., Bouma J., Boehm G., van Goudoever J.B., Van Seuning I., Renes I.B. The Regulation of Intestinal Mucin MUC2 Expression by Short-Chain Fatty Acids: Implications for Epithelial Protection // *Biochemical Journal*. – 2009. Vol. 420. – P.211–219

27. Camilleri M., Carlson P., Acosta A., Busciglio I. Colonic mucosal gene expression and genotype in irritable bowel syndrome patients with normal or elevated fecal bile acid excretion // *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*. – 2015. – Vol.309. - №1. - P.10–20

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

29. Chambers E.S., Preston T., Frost G., Morrison D.J. Role of Gut Microbiota-Generated Short-Chain Fatty Acids in Metabolic and Cardiovascular Health // *Current Nutrition Reports*. – 2018

30. Cheng, P., Yao, J., Wang, C., Zhang, L., Kong, W. (2015). Molecular and cellular mechanisms of tight junction dysfunction in the irritable bowel syndrome // *Molecular Medicine Reports*. – 2015. – Vol.12. - №3. – P.3257–3264

31. Collins S. M. A role for the gut microbiota in IBS // *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. – 2014. – Vol.11. - №8. – P.497–505

32. Cukrowska B., Sowińska A., Bierła J. B., Czarnowska E., Rybak A., Grzybowska-Chlebowczyk U. Intestinal epithelium, intraepithelial lymphocytes and the gut microbiota - Key players in the pathogenesis of celiac disease // *World Journal of Gastroenterology*. – 2017. – Vol.23. - №42. – P.7505–7518

33. Cummins P. M. Occludin: One Protein, Many Forms // *Molecular and Cellular Biology* – 2011. – Vol.32. - №2. – P.242–250

34. Delvaux M., Wingate D. Trimebutine: mechanism of action, effects on gastrointestinal function and clinical results // *The Journal of International Medical Research*. – 1997. – Vol.25. - №5. – P.225-246
35. Du L., Chen B., Kim J. J., Chen X., Dai N. Micro-inflammation in functional dyspepsia: A systematic review and meta-analysis // *Neurogastroenterology & Motility*. – 2018. – Vol.30. - №4.
36. Enck P., Azpiroz F., Boeckxstaens G., Elsenbruch S., Feinle-Bisset C., Holtmann G., Lackner J.M., Rankainen J., Schemann M., Stengel A., Tack J., Zipfel S., Talley N.J. Functional dyspepsia // *Nature Reviews Disease Primers*. – 2017. – Vol.3
37. Everard A., Belzer C., Geurts L., Ouwerkerk J. P., Druart C., Bindels L. B., Guiot Y., Derrien M., Muccioli G.G., Delzenne N.M., de Vos W.M., Cani P.D. Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2013. – Vol.110. - №22. – P.9066–9071
38. Farre R., Vicario M. (2016). Abnormal Barrier Function in Gastrointestinal Disorders // *Handbook of Experimental Pharmacology*. – 2016. – P.193–217
39. Farup P.G., Rudi K., Hestad K. Faecal short-chain fatty acids - a diagnostic biomarker for irritable bowel syndrome? // *BMC Gastroenterology*. – 2016. – Vol.16. - №.1
40. Fasano A. All disease begins in the (leaky) gut: role of zonulin-mediated gut permeability in the pathogenesis of some chronic inflammatory diseases // *F1000 Research*. – 2020. – Vol.9
41. Fredericks E., Theunissen R., Roux S. Short chain fatty acids and monocarboxylate transporters in irritable bowel syndrome // *Turkish Journal of Gastroenterology*. – 2020. – Vol.31. - №12. – P.840–847
42. Fukui A., Takagi T., Naito Y., Inoue R., Kashiwagi S., Mizushima K., Inada Y., Inoue K., Harudato A., Doni O., Okayama T., Katada K., Kamada K., Uchiyama K., Ishikawa T., Handa O., Oti Y., Nakagawa M. Higher Levels of

Streptococcus in Upper Gastrointestinal Mucosa Associated with Symptoms in Patients with Functional Dyspepsia // *Digestion*. – 2020. – Vol.101. -№1. – P.38-45

43. Fukui H. Increased Intestinal Permeability and Decreased Barrier Function: Does It Really Influence the Risk of Inflammation? // *Inflammatory Intestinal Diseases*. – 2016. – Vol.1. - №3. – P.135–145

44. Garcia-Hernandez V., Quiros M., Nusrat A. Intestinal epithelial claudins: expression and regulation in homeostasis and inflammation // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 2017. - Vol.1397. - №1. – P.66-79

45. Gargari G., Taverniti V., Gardana C., Cremon C., Canducci F., Pagano I., Barbaro M.R., Bellacosa L., Castellazzi A.M., Valsecchi C., Tagliacarne S.C., Bellini M., Bertani L., Gambaccini D., Marchi S., Cicala M., Germania B., Dal Pont E., Vecchi M., Ogliari C., Fiore W., Stanghellini V., Barbara G., Guglielmetti S. Fecal Clostridiales distribution and short-chain fatty acids reflect bowel habits in irritable bowel syndrome // *Environmental Microbiology*. – 2018

46. Grondin J. A., Kwon Y. H., Far P. M., Haq S., Khan W. I. Mucins in Intestinal Mucosal Defense and Inflammation: Learning From Clinical and Experimental Studies // *Frontiers in Immunology*. – 2020. - Vol.11

47. Groschwitz K.R., Hogan S.P. Intestinal barrier function: molecular regulation and disease pathogenesis // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2009. – Vol. 124. - №1. – P.3–20

48. Gutzeit C., Magri G., Cerutti A. Intestinal IgA production and its role in host-microbe interaction // *Immunological Reviews*. – 2014. – Vol. 260. - №1. – P. 76-85

49. Gweon T.-G., Park J.-H., Kim B.-W., Choi Y. K., Kim J. S., Park S. M. Additive Effects of Rebamipide Plus Proton Pump Inhibitors on the Expression of Tight Junction Proteins in a Rat Model of Gastro-Esophageal Reflux Disease // *Gut and Liver*. – 2018. – Vol.12. - №1. – P.46–50

50. Hansson G. C., Johansson M. E. V. (2010). The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria // *Gut Microbes*. – 2010. – Vol.1. - №1. – P.51–54
51. Hartsock A., Nelson W. J. Adherens and tight junctions: Structure, function and connections to the actin cytoskeleton // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. – 2008. – Vol.1778. - №3. – P.660–669
52. Hatayama H., Iwashita J., Kuwajima A., Abe T. The short chain fatty acid, butyrate, stimulates MUC2 mucin production in the human colon cancer cell line, LS174T // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2007. – Vol.356. - №3. – P.599–603
53. He J., Zhang P., Shen L., Niu L., Tan Y., Chen L., Zhao Y., Bai L., Hao X., Li X., Zhang S., Zhu L. Short-Chain Fatty Acids and Their Association with Signalling Pathways in Inflammation, Glucose and Lipid Metabolism // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2020. – Vol. 21. - №17
54. Holthofer B., Windoffer R., Troyanovsky S., Leube R.E. Structure and function of desmosomes // *International Review of Cytology*. – 2007. – Vol.264. - P.65–163
55. Huse S.M., Ye Y., Zhou Y., Fodor A.A. (2012). A Core Human Microbiome as Viewed through 16S rRNA Sequence Clusters // *PLoS ONE*. - 2012. – Vol.7. – №6
56. Ishimoto H., Oshima T., Sei H., Yamasaki T., Kondo T., Tozawa K., Tomita T., Ohda Y., Fukui H., Watari J., Miwa H. Claudin-2 expression is upregulated in the ileum of diarrhea predominant irritable bowel syndrome patients // *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*. – 2017. – Vol. 60. - №2. - P.146-150
57. Ivashkin V., Poluektov Y., Kogan E., Shifrin O., Sheptulin A., Kovaleva A., Kurbatova A., Krasnov G., Poluektova E. Disruption of the pro-inflammatory, anti-inflammatory cytokines and tight junction proteins expression, associated with changes of the composition of the gut microbiota in patients with irritable bowel syndrome // *PLoS ONE*. – 2021. – Vol.16. - №6

58. Ivashkin V., Sheptulin A., Shifrin O., Poluektova E., Pavlov C., Ivashkin K., Drozdova A., Lyashenko O., Korolev A. Clinical validation of the “7x7” questionnaire for patients with functional gastrointestinal disorders // *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. – 2018. – Vol.34. – P.1042-1048
59. Jaafar M.H., Safi S.Z., Tan M.-P., Rampal S., Mahadeva S. (2017). Efficacy of Rebamipide in Organic and Functional Dyspepsia: A Systematic Review and Meta-Analysis // *Digestive Diseases and Sciences*. – 2017. - Vol.63. - №5. – P.1250–1260
60. Jacobs J. P., Goudarzi M., Singh N., Tong M., McHardy I. H., Ruegger P., Asadourian M., Moon B-H., Ayson A., Borneman J., McGovern D.P.B., Fornace A.J., Braun J., Dubinsky M. A Disease-Associated Microbial and Metabolomics State in Relatives of Pediatric Inflammatory Bowel Disease Patients // *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*. – 2016. – Vol.2. - №6. - P.750–766
61. Jakobsson H.E., Rodríguez-Piñeiro A.M., Schütte A., Ermund A., Boysen P., Bemark M., Sommer F., Backhed F., Hansson G.C., Johansson M.E.V. The composition of the gut microbiota shapes the colon mucus barrier // *EMBO Reports*. – 2015. – Vol.16. - №2. P.164–77
62. Jalanka-Tuovinen J., Salonen A., Nikkilä J., Immonen O., Kekkonen R., Lahti L., Palva A., de Vos W.M. Intestinal microbiota in healthy adults: temporal analysis reveals individual and common core and relation to intestinal symptoms // *PLoS One*. – 2011. – Vol.6. - №7
63. Jung H., Talley, N. J. Role of the Duodenum in the Pathogenesis of Functional Dyspepsia: A Paradigm Shift // *Journal of Neurogastroenterology and Motility*. - 2018. – Vol.24. - №3. – P.345–354
64. Katinios G., Casado-Bedmar M., Walter S. A., Vicario M., González-Castro A. M., Bednarska O., Soderholm J.D., Hjortswang H., Keita A.V. Increased Colonic Epithelial Permeability and Mucosal Eosinophilia in Ulcerative Colitis in Remission Compared With Irritable Bowel Syndrome and Health // *Inflammatory Bowel Diseases*. – 2020. – Vol.26. - №7. - P.974-984

65. Kim H., Gil G., Lee S., Kwak A., Jo S., Kim E., Nguyen T.T., Kim S., Jhun H., Kim S., Kim M., Lee Y., Kim S. Cytokine-like Activity of Liver Type Fatty Acid Binding Protein (L-FABP) Inducing Inflammatory Cytokine Interleukin-6 // *Immune Network*. - 2016. – Vol.16. - №5. – P.296-304
66. Kim J.M. Antimicrobial Proteins in Intestine and Inflammatory Bowel Diseases // *Intestinal Research*. – 2014. – Vol.12. - №1. – P.20–33
67. Kleine A., Kluge S., Peskar B. M. Stimulation of prostaglandin biosynthesis mediates gastroprotective effect of rebamipide in rats // *Digestive Diseases and Sciences*. – 1993. – Vol.38. - №8. – P.1441–1449
68. Kobayashi M., Mikami D., Kimura H., Kamiyama K., Morikawa Y., Yokoi S., Kasuno K., Takahashi N., Taniguchi T., Iwano M. Short-chain fatty acids, GPR41 and GPR43 ligands, inhibit TNF- α -induced MCP-1 expression by modulating p38 and JNK signaling pathways in human renal cortical epithelial cells // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2017. – Vol.486. - №2. – P.499-505
69. Kohata Y., Nakahara K., Tanigawa T., Yamagami H., Shiba M., Watanabe T., Tominaga K., Fujiwara Y., Arakawa T. Rebamipide Alters the Esophageal Microbiome and Reduces the Incidence of Barrett's Esophagus in a Rat Model // *Digestive Diseases and Sciences*. – 2015. – Vol.60. - №9. – P.2654–2661
70. Kowalczyk A.P., Green K.J. Structure, Function, and Regulation of Desmosomes. *The Molecular Biology of Cadherins* // *Progress in Molecular Biology and Translational Science*. - 2013. - Vol.116. – P.95–118
71. Krogius-Kurikka L., Lyra A., Malinen E., Aarnikunnas J., Tuimala J., Paulin L., Makivuokko H., Kajander K., Palva A. Microbial community analysis reveals high level phylogenetic alterations in the overall gastrointestinal microbiota of diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome sufferers // *BMC Gastroenterology*. – 2009. – Vol.9. - №1
72. Kurata S., Nakashima T., Osaki T., Uematsu N., Shibamori M., Sakurai K., Kamiya S. Rebamipide protects small intestinal mucosal injuries caused by indomethacin by modulating intestinal microbiota and the gene expression in intestinal

mucosa in a rat model // *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*. – 2015. – Vol.56. - №1. – P.20–27

73. Lacy B. E., Mearin F., Chang L., Chey W. D., Lembo A. J., Simren M., Spiller R. Bowel Disorders // *Gastroenterology*. – 2016. – Vol.150. - №6. P.1393–1407

74. Lee H.T., Kim B.J. Trimebutine as a modulator of gastrointestinal motility // *Archives of Pharmacal Research*. – 2011. – Vol.34. - №6. – P.861-864]. Однако

75. Lee J. Y., Kim N., Choi Y.J., Park J.H., Ashktorab H., Smoot D.T., Ho Lee D. Expression of Tight Junction Proteins According to Functional Dyspepsia Subtype and Sex // *Journal of Neurogastroenterology and Motility*. – 2020. – Vol.26. - №2. – P.248–258

76. Li B., Reynolds J. M., Stout R. D., Bernlohr D. A., Suttles, J. Regulation of Th17 Differentiation by Epidermal Fatty Acid-Binding Protein // *The Journal of Immunology*. – 2009. – Vol.182. - №12. – P.7625–7633

77. Li L., Xiong L., Yao J., Zhuang X., Zhang S., Yu Q., Xiao Y., Cui Y., Chen M. Increased small intestinal permeability and RNA expression profiles of mucosa from terminal ileum in patients with diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome // *Digestive and Liver Disease*. – 2016. – Vol.48. - №8. – P.880-887

78. Lins L., Carvalho F. M. SF-36 total score as a single measure of health-related quality of life: Scoping review // *SAGE Open Medicine*. – 2016. – Vol.4. - P.1-12

79. Linsalata M., Riezzo G., D'Attoma B., Clemente C., Orlando A., Russo F. Noninvasive biomarkers of gut barrier function identify two subtypes of patients suffering from diarrhoea predominant-IBS: a case-control study // *BMC Gastroenterology*. – 2018. – Vol.18. - №1

80. Liu H.N., Wu H., Chen Y.Z., Chen Y.J., Shen X.Z., Liu T.T. Altered molecular signature of intestinal microbiota in irritable bowel syndrome patients compared with healthy controls: A systematic review and metaanalysis // *Digestive and Liver Disease*. – 2017. – Vol.49. - №4. – P.331-337

81. Ljotsson B., Jones M., Talley N. J., Kjellström L., Agréus L., Andreasson, A (2020). Discriminant and convergent validity of the GSRS-IBS symptom severity measure for irritable bowel syndrome: A population study // *United European Gastroenterology Journal*. – 2020. – Vol.8. - №3. – P.284–292
82. Loktionov A. Eosinophils in the gastrointestinal tract and their role in the pathogenesis of major colorectal disorders // *World Journal of Gastroenterology*. – 2019. – Vol.25. - №27. – P.3503-3526
83. Louis P., Hold G. L., Flint H.J. The gut microbiota, bacterial metabolites and colorectal cancer // *Nature Reviews Microbiology*. – 2014. – Vol.12. - №10. – P.661–672
84. Martínez C., Lobo B., Pigrau M., Ramos L., González-Castro A.M., Alonso C., Guilarte M., Guila M., de Torres I., Azpiroz F., Santos J., Vicario M. Diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome: an organic disorder with structural abnormalities in the jejunal epithelial barrier // *Gut*. – 2013. – Vol.62. - №8. – P.1160-8
85. Martínez C., Rodiño-Janeiro B.K., Lobo B., Stanifer M.L., Klaus B., Granzow M., Gonzales-Castro A.M., Salvo-Romero E., Alonso-Cotoner C., Pigrau M., Roeth R., Rappold G., Huber W., Gonzalez-Silos R., Lorenzo J., de Torres I., Azpiroz F., Boulant S., Vicario M., Niesler B., Santos J. miR-16 and miR-125b are involved in barrier function dysregulation through the modulation of claudin-2 and cingulin expression in the jejunum in IBS with diarrhea // *Gut*. – 2017. – Vol.66. - №9. – P.1537-1538
86. Martínez C., Vicario M., Ramos L., Lobo B., Mosquera J.L., Alonso C., Sánchez A., Guilarte M., Antolin M., de Torres I., Gonzalez-Castro A.M., Pigrau M., Saperas E., Azpiroz F., Santos J. The jejunum of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome shows molecular alterations in the tight junction signaling pathway that are associated with mucosal pathobiology and clinical manifestations // *American Journal of Gastroenterology*. – 2012. – Vol.107. - №5. – P.736-46

87. Menard S., Cerf-Bensussan N., Heyman, M. Multiple facets of intestinal permeability and epithelial handling of dietary antigens // *Mucosal Immunology*. – 2010. – Vol.3. - №3. – P.247–259
88. Mitsui R., Ono S., Karaki S., Kuwahara A. Neural and non-neural mediation of propionate-induced contractile responses in the rat distal colon // *Neurogastroenterology and Motility*. – 2005. – Vol.17. - №4. – P.585–594
89. Morrison D.J., Preston T. Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism // *Gut Microbes*. – 2005. – Vol.7. - №3. – P.189–200
90. Mukhopadhyaya I., Hansen R., El-Omar E.M. IBD-what role do Proteobacteria play? // *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. – 2012. – Vol.9. – P. 219 – 230
91. Ng Q.X., Soh A.Y.S., Loke W., Lim D.Y., Yeo W-S. The role of inflammation in irritable bowel syndrome (IBS) // *Journal of Inflammation Research*. – 2018. – Vol.11. – P.345–9
92. Panda S., Guarner F., Manichanh C. Structure and functions of the gut microbiome // *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders*. – 2014. – Vol.14. - №4. – P.290-299
93. Pelsers M.M.A.L., Hermens W.T., Glatz J.F.C. Fatty acid-binding proteins as plasma markers of tissue injury // *Clinica Chimica Acta*. – 2005. – Vol.352. - №1-2. – P.15–35
94. Perveen I., Rahman M. M., Saha M., Rahman M. M., Hasan M. Q. Prevalence of irritable bowel syndrome and functional dyspepsia, overlapping symptoms, and associated factors in a general population of Bangladesh // *Indian Journal of Gastroenterology*. – 2014. – Vol.33. - №3. – P.265–273
95. Pittayanon R., Leelakusolvong S., Vilaichone R.K., Rojborwonwitaya J., Treerasertsuk S., Mairiang P., Chirnakorn S., Chitapanarux T., Kaosombatwattana U., Sottisuporn J., Sansak I., Phisalprapa P., Bunchorntavakul C., Chuenrattanakul S., Chakkaphak S., Boonsirichan R., Wiwattanachang O., Maneerattanaporn M., Piyanirun

W., Mahachai V. Thailand Dyspepsia Guidelines: 2018 // Journal of Neurogastroenterology and Motility. – 2019. – Vol.25. - №1. – P.15-26

96. Quigley E.M.M. Leaky gut – concept or clinical entity? // Current Opinion in Gastroenterology. – 2016. – Vol.32. - №2. – P.74–79

97. Rajilić-Stojanović M., de Vos W.M. The first 1000 cultured species of the human gastrointestinal microbiota // FEMS Microbiology Reviews. – 2014. – Vol.38. - №5. – P.996–1047

98. Reigstad C.S., Salmonson C.E., Rainey J.F., Szurszewski J.H., Linden D.R., Sonnenburg J.L., Farrugia G., Kashyap P.C. Gut microbes promote colonic serotonin production through an effect of short-chain fatty acids on enterochromaffin cells // The FASEB Journal. – 2015. – Vol.29. - №4. – P.1395–1403

99. Revicki D. A., Wood M., Wiklund I., Crawley J. Reliability and validity of the gastrointestinal symptom rating scale in patients with gastroesophageal reflux disease // Quality of Life Research. – 1997. – Vol.7. - №1. – P.75–83

100. Rey F.E., Faith J.J., Bain J., Muehlbauer M.J., Stevens R.D., Newgard C.B., Gordon J.I. Dissecting the in Vivo Metabolic Potential of Two Human Gut Acetogens // Journal of Biological Chemistry. – 2010. – Vol.285. - №29. – P.22082–22090

101. Riba A., Olier M., Lacroix-Lamandé S., Lencina C., Bacquié V., Harkat C., Gillet M., Baron M., Sommer C., Mallet V., Salvador-Cartier C., Laurent F., Theodorou V., Menard S.. Paneth Cell Defects Induce Microbiota Dysbiosis in Mice and Promote Visceral Hypersensitivity // Gastroenterology. – 2017. – Vol.153. - №6. – P.1594-1606

102. Richter J. F., Hildner M., Schmauder R., Turner J. R., Schumann M., Reiche J. Occludin knockdown is not sufficient to induce transepithelial macromolecule passage // Tissue Barriers. – 2019. – Vol.7. - №2. – P.1–14

103. Ringel-Kulka T., Choi C. H., Tamas D., Kim A., Maier D. M., Scott K., Galanko J.A., Ringel Y. Altered Colonic Bacterial Fermentation as a Potential Pathophysiological Factor in Irritable Bowel Syndrome // The American Journal of Gastroenterology. – 2015. – Vol.110. - №9. – P.1339–1346

104. Rios-Covián D., Ruas-Madiedo P., Margolles A., Gueimonde M., de los Reyes-Gavilán C.G., Salazar N. Intestinal Short Chain Fatty Acids and their Link with Diet and Human Health // *Frontiers in Microbiology*. – 2016. – Vol.7
105. Rizzatti G., Lopetuso L. R., Gibiino G., Binda C., Gasbarrini A. (2017). Proteobacteria: A Common Factor in Human Diseases // *BioMed Research International*. – 2017. – P.1–7
106. Rokana N., Singh R., Mallappa R.H., Batish V.K., Grover S. Modulation of intestinal barrier function to ameliorate Salmonella infection in mice by oral administration of fermented milks produced with *Lactobacillus plantarum* MTCC 5690 - a probiotic strain of Indian gut origin // *Journal of Medical Microbiology*. – 2016. – Vol.65. - №12. –P.1482-1493
107. Salim S.Y., Söderholm J.D. Importance of disrupted intestinal barrier in inflammatory bowel diseases // *Inflammatory Bowel Diseases*. – 2011. – Vol.17. - №1. – P.362–81
108. Salvo-Romero E., Martínez C., Lobo B., Rodiño-Janeiro B.K., Pigrau M., Sánchez-Chardi A.D., Gonzalez-Castro A.M., Fortea M., Pardo-Camacho C., Nieto A., Exposito E., Guagnozzi D., Rodriguez-Urrutia A., de Torres I., Farre R., Azpizor F., Alonso-Cotoner C., Sansos J., Vicario M. Overexpression of corticotropin-releasing factor in intestinal mucosal eosinophils is associated with clinical severity in Diarrhea-Predominant Irritable Bowel Syndrome // *Scientific Reports*. – 2020. – Vol.10. - №1
109. Sanchez-Morate E., Gimeno-Mallench L., Stromsnes K., Sanz-Ros J., Román-Domínguez A., Parejo-Pedrajas S., Ingles M., Olaso G., Gambini J., Mas-Bargues C. Relationship between Diet, Microbiota, and Healthy Aging // *Biomedicines*. – 2020. – Vol.8. - №8. – P.287
110. Saulnier D. M., Riehle K., Mistretta T., Diaz M., Mandal D., Raza S., Weidler E.M., Qin X., Coarfa C., Milosavljevic A., Petrosino J.F., Highlander S., Gibbs R., Lynch S.V., Shulman R.J., Versalovic J. Gastrointestinal Microbiome Signatures of Pediatric Patients With Irritable Bowel Syndrome // *Gastroenterology*. – 2011. – Vol.141. - №5. – P.1782–1791

111. Scaldaferri F., Pizzoferrato M., Gerardi V., Lopetuso L., Gasbarrini A. The gut barrier: new acquisitions and therapeutic approaches // *Journal of Clinical Gastroenterology*. – 2012. – Vol.46. – P.12–17
112. Schneeberger E.E., Lynch R.D. The tight junction: a multifunctional complex // *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. – 2004. - Vol.286. - №5. – P.1213–1228
113. Schoultz I., Keita Å. V. The Intestinal Barrier and Current Techniques for the Assessment of Gut Permeability // *Cells*. – 2020. – Vol.9. - №8
114. Scott K.P., Martin J.C., Campbell G., Mayer C.-D., Flint H.J. Whole-Genome Transcription Profiling Reveals Genes Up-Regulated by Growth on Fucose in the Human Gut Bacterium “*Roseburia inulinivorans*” // *Journal of Bacteriology*. – 2006. – Vol.188. - №12. – P.4340–4349
115. Shaidullov I. F., Sorokina D. M., Sitdikov F. G., Hermann A., Abdulkhakov S. R., Sitdikova, G. F. Short chain fatty acids and colon motility in a mouse model of irritable bowel syndrome // *BMC Gastroenterology*. – 2021. – Vol.21. - №1. – P.21-37
116. Shi H., Wan J., Liu W., Su B.B. An analysis of clinical difference between post infectious irritable bowel syndrome and non post infectious irritable bowel syndrome (in Chinese) // *Chinese Journal of Internal Medicine*. – 2015. - Vol. 54. - №4. – P.326-9
117. Shukla R., Ghoshal U., Dhole T. N., Ghoshal U. C. Fecal Microbiota in Patients with Irritable Bowel Syndrome Compared with Healthy Controls Using Real-Time Polymerase Chain Reaction: An Evidence of Dysbiosis // *Digestive Diseases and Sciences*. – 2015. – Vol.60. - №10. – P.2953–2962
118. Sinagra E., Morreale G. C., Mohammadian G., Fusco G., Guarnotta V., Tomasello G., Cappello F., Rossi F., Amvrosiadis G., Raimondo D. New therapeutic perspectives in irritable bowel syndrome: Targeting low-grade inflammation, immuno-neuroendocrine axis, motility, secretion and beyond // *World Journal of Gastroenterology*. – 2017. – Vol.23. - №36. – P.6593–6627

119. Sinagra E., Pompei G., Tomasello G., Cappello F., Morreale G. C., Amvrosiadis G., Rossi F., Lo Monte A.I., Rizzo A.G., Raimondo D. Inflammation in irritable bowel syndrome: Myth or new treatment target? // *World Journal of Gastroenterology*. – 2016. – Vol.22. - №7. – P.2242–2255
120. Singh P., Silvester J., Chen X., Xu H., Sawhney V., Rangan V., Iturrino J., Nee J., Duerksen D.R., Lembo A. Serum zonulin is elevated in IBS and correlates with stool frequency in IBS-D // *United European Gastroenterology Journal*. – 2019. – Vol.0. - №0. – P.1-7
121. Su T., Liu R., Lee A., Long Y., Du L., Lai S., Chen X., Wang L., Si J., Owyang C., Chen S. Altered Intestinal Microbiota with Increased Abundance of *Prevotella* Is Associated with High Risk of Diarrhea-Predominant Irritable Bowel Syndrome // *Gastroenterology Research and Practice*. – 2018. – P.1–9
122. Sun Q., Jia Q., Song L., Duan L. (2019). Alterations in fecal short-chain fatty acids in patients with irritable bowel syndrome // *Medicine*. – 2019. – Vol.98. - №7
123. Sun Q.H., Liu Z.J., Zhang L., Wei H., Song L.J., Zhu S.W., He M.B., Duan L.P. Sex-based differences in fecal short-chain fatty acid and gut microbiota in irritable bowel syndrome patients // *Journal of Digestive Diseases*. – 2021. – Vol.22. - №5. – P.246–255
124. Sundin J., Rangel I., Fuentes S., Heikamp-de Jong I., Hultgren-Hörnquist E., de Vos W.M., Brummer R.J. Altered faecal and mucosal microbial composition in post-infectious irritable bowel syndrome patients correlates with mucosal lymphocyte phenotypes and psychological distress // *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. – 2014. – Vol.41. - №4. –P.342–351
125. Sundin O.H., Mendoza-Ladd A., Zeng M., Diaz-Arévalo D., Morales E., Fagan B.M., Ordonex J., Velez P., Antony N., McCallum R.W. The human jejunum has an endogenous microbiota that differs from those in the oral cavity and colon // *BMC Microbiology*. – 2017. – Vol.17. - №1

126. Sung N.H., Poong-Lyul R. Unraveling the ties between irritable bowel syndrome and intestinal microbiota // *World Journal of Gastroenterology*. -2014. – Vol.20. - №10. – P.2470–81
127. Taki M., Oshima T., Li M., Sei H., Tozawa K., Tomita T., Fukui H., Watari J., Miwa H. Duodenal low-grade inflammation and expression of tight junction proteins in functional dyspepsia // *Journal of Neurogastroenterology and Motility*. – 2019. – Vol.31. - №10
128. Tap J., Mondot S., Levenez F., Pelletier E., Caron C., Furet J.P., Furet J-P., Ugarte E., Munoz-Tamayo R., Paslier D.L.E., Nalin R., Dore J., Leclerc M. Towards the human intestinal microbiota phylogenetic core // *Environmental Microbiology*. – 2009. – Vol.11. - №10. – P.2574–84
129. Thomson A., Smart K., Somerville M.S., Lauder S.N., Appanna G., Horwood J., Sunder Raj L., Srivastava B., Durai D., Scurr M.J., Keita A.V., Gallimore A.M., Godkin A. The Ussing chamber system for measuring intestinal permeability in health and disease // *BMC Gastroenterology*. – 2019. – Vol.19. - №1
130. Thursby E., Juge N. Introduction to the human gut microbiota // *Biochemical Journal*. – 2017. – Vol.474. - №11. – P.1823–1836
131. Undseth R., Berstad A.,Valeur J. (2016). Systemic symptoms in irritable bowel syndrome: An investigative study on the role of enterocyte disintegrity, endotoxemia and inflammation // *Molecular Medicine Reports*. – 2016. – Vol.14. - №6. – P.5072–507
132. Vakil N., Stelwag M., Shea E. P., Miller S. Symptom burden and consulting behavior in patients with overlapping functional disorders in the US population // *United European Gastroenterology Journal*. – 2015. – Vol.4. - №3. P.413–422
133. Van der Beek C.M., Canfora E.E., Lenaerts K., Troost F.J., Damink S.W.M.O., Holst, J.J., Masclee A.A.M., Dejong C.H.C., Blaak E.E. Distal, not proximal, colonic acetate infusions promote fat oxidation and improve metabolic

markers in overweight/obese men // *Clinical Science*. – 2016. – Vol.130. - №22. – P.2073–2082

134. Vancamelbeke M., Md P. The intestinal barrier: a fundamental role in health and disease // *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*. – 2017. – Vol.11. - №9. – P.821-834

135. Vanheel H., Vicario M., Vanuytsel T., Van Oudenhove L., Martinez C., Keita Å. V., Pardon N., Santos J., Soderholm J.D., Tack J., Farre R. Impaired duodenal mucosal integrity and low-grade inflammation in functional dyspepsia // *Gut* - 2013. - Vol.63. - №2. - P.262–271

136. Vazquez-Roque M.I., Camilleri M., Smyrk T., Murray J.A., O'Neill J., Carlson P., Lamsam J., Eckert D., Janzow D., Burton D., Ryks M., Rhoten D., Zinsmeister A.R. Association of HLA-DQ gene with bowel transit, barrier function, and inflammation in irritable bowel syndrome with diarrhea // *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology*. - 2012. - Vol.303. - №11. - P.1262-1269

137. Walker M. M., Warwick A., Ung C., Talley N. J. The Role of Eosinophils and Mast Cells in Intestinal Functional Disease // *Current Gastroenterology Reports*. – 2011. – Vol.13. - №4. – P.323–330

138. Wang L., Llorente C., Hartmann P., Yang A.-M., Chen P., Schnabl B. Methods to determine intestinal permeability and bacterial translocation during liver disease // *Journal of Immunological Methods*. – 2015. – Vol.421. – P.44–53

139. Westbrook A. M., Szakmary A., Schiestl R. H. Mechanisms of intestinal inflammation and development of associated cancers: Lessons learned from mouse models // *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*. – 2015. – Vol.705. - №1. – C.40–59

140. Wibowo A. A., Pardjianto B., Sumitro S. B., Kania N., Handono K. Decreased expression of MUC2 due to a decrease in the expression of lectins and apoptotic defects in colitis patients // *Biochemistry and Biophysics Reports*. - 2019. - Vol.5. - №19

141. Wilcz-Villega E., McClean S., O'Sullivan M. Reduced E-cadherin expression is associated with abdominal pain and symptom duration in a study of alternating and diarrhea predominant IBS // *Neurogastroenterology & Motility*. – 2014. – Vol.26. - №.3. – C.316–325
142. Yamashita M. S. de A.Melo, E. O. Mucin 2 (MUC2) promoter characterization: an overview // *Cell and Tissue Research*. – 2018
143. Zaleski A., Banaszkiwicz A., Walkowiak J. Butyric acid in irritable bowel syndrome // *Gastroenterology Review*. - 2013. - Vol.6. - P.350–353
144. Zeng J., Li Y.Q., Zuo X.L., Zhen Y.B., Yang J., Liu C.H. Clinical trial: effect of active lactic acid bacteria on mucosal barrier function in patients with diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome // *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. – 2008. – Vol.28. - №8. – P.994-1002
145. Zhong L., Shanahan E.R., Raj A., Koloski N.A., Fletcher L., Morrison M., Walker M.M., Talley N.J., Holtmann G. Dyspepsia and the microbiome: time to focus on the small intestine // *Gut*. - 2017. - Vol.66. - №6. - C.1168-1169
146. Zhou Q., Costinean S., Croce C.M., Brasier A.R., Merwat S., Larson S.A., Basra S., Verne G.N. MicroRNA 29 targets nuclear factor- κ B-repressing factor and Claudin 1 to increase intestinal permeability // *Gastroenterology*. - 2015. - Vol.148. - №1. - C.158-169
147. Zhuang X., Tian Z., Li L., Zeng Z., Chen M., Xiong, L. Fecal Microbiota Alterations Associated With Diarrhea-Predominant Irritable Bowel Syndrome // *Frontiers in Microbiology*. - 2018. - Vol.9

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Опросник The Short Form 36

1. В целом Вы бы оценили состояние Вашего здоровья как:(□)

1. Отличное	2. Очень хорошее	3. Хорошее	4. Посредственное	5. Плохое

2. Как бы Вы в целом оценили свое здоровье сейчас по сравнению с тем, что было год назад.(□)

1. Значительно лучше, чем год назад	2. Несколько лучше, чем год назад	3. Примерно так же, как год назад	4. Несколько хуже, чем год назад	5. Гораздо хуже, чем год назад

3. Следующие вопросы касаются физических нагрузок, с которыми Вы, возможно, сталкиваетесь в течение своего обычного дня. Ограничивает ли Вас состояние Вашего здоровья в настоящее время в выполнении перечисленных ниже физических нагрузок? Если да, то в какой степени?(□)

	1. Да, значительно ограничивает	2. Да, немного ограничивает	3. Нет, совсем не ограничивает
1. Тяжелые физические нагрузки, такие как бег, поднятие тяжестей, занятие силовыми видами спорта.			
2. Умеренные физические нагрузки, такие как передвинуть стол, поработать с пылесосом, собирать грибы или ягоды.			
3. Поднять или нести сумку с продуктами.			
4. Подняться пешком по лестнице на несколько пролетов.			
5. Подняться пешком по лестнице на один пролет.			
6. Наклониться, встать на колени, присесть на корточки.			
7. Пройти расстояние более одного километра.			
8. Пройти расстояние в несколько кварталов.			
9. Пройти расстояние в один квартал.			
10. Самостоятельно вымыться, одеться.			

4. Бывало ли за последние 4 недели, что Ваше физическое состояние вызывало затруднения в Вашей работе или другой обычной повседневной деятельности, вследствие чего: (□)

	1. Да	2. Нет
1. Пришлось сократить количество времени, затрачиваемое на работу или другие дела.		
2. Выполнили меньше, чем хотели.		
3. Вы были ограничены в выполнении какого-либо определенного вида работ или другой деятельности.		
4. Были трудности при выполнении своей работы или других дел (например, они потребовали дополнительных усилий).		

5. Бывало ли за последние 4 недели, что Ваше эмоциональное состояние вызывало затруднения в Вашей работе или другой обычной повседневной деятельности, вследствие чего: (□)

	1. Да	2. Нет
1. Пришлось сократить количество времени, затрачиваемого на работу или другие дела.		
2. Выполнили меньше, чем хотели.		
3. Выполнили свою работу или другие дела не так аккуратно, как обычно		

6. Насколько Ваше физическое и эмоциональное состояние в течение последних 4 недель мешало Вам проводить время с семьей, друзьями, соседями или в коллективе? (□)

1. Совсем не мешало	2. Немного	3. Умеренно	4. Сильно	5. Очень сильно мешало

7. Насколько сильную физическую боль Вы испытывали за последние 4 недели? (□)

1. Совсем не испытывал(а)	2. Очень слабую	3. Слабую	4. Умеренную	5. Сильную	6. Очень сильную

8. В какой степени боль в течение последних 4 недель мешала Вам заниматься Вашей нормальной работой (включая работу вне дома или по дому)? (□)

1. Совсем не мешало	2. Немного	3. Умеренно	4. Сильно	5. Очень сильно

9. Следующие вопросы касаются того, как Вы себя чувствовали и каким было Ваше настроение в течение последних 4 недель. Пожалуйста, на каждый вопрос дайте один ответ, который наиболее соответствует Вашим ощущениям. (□)

	1. Все время	2. Большую часть	3. Часто	4. Иногда	5. Редко	6. Ни разу

		времени				
1. Вы чувствовали себя бодрым (ой)?						
2. Вы сильно нервничали?						
3. Вы чувствовали себя таким(ой) подавленным (ой) что ничто не могло Вас взбодрить?						
4. Вы чувствовали себя спокойным(ой) и умиротворенным (ой)?						
5. Вы чувствовали себя полным (ой) сил и энергии?						
6. Вы чувствовали себя упавшим(ой) духом и печальным(ой)?						
7. Вы чувствовали себя измученным(ой)?						
8. Вы чувствовали себя счастливым(ой)?						
9. Вы чувствовали себя уставшим(ей)?						

10. Как часто за последние 4 недели Ваше физическое или эмоциональное состояние мешало Вам активно общаться с людьми (навещать друзей, родственников и т. п.)?(□)

1. Все время	2. Большую часть времени	3. Иногда	4. Редко	5. Ни разу

11. Насколько ВЕРНЫМ или НЕВЕРНЫМ представляются по отношению к Вам каждое из ниже перечисленных утверждений?(□)

	1. Определенно верно	2. В основном верно	3. Не знаю	4. В основном неверно	5. Определенно неверно
1. Мне кажется, что я более склонен к болезням, чем другие					
2. Мое здоровье не хуже, чем у большинства моих знакомых					
3. Я ожидаю, что мое здоровье ухудшится					
4. У меня отличное здоровье					

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Опросник 7 x 7

Были ли у Вас в течение последних семи дней следующие жалобы?

Отметьте в таблице (☑)

Жалобы:		1. Нет	2. 1 раз в неделю и реже	3. 2-3 раза в неделю	4. Ежедневно	5. Несколько раз в день
1.	Боль в области желудка (в верхней средней части живота)?					
2.	Чувство жжения в области желудка (в верхней средней части живота)?					
3.	Чувство переполнения в области желудка (в верхней средней части живота) после еды?					
4.	Раннее насыщение(возникает раннее чувство сытости)?					
5.	Боль в животе, уменьшающаяся после опорожнения кишечника?					
6.	Вздутие живота					

(Если отмечены пункты 1 / 2 / 5 / 6)

Укажите степень выраженности симптома.(☑)

Жалобы:	1. Незначительная	2. Умеренная	3. Выраженная
1. Боль в области желудка (в верхней средней части живота)?			
2. Чувство жжения в области желудка (в верхней средней части живота)?			
5. Боль в животе, уменьшающаяся после опорожнения кишечника?			
6. Вздутие живота			

Ваш стул реже 3-х раз в неделю?(☑)

1. Да		2. Нет	
-------	--	--------	--

Были ли у Вас в течение последних семи дней следующие жалобы: нарушение консистенции и/или частоты стула. Ваш стул...()

Жалобы:	1. Нет	2. 1 раз в неделю и реже	3. 2-3 раза в неделю	4. Ежедневно	5. Несколько раз в день
1. Чаще 3-х раз в день.					
2. Жидкий или кашицеобразный.					
3. Твердый или "орешками".					

ПРИЛОЖЕНИЕ В

Опросник Gastrointestinal Symptom Rating Scale

	1. Не беспокоило	2. Незначительно	3. Слабо	4. Умеренно	5. Достаточно сильно	6. Очень сильно	7. Нестерпимо
1. Беспокоила ли Вас боль в верхней части живота или под ложечкой в течение прошедшей недели?							
2. Беспокоила ли Вас изжога в течение прошедшей недели?							
3. Беспокоила ли Вас отрыжка с кислым или горьким привкусом в течение прошедшей недели?							
4. Беспокоили ли Вас за прошедшую неделю боли в животе натошак, сопровождающиеся желанием поест?							
5. Беспокоила ли Вас за прошедшую неделю тошнота?							
6. Беспокоило ли Вас в течение последней недели урчание в животе?							
7. Беспокоило ли Вас чувство распирания, переполнения, вздутие живота за прошедшую неделю?							
8. Беспокоила ли Вас за прошедшую неделю отрыжка воздухом							
9. Беспокоило ли Вас в течение прошедшей недели отхождение газов через кишечник,							

которое сопровождается уменьшением чувства вздутия живота?							
10. Беспокоили ли Вас запоры в течение прошедшей недели (затруднение при попытках опорожнить кишечник)?							
11. Беспокоило ли Вас учащение стула за прошедшую неделю?							
12. Беспокоил ли Вас в течение прошедшей недели неоформленный (кашицеобразный, размягченный, разжиженный) стул?							
13. Беспокоил ли Вас в течение прошедшей недели жесткий (крепкий, твердый) стул?							
14. Беспокоила ли Вас за прошедшую неделю потребность безотлагательно опорожнить кишечник (желание немедленно сходить в туалет, которым Вам трудно управлять)?							
15. Беспокоило ли Вас в течение прошедшей недели ощущение того, что Вы не можете полностью опорожнить кишечник?							