

DOI 10.29254/2077-4214-2026-1-180-259-270

UDC 616.36-003.826-06:616.34-008.87-008.6]-08

¹Kvit K. B., ²Kharchenko V. V., ¹Bodrevych B. B.**REBUILDING BRIDGES IN THE GUT-LIVER AXIS: MICROBIOME AND BARRIER INTEGRITY IN METABOLIC DYSFUNCTION-ASSOCIATED STEATOTIC LIVER DISEASE THERAPY**¹Danylo Halytsky Lviv National Medical University (Lviv, Ukraine)²Shupyk National Healthcare University of Ukraine (Kyiv, Ukraine)akskris88@gmail.com

Metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease (MASLD) is considered a multifactorial disorder that develops in the context of metabolic disturbances and systemic inflammation. Recent scientific data indicate an important role of the interaction between the gut and the liver in the development of this pathology. Changes in the composition of the intestinal microbiota and impairment of the intestinal barrier function may facilitate the entry of microbial components into the portal circulation, which potentially activates inflammatory mechanisms in the liver and sustains metabolic dysfunction. One of the markers of impaired intestinal barrier integrity is considered to be zonulin, a regulator of intercellular tight junctions of the intestinal epithelium. The aim of the study was to determine the association between indicators of intestinal permeability, characteristics of the intestinal microbiome, and clinical and metabolic features in patients with MASLD, as well as to evaluate possible changes in these parameters under the influence of therapy aimed at microbiome modification. The study involved 152 patients with MASLD and 47 individuals without signs of liver disease, who constituted the control group. Anthropometric, biochemical, and metabolic parameters were assessed. Analysis of the intestinal microbiome composition was performed using quantitative real-time PCR, and the concentration of fecal zonulin was determined by enzyme-linked immunosorbent assay. As part of the treatment, a comprehensive approach was applied, including lifestyle modification and microbiome-oriented therapy. Patients with MASLD demonstrated more pronounced metabolic disturbances, elevated levels of liver enzymes and inflammatory markers, as well as significantly higher levels of fecal zonulin compared with the control group. After treatment, improvement in metabolic parameters, a decrease in zonulin levels, and changes in the intestinal microbial profile were observed, indicating partial restoration of the intestinal barrier function. The results of the study demonstrate that MASLD is associated with intestinal microbiome dysbiosis and increased intestinal permeability, and that microbiome-targeted therapy may contribute to the restoration of intestinal barrier function and improvement of metabolic parameters.

Key words: MASLD, gut microbiome, zonulin, intestinal permeability, microbiome-targeted therapy.

Connection of the publication with planned research work.

The work is a part of SRW “Features of the pathogenesis, diagnosis, and treatment of diseases of the cardiovascular, digestive, endocrine, and respiratory systems in clinical and experimental settings” (state registration number 0120U002142).

Introduction.

Metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease (MASLD) has become the most prevalent chronic liver disease worldwide and represents a major component of the global metabolic disease burden. Closely linked with obesity, insulin resistance, and dyslipidemia, MASLD is increasingly recognized as a systemic disorder involving complex metabolic and inflammatory pathways rather than a purely hepatic condition [1, 2]. In recent years, growing attention has been directed toward the gut–liver axis, which plays a pivotal role in the initiation and progression of liver steatosis and metabolic inflammation [3].

The gut–liver axis represents a bidirectional communication system between the intestinal microbiota, intestinal barrier, portal circulation, and hepatic immune and metabolic pathways. Through the portal vein, the liver is continuously exposed to gut-derived metabolites, microbial components, and inflammatory mediators [4, 5]. Under physiological conditions, the intestinal barrier tightly regulates this interaction, preventing excessive translocation of microbial products. However, disruption of intestinal barrier integrity may result in increased permeability of the intestinal mucosa, a phenomenon often

referred to as “leaky gut syndrome.” This condition facilitates the translocation of endotoxins such as lipopolysaccharides (LPS) and other microbial metabolites into the portal circulation, thereby promoting hepatic inflammation, metabolic dysregulation, and progression of steatotic liver disease [6, 7].

One of the key regulators of intestinal permeability is zonulin, a protein that modulates the opening of tight junctions between intestinal epithelial cells. Elevated levels of zonulin have been associated with increased intestinal permeability and have been observed in various metabolic and inflammatory disorders [8, 9]. Recent studies suggest that patients with MASLD may exhibit increased circulating or fecal zonulin levels, reflecting impairment of the intestinal barrier. This dysfunction contributes to enhanced endotoxemia and activation of inflammatory signaling pathways in the liver, thereby linking intestinal barrier disruption with hepatic steatosis and metabolic inflammation [10].

At the same time, gut microbiome dysbiosis has been increasingly implicated in the pathogenesis of MASLD. Alterations in the relative abundance of major bacterial phyla, particularly changes in the Firmicutes/Bacteroidetes ratio, reduced microbial diversity, and expansion of pro-inflammatory bacterial species, may influence host metabolism, bile acid signaling, and energy homeostasis [11, 12]. Microbiota-derived metabolites, including short-chain fatty acids, bile acid derivatives, and endotoxins, can directly affect hepatic lipid metabolism, insulin sensitivity, and inflammatory responses [13, 14].

In recent years, increasing interest has emerged in microbiome-targeted therapeutic strategies aimed at restoring intestinal microbial balance and improving intestinal barrier function. Approaches including non-absorbable antibiotics, probiotics, and microbiome-modulating interventions have demonstrated potential in reducing dysbiosis, improving metabolic parameters, and attenuating inflammatory activity in patients with metabolic liver disease [15]. By modulating the gut microbiome and reinforcing intestinal barrier integrity, these strategies may contribute to improved metabolic control and potentially slow the progression of MASLD [16, 17].

Given the growing recognition of the gut–liver axis as a central mechanism in MASLD pathogenesis, further investigation of the relationships between gut microbiota composition, intestinal permeability markers such as zonulin, and metabolic liver disease remains essential.

The aim of the study.

To explore the interaction between gut microbiome alterations, zonulin-mediated intestinal permeability, and the development of metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease, as well as to evaluate the potential effects of microbiome-targeted therapy on intestinal barrier integrity and metabolic parameters in patients with MASLD.

Object and research methods.

A total of 152 patients diagnosed with MASLD were enrolled in the present study. The participants were recruited among outpatients treated in the therapeutic departments of “Truskavetskurort” LLC, the Medical Center “Intersono” (Departments No. 1 and No. 2), and the therapeutic unit of St. Panteleimon Hospital of the Lviv First Territorial Medical Association. During this study, the requirements of Good Clinical Practice (ICH E6(R2) GCP) and the Declaration of Helsinki of the World Medical Association were followed. Prior to the initiation of any procedures, all patients provided informed voluntary consent to participate in the study.

The inclusion criteria were: a confirmed diagnosis of MASLD established on the basis of clinical evaluation together with laboratory and instrumental investigations as well as the presence of informed consent.

The study population consisted of 85 women (55.9%) and 67 men (44.1%), with a mean age of 48.63±0.55 years.

The control group included 47 individuals without evidence of MASLD, matched by age and sex, with a mean age of 48.36±0.97 years.

The diagnosis of MASLD was supported by ultrasound examination, which demonstrated diffuse hyper-echogenicity of the hepatic parenchyma and an elevated hepatorenal index (HRI). According to ultrasound characteristics, hepatic steatosis was classified into the following stages:

S1: increased echogenicity of the liver parenchyma.

S2: mild hepatomegaly accompanied by increased parenchymal echogenicity and a fragmented vascular pattern.

S3: hepatomegaly with poor visualization of the vascular structures and reduced ultrasound penetration to the diaphragm [16].

Steatometry was additionally performed to complement ultrasound assessment. The following thresholds were applied: 0.65 dB/cm/MHz for S1, 0.71-0.76 dB/cm/MHz for S2, and ≥0.77 dB/cm/MHz for S3 [17].

Furthermore, MASLD was considered confirmed in the presence of hepatic steatosis on ultrasound or steatometry combined with cardiometabolic risk factors, including:

- Waist circumference >102 cm in men or >88 cm in women;
- Arterial blood pressure >130/85 mmHg or ongoing antihypertensive therapy;
- Plasma triglycerides >1.70 mmol/L or treatment with lipid-lowering agents;
- HDL cholesterol <1.0 mmol/L in men or <1.3 mmol/L in women;
- Fasting plasma glucose 5.6-6.9 mmol/L or HbA1c 5.7-6.4%;
- HOMA-IR index >3;
- High-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) >2 mg/L.

The exclusion criteria included laboratory-confirmed hepatitis B or C infection, alcohol consumption in hepatotoxic doses (30-40 g/day), autoimmune hepatitis, Wilson’s disease, inflammatory bowel disease, severe comorbid conditions (including cardiovascular, pulmonary, or renal diseases), malignancies that could potentially affect study outcomes, psychiatric disorders, and failure to comply with study procedures.

Microbiome analysis. Microbiome composition was assessed using quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR). Stool samples were stored at –20°C, and DNA extraction was performed using the phenol–chloroform method. DNA concentration and purity were evaluated with a NanoDrop ND-8000 spectrophotometer. PCR amplification was carried out using a Rotor-Gene 6000 thermocycler (QIAGEN, Germany) with Taq polymerase and gene-specific primers.

Zonulin determination. Fecal zonulin levels were measured using a Zonulin Stool ELISA kit, which allows quantitative determination of zonulin family peptides (ZFP) in human stool samples.

Considering that reference ranges for major bacterial phyla are not universally standardized, as they may vary substantially depending on geographic location, dietary habits, and lifestyle factors, an additional analysis was conducted in 45 practically healthy volunteers aged 18-59 years residing in the region where the study was performed. This subgroup was used to characterize the regional microbiome profile (**table 1**).

Table 1 – Microbiome composition in healthy volunteers (n=45)

Parameter	M	±m
Bacteroides, %	43.8	1.4
Firmicutes, %	35.26	0.89
Actinobacteria, %	7.38	0.41
Others, %	13.5	0.11
Firmicutes/Bacteroides index	3.55	0.4

Microbiome-targeted therapy. All patients with MASLD received recommendations on lifestyle modification, with particular emphasis on increasing physical activity and implementing dietary changes. Participants were advised to perform at least 150 minutes of moderate-intensity physical activity per week, divided into 3-5 sessions, combining aerobic exercises with resis-

tance training. Nutritional counseling aimed at reducing cholesterol levels was provided in accordance with the American Gastroenterological Association recommendations [4].

In addition, microbiome-targeted therapy was applied in order to promote restoration of intestinal microbial balance. The therapeutic protocol began with a 14-day course of rifaximin, administered at a dose of 400 mg three times daily (two 200 mg tablets per dose).

Starting from day 15, patients received *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745, one capsule twice daily for 30 days, together with essential phospholipids at a dose of 600 mg three times daily for the same duration.

Beginning on day 29, a probiotic preparation containing *Lactobacillus acidophilus* (LA-5) and *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* (BB-12) was introduced. The total probiotic concentration was 2×10^9 CFU, providing 1×10^9 CFU per capsule, administered twice daily for 12 weeks.

Statistical Analysis. Data were analyzed using Statistica 11.0 for Windows. Results are presented as mean \pm standard error ($M \pm m$). Student's t-test was used for comparing means, with significance defined as $p < 0.05$. Non-parametric methods were employed for variables not following normal distributions. Correlation analysis was used to explore relationships among parameters.

Research results and their discussion.

Table 2 presents the clinical and biochemical characteristics of patients with MASLD compared with the control group.

Table 2 – Clinical and biochemical parameters in patients with MASLD (n=152) and controls (n=47)

Parameter	MASLD (n=152)	Controls (n=47)	p-value
BMI	29.37 \pm 0.56	24.5 \pm 0.7	≤ 0.05
ALT	43.65 \pm 6.09	23.65 \pm 6.09	≤ 0.05
AST	44.9 \pm 2.23	23.9 \pm 2.23	≤ 0.05
GGT	54.45 \pm 3.58	31.45 \pm 3.58	≤ 0.05
hsCRP	3.5 \pm 0.29	1.2 \pm 0.29	≤ 0.05
Alkaline phosphatase	78.40 \pm 4.28	69.40 \pm 4.28	≤ 0.05
HOMA-IR index	3.6 \pm 1.23	2.2 \pm 1.34	≤ 0.05

Patients with MASLD demonstrated significantly higher values of BMI, ALT, AST, GGT, high-sensitivity C-reactive protein (hsCRP), alkaline phosphatase, and HOMA-IR index compared with the control group ($p \leq 0.05$), indicating the presence of metabolic disturbances and systemic inflammatory activity (**table 2**).

Table 3 summarizes the lipid profile parameters in patients with MASLD and the control group.

Table 3 – Lipid profile parameters in patients with MASLD and controls

Parameter	MASLD group (n=152)	Control group (n=47)	p-value
TC, mmol/L	6.2 \pm 0.21	5.2 \pm 0.28	≤ 0.05
TG, mmol/L	2.5 \pm 0.36	1.12 \pm 0.09	≤ 0.05
HDL-C, mmol/L	1.03 \pm 0.06	1.52 \pm 0.07	≤ 0.05
LDL-C, mmol/L	3.98 \pm 0.17	3.2 \pm 0.23	≤ 0.05
VLDL-C, mmol/L	1.09 \pm 0.16	0.77 \pm 0.07	> 0.05

Patients with MASLD exhibited significantly higher levels of total cholesterol, triglycerides, and LDL-cholesterol, whereas HDL-cholesterol levels were significantly lower compared with the control group ($p < 0.05$). No statistically significant difference was observed for VLDL-cholesterol levels.

These findings indicate the presence of atherogenic dyslipidemia in patients with MASLD.

Fecal zonulin levels were analyzed in patients with MASLD and in the control group.

Figure 1 shows that patients with MASLD had significantly higher fecal zonulin levels compared with the control group (109 \pm 2.76 vs 45 \pm 0.86 ng/g, $p < 0.05$), indicating increased intestinal permeability.

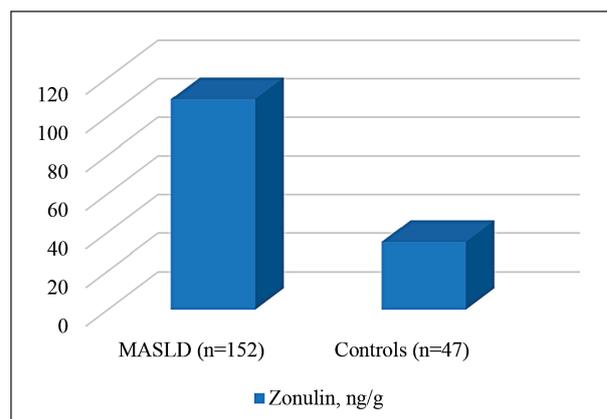


Figure 1 – Fecal zonulin levels in patients with MASLD and controls.

Further analysis revealed differences depending on the clinical form of the disease. The mean zonulin concentration reached 113 ng/g in patients with steatohepatitis and 104 ng/g in patients with simple steatosis, with both values exceeding the upper reference limit.

Patients in the main group received microbiome-targeted combined therapy aimed at correcting gut microbiota imbalance and improving metabolic and biochemical parameters associated with MASLD. Patients who failed to comply with the treatment protocol or discontinued therapy due to newly developed comorbidities were excluded from the analysis. As a result, 95 patients completed the full course of treatment and were included in the final evaluation.

Table 4 – Biochemical parameters in patients with MASLD before and after therapy (n=95)

Parameter	Before treatment	After treatment	p
BMI	29.37 \pm 0.58	27.9 \pm 0.43	> 0.05
ALT	45.12 \pm 2.78	29.5 \pm 2.18	≤ 0.05
AST	37.45 \pm 3.01	19.9 \pm 1.36	≤ 0.05
GGT	51.83 \pm 1.45	32.78 \pm 1.48	> 0.05
hsCRP	3.5 \pm 0.12	1.58 \pm 0.45	≤ 0.05
Alkaline phosphatase	76.59 \pm 3.67	48.4 \pm 3.28	≤ 0.05
HOMA-IR index	3.56 \pm 0.89	1.7 \pm 0.35	≤ 0.05

As presented in **table 4**, following treatment, patients demonstrated significant improvements in several biochemical parameters, including ALT, AST, hsCRP, alkaline phosphatase, and HOMA-IR index ($p < 0.05$). No sta-

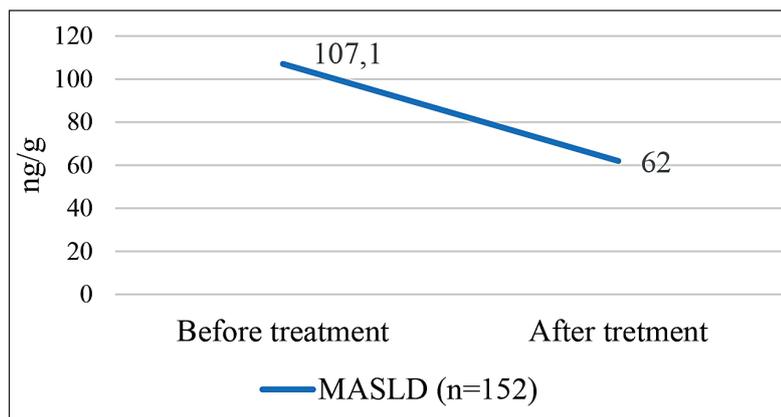


Figure 2 – Zonulin levels before and after treatment in patients with MASLD.

Table 5 – Liver elastography parameters in patients with MASLD before and after treatment (n=95)

Parameter	Before treatment	After treatment
Mean liver stiffness (kPa)	6.85	5.87
Portal vein diameter (cm)	1.2	1.1

tistically significant change in BMI was observed. These findings suggest improvement in metabolic status and reduction of systemic inflammatory activity after combined therapy.

Liver elastography data were analyzed in a subgroup of patients with MASLD (n=95).

Table 5 shows a reduction in liver stiffness after treatment, with the mean elastography value decreasing from 6.85 kPa before therapy to 5.87 kPa after therapy, indicating an improvement in liver parenchymal condition.

Given that the combined therapy included probiotic and microbiome-modulating agents, gut microbiome

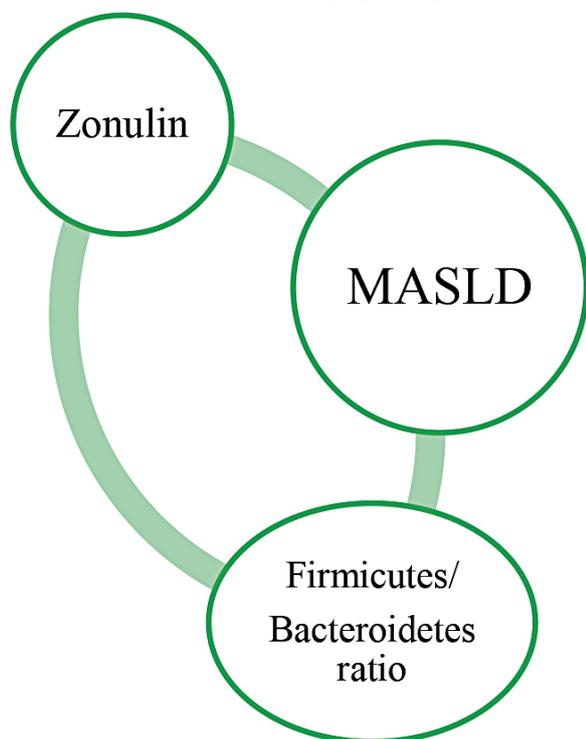


Figure 3 – Correlational relationship between zonulin level and Firmicutes/Bacteroidetes ratio in patients with MASLD.

composition was analyzed before and after treatment.

After therapy, patients demonstrated:

- an increase in Bacteroidetes levels
- a slight decrease in Firmicutes abundance
- a reduction of the Firmicutes/Bacteroidetes ratio from 4.9 to 3.2.

In addition, the relative abundance of Actinobacteria decreased from 21% before treatment to 11% after therapy.

Treatment was also associated with a significant decrease in fecal zonulin levels, reflecting improvement of intestinal barrier function (figure 2).

In patients with MASLD the decreasing of zonulin level was approximately 1.7-fold (from 107.1 to 62 ng/g).

A moderate positive correlation was observed between zonulin levels and the Firmicutes/Bacteroidetes ratio ($r=0.53, p<0.05$), suggesting a relationship between intestinal permeability and gut microbiome composition (figure 3).

The present findings further support the concept that the gut–liver axis plays a central role in the pathogenesis and progression of metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease. In addition to metabolic disturbances and dyslipidemia, patients with MASLD demonstrate alterations in intestinal barrier integrity and gut microbiome composition, highlighting the complex interplay between metabolic, microbial, and inflammatory pathways.

Patients with MASLD exhibited significantly higher body mass index, liver enzyme levels, inflammatory markers, and indices of insulin resistance compared with the control group. These findings reflect the well-established association between MASLD and components of metabolic syndrome, including obesity, dyslipidemia, and systemic low-grade inflammation. Elevated levels of ALT, AST, and GGT are in line with previous evidence indicating hepatocellular injury and metabolic liver dysfunction in MASLD.

A key observation of this study was the significant elevation of fecal zonulin levels in patients with MASLD, suggesting impairment of intestinal barrier integrity. Zonulin is recognized as a physiological regulator of tight junction permeability in intestinal epithelial cells. Increased zonulin levels are associated with enhanced intestinal permeability, which facilitates the translocation of microbial components and endotoxins into the portal circulation. This process may activate hepatic inflammatory pathways, including toll-like receptor signaling and Kupffer cell activation, thereby contributing to hepatic steatosis and disease progression.

Growing evidence indicates that increased intestinal permeability represents an important pathogenic factor in MASLD. Endotoxemia resulting from barrier dysfunction has been shown to stimulate hepatic inflammation and lipid accumulation. In this context, elevated zonulin levels may reflect functional disruption of the intestinal barrier, allowing bacterial products such as lipopolysaccharides to enter the portal circulation and promote metabolic inflammation within the liver.

In addition to barrier dysfunction, significant alterations in gut microbiome composition were observed,

particularly in the balance between the dominant bacterial phyla Firmicutes and Bacteroidetes. Dysbiosis characterized by changes in the Firmicutes/Bacteroidetes ratio has previously been associated with metabolic disorders, including obesity and MASLD. Such microbial alterations may influence host metabolism through several mechanisms, including modulation of bile acid metabolism, production of short-chain fatty acids, and regulation of intestinal permeability.

Importantly, a moderate positive correlation was identified between fecal zonulin levels and the Firmicutes/Bacteroidetes ratio. This finding further supports the relationship between gut microbiome alterations and intestinal barrier dysfunction. Certain microbial communities may stimulate zonulin release, contributing to disruption of tight junction integrity and increased intestinal permeability. In turn, impaired barrier function may facilitate microbial translocation and sustain hepatic inflammation.

Another important aspect of the study was the evaluation of microbiome-targeted therapy as a potential strategy for modulating the gut–liver axis in MASLD. Combined therapy including rifaximin, probiotics, and microbiome-modulating interventions was associated with significant improvements in several biochemical parameters, including reductions in liver enzyme levels, inflammatory markers, and indices of insulin resistance. These findings suggest that correction of gut microbiome imbalance may have beneficial effects on metabolic and inflammatory pathways involved in MASLD.

Notably, treatment was also associated with a significant decrease in fecal zonulin levels, indicating improvement of intestinal barrier integrity. Restoration of barrier function may reduce translocation of microbial endotoxins and attenuate hepatic inflammatory signaling, which may partly explain the observed improvement in metabolic and biochemical parameters following therapy.

In addition, changes in gut microbiome composition were observed after treatment, including an increase in Bacteroidetes abundance, a decrease in Firmicutes levels, and normalization of the Firmicutes/Bacteroidetes ratio. These changes suggest that microbiome-targeted therapy may contribute to restoration of microbial balance, which in turn may support improved intestinal barrier function and metabolic homeostasis.

Taken together, these findings support the concept that MASLD is closely associated with disturbances in the gut–liver axis, including intestinal dysbiosis and increased intestinal permeability. Zonulin may serve as a

useful marker of intestinal barrier dysfunction and may represent a potential mechanistic link between gut microbiome alterations and metabolic liver disease.

Several limitations should be considered when interpreting these results. The sample size for some analyses was relatively limited, and the observational design does not allow definitive conclusions regarding causality. Further large-scale prospective studies are required to better clarify the mechanistic relationships between microbiome composition, intestinal permeability, and MASLD progression.

Overall, the results emphasize the important role of the gut microbiome–intestinal barrier axis in MASLD pathogenesis and suggest that microbiome-targeted interventions may represent a promising complementary strategy for improving metabolic and inflammatory parameters in affected patients.

Conclusions.

The findings of this study confirm the significant role of the gut–liver axis in the pathogenesis of metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease. Patients with MASLD demonstrated pronounced metabolic disturbances accompanied by alterations in gut microbiome composition and increased intestinal permeability.

Elevated fecal zonulin levels observed in patients with MASLD indicate impairment of intestinal barrier integrity and may reflect enhanced intestinal permeability contributing to metabolic and inflammatory processes in the liver.

A moderate positive correlation between zonulin levels and the Firmicutes/Bacteroidetes ratio further supports the close relationship between gut microbiome alterations and intestinal barrier dysfunction.

Implementation of microbiome-targeted therapy was associated with improvements in metabolic and biochemical parameters, normalization of gut microbiome composition, and a significant reduction in fecal zonulin levels, suggesting restoration of intestinal barrier function.

These findings highlight the potential importance of microbiome modulation and intestinal barrier restoration as therapeutic targets in MASLD, emphasizing the relevance of microbiome-oriented strategies in the comprehensive management of metabolic liver disease.

Prospects for further research.

Further studies are needed to clarify the long-term clinical effects of microbiome-targeted interventions and their role in preventing progression of MASLD.

DOI 10.29254/2077-4214-2026-1-180-259-270

УДК 616.36-003.826-06:616.34-008.87-008.6]-08

¹Квіт К. Б., ²Харченко В. В., ¹Бодревич Б. Б.

ВІДНОВЛЕННЯ ВЗАЄМОДІЇ В ОСІ «КИШКІВНИК–ПЕЧІНКА»: МІКРОБІОМ І ЦІЛІСНІСТЬ КИШКОВОГО БАР'ЄРА В ТЕРАПІЇ МЕТАБОЛІЧНО АСОЦІЙОВАНОЇ СТЕАТОТИЧНОЇ ХВОРОБИ ПЕЧІНКИ

¹Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького (м. Львів, Україна)

²Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика (м. Київ, Україна)

akskris88@gmail.com

Метаболічно асоційована стеатотична хвороба печінки (МАСХП) розглядається як мультифакторне захворювання, що формується на тлі метаболічних порушень та системного запалення. Останні наукові дані свідчать про важливу роль взаємодії між кишківником і печінкою у розвитку цієї патології. Зміни

складу кишкової мікробіоти та порушення бар'єрної функції кишківника можуть сприяти надходженню мікробних компонентів у порталний кровообіг, що потенційно активує запальні механізми в печінці та підтримує метаболічну дисфункцію. Одним із маркерів порушення цілісності кишкового бар'єра вважають зонулін – регулятор міжклітинних щільних контактів епітелію кишківника. Мета – визначити зв'язок між показниками кишкової проникності, характеристиками кишкового мікробіому та клініко-метаболічними особливостями у пацієнтів із МАСХП, а також оцінити можливі зміни цих показників під впливом терапії, спрямованої на модифікацію мікробіому. До дослідження було залучено 152 пацієнти з МАСХП і 47 осіб без ознак захворювання печінки, які склали контрольну групу. Оцінювали антропометричні, біохімічні та метаболічні показники. Аналіз складу кишкового мікробіому проводили за допомогою кількісної ПЛР у реальному часі, а концентрацію фекального зонуліну визначали методом імуноферментного аналізу. У межах лікування застосовували комплексний підхід, що включав модифікацію способу життя та мікробіом-орієнтовану терапію. У пацієнтів із МАСХП виявлено більш виражені метаболічні порушення, підвищені рівні печінкових ферментів і маркерів запалення, а також значно вищі показники фекального зонуліну порівняно з контрольною групою. Після проведеного лікування спостерігалось покращення метаболічних параметрів, зниження показників зонуліну та зміни мікробного профілю кишківника, що свідчить про часткове відновлення бар'єрної функції кишківника. Результати дослідження демонструють, що МАСХП асоціюється з дисбіозом кишкового мікробіому та підвищеною кишковою проникністю, а мікробіом-таргетна терапія може сприяти відновленню бар'єрної функції кишківника та покращенню метаболічних показників.

Ключові слова: МАСХП, кишковий мікробіом, зонулін, кишкова проникність, мікробіом-таргетна терапія.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.

Робота є фрагментом НДР «Особливості патогенезу, діагностики та лікування захворювань серцево-судинної, травної, ендокринної та дихальної систем у клінічних та експериментальних умовах» (номер державної реєстрації 0120U002142).

Вступ.

Метаболічно асоційована стеатотична хвороба печінки (МАСХП, MASLD) стала найпоширенішим хронічним захворюванням печінки у світі та становить значну складову глобального тягаря метаболічних захворювань. Тісно пов'язана з ожирінням, інсулінорезистентністю та дисліпідемією, МАСХП дедалі частіше розглядається як системний розлад, що включає складні метаболічні та запальні механізми, а не як виключно печінкове захворювання [1, 2]. В останні роки зростає увага до осі «кишківник–печінка», яка відіграє ключову роль в ініціації та прогресуванні стеатозу печінки й метаболічного запалення [3].

Вісь «кишківник–печінка» являє собою двоспрямовану систему комунікації між кишковою мікробіотою, кишковим бар'єром, порталним кровообігом та імунними й метаболічними шляхами печінки. Через воротну вену печінка постійно зазнає впливу метаболітів кишкового походження, мікробних компонентів та запальних медіаторів [4, 5]. У фізіологічних умовах кишковий бар'єр жорстко регулює цю взаємодію, запобігаючи надмірній транслокації мікробних продуктів. Проте порушення цілісності кишкового бар'єра може призводити до підвищення проникності слизової оболонки кишківника – явища, яке часто називають «синдромом дірявого кишківника». Цей стан полегшує транслокацію ендотоксинів, таких як ліпополісахариди (LPS), та інших мікробних метаболітів у порталний кровообіг, тим самим сприяючи запаленню в печінці, метаболічній дисрегуляції та прогресуванню стеатотичної хвороби печінки [6, 7].

Одним із ключових регуляторів кишкової проникності є зонулін – білок, що модулює відкриття щільних контактів між епітеліальними клітинами кишківника. Підвищені рівні зонуліну асоціюються зі збільшеною

кишковою проникністю і виявляються при різних метаболічних та запальних захворюваннях [8, 9]. Останні дослідження свідчать, що у пацієнтів із МАСХП можуть визначитися підвищені рівні циркулюючого або фекального зонуліну, що відображає порушення кишкового бар'єра. Така дисфункція сприяє посиленій ендотоксемії та активації запальних сигнальних шляхів у печінці, поєднуючи порушення кишкового бар'єра з печінковим стеатозом і метаболічним запаленням [10].

Водночас дедалі більше уваги в патогенезі МАСХП приділяється дисбіозу кишкового мікробіому. Зміни відносної кількості основних бактеріальних типів, зокрема співвідношення Firmicutes/Bacteroidetes, зниження мікробного різноманіття та збільшення кількості прозапальних бактеріальних видів можуть впливати на метаболізм господаря, сигнальні шляхи жовчних кислот і енергетичний гомеостаз [11, 12]. Метаболіти мікробіоти, включаючи коротколанцюгові жирні кислоти, похідні жовчних кислот та ендотоксини, можуть безпосередньо впливати на ліпідний метаболізм у печінці, чутливість до інсуліну та запальні реакції [13, 14].

В останні роки зростає інтерес до мікробіом-таргетних терапевтичних стратегій, спрямованих на відновлення кишкового мікробного балансу та покращення бар'єрної функції кишківника. Підходи, що включають неабсорбовані антибіотики, пробіотики та інші мікробіом-модулювальні втручання, продемонстрували потенціал у зменшенні дисбіозу, покращенні метаболічних показників і зниженні запальної активності у пацієнтів із метаболічними захворюваннями печінки [15]. Модулюючи кишковий мікробіом і зміцнюючи цілісність кишкового бар'єра, такі підходи можуть сприяти покращенню метаболічного контролю та потенційно сповільнювати прогресування МАСХП [16, 17].

З огляду на зростаюче визнання осі «кишківник–печінка» як центрального механізму в патогенезі МАСХП, подальше вивчення взаємозв'язків між складом кишкової мікробіоти, маркерами кишкової про-

никності, такими як зонулін, та метаболічною хворобою печінки залишається вкрай важливим.

Мета дослідження.

Визначити взаємозв'язок між змінами кишково-го мікробіому, зонулін-опосередкованою кишковою проникністю та розвитком метаболічно асоційованої стеатотичної хвороби печінки, а також оцінити потенційні ефекти мікробіом-таргетної терапії на цілісність кишкового бар'єра та метаболічні показники у пацієнтів із МАСХП.

Об'єкт і методи дослідження.

У дослідження було включено 152 пацієнти з діагностованою МАСХП. Учасники були залучені серед амбулаторних пацієнтів терапевтичних відділень ТОВ «Трускавецькурорт», медичного центру «Інтерсоно» (відділення № 1 та № 2) та терапевтичного підрозділу лікарні Святого Пантелеймона Першого територіального медичного об'єднання м. Львова. Під час проведення даного дослідження було дотримано вимог Good Clinical Practice (ICH E2(R6) GCP) та Гельсінської Декларації Всесвітньої медичної організації. До початку будь-яких процедур усі пацієнти надали інформовану добровільну згоду на участь.

Критеріями включення були підтверджений діагноз МАСХП, встановлений на підставі клінічної оцінки у поєднанні з лабораторними та інструментальними дослідженнями, а також наявність інформованої згоди.

Досліджувану групу становили 85 жінок (55,9%) і 67 чоловіків (44,1%), середній вік яких становив 48,63±0,55 року.

До контрольної групи увійшли 47 осіб без ознак МАСХП, зіставних за віком і статтю, із середнім віком 48,36±0,97 року.

Діагноз МАСХП підтверджували за допомогою ультразвукового дослідження, яке демонструвало дифузну гіперехогенність паренхіми печінки та підвищений гепаторенальний індекс (HRI). Відповідно до ультразвукових характеристик стеатоз печінки класифікували на такі стадії:

S1: підвищена ехогенність паренхіми печінки;

S2: помірна гепатомегалія, підвищена ехогенність паренхіми та фрагментований судинний рисунок;

S3: гепатомегалія, нечітка візуалізація судинних структур і знижене ультразвукове проникнення до рівня діафрагми [16].

Стеатометрію додатково використовували як доповнення до ультразвукової оцінки. Застосовували такі порогові значення: 0,65 дБ/см/МГц для S1, 0,71-0,76 дБ/см/МГц для S2 та ≥0,77 дБ/см/МГц для S3 [17].

Крім того, МАСХП вважали підтвердженою за наявності стеатозу печінки за даними ультразвукового дослідження або стеатометрії у поєднанні з кардіо-метаболічними факторами ризику, серед яких:

- окружність талії >102 см у чоловіків або >88 см у жінок;
- артеріальний тиск >130/85 мм рт. ст. або проведення антигіпертензивної терапії;
- рівень тригліцеридів плазми >1,70 ммоль/л або лікування гіполіпідемічними препаратами;
- HDL-холестерин <1,0 ммоль/л у чоловіків або <1,3 ммоль/л у жінок;
- глюкоза плазми натще 5,6-6,9 ммоль/л або HbA1c 5,7-6,4%;

- індекс HOMA-IR >3;
- високочутливий С-реактивний білок (hs-CRP) >2 мг/л.

Критерії виключення включали лабораторно підтверджену інфекцію гепатиту В або С, вживання алкоголю у гепатотоксичних дозах (30-40 г/добу), автоімунний гепатит, хворобу Вільсона, запальні захворювання кишечника, тяжкі супутні стани (включаючи серцево-судинні, легеневі або ниркові захворювання), злоякісні новоутворення, які потенційно могли впливати на результати дослідження, психічні розлади та недотримання пацієнтом процедур дослідження.

Склад мікробіому оцінювали за допомогою кількісної полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі (qRT-PCR). Зразки калу зберігали при -20°C, а екстракцію ДНК проводили фенол-хлороформним методом. Концентрацію та чистоту ДНК оцінювали за допомогою спектрофотометра NanoDrop ND-8000. ПЛР-ампліфікацію виконували на термоциклері Rotor-Gene 6000 (QIAGEN, Німеччина) з використанням Taq-полімерази та специфічних праймерів.

Рівні фекального зонуліну визначали за допомогою набору Zonulin Stool ELISA, який дозволяє кількісно визначати пептиди родини зонуліну (ZFP) у зразках калу людини.

Зважаючи на те, що референтні межі для основних бактеріальних філ не є універсально стандартизованими, оскільки можуть істотно варіювати залежно від географічного регіону, характеру харчування та способу життя, було додатково проведено аналіз у 45 практично здорових добровольців віком 18-59 років, які проживали в регіоні проведення дослідження. Цю підгрупу використали для характеристики регіонального профілю мікробіому (табл. 1).

Таблиця 1 – Склад мікробіому у здорових добровольців (n=45)

Показник	M	±m
Bacteroides, %	43,8	1,4
Firmicutes, %	35,26	0,89
Actinobacteria, %	7,38	0,41
Інші, %	13,5	0,11
Firmicutes/Bacteroides індекс	3,55	0,4

Мікробіом-таргетна терапія. Усі пацієнти з МАСХП отримували рекомендації щодо модифікації способу життя з особливим акцентом на підвищенні фізичної активності та зміні харчування. Учасникам рекомендували виконувати щонайменше 150 хвилин фізичної активності помірної інтенсивності на тиждень, розподілених на 3-5 занять, із поєднанням аеробних вправ і силових навантажень. Харчові рекомендації, спрямовані на зниження рівня холестерину, надавалися відповідно до рекомендацій Американської гастроентерологічної асоціації [4].

Крім того, для відновлення кишкового мікробного балансу застосовували мікробіом-таргетну терапію. Терапевтичний протокол починався з 14-денного курсу рифаксиміну в дозі 400 мг тричі на добу (по дві таблетки по 200 мг на один прийом).

Починаючи з 15-го дня, пацієнти отримували *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 по 1 капсулі двічі

на добу протягом 30 днів разом з есенціальними фосфоліпідами в дозі 600 мг тричі на добу протягом того ж періоду.

Починаючи з 29-го дня, призначали пробіотичний препарат, що містив *Lactobacillus acidophilus* (LA-5) та *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* (BB-12). Загальна концентрація пробіотика становила 2×10^9 КУО, забезпечуючи 1×10^9 КУО в одній капсулі, яку призначали двічі на добу протягом 12 тижнів.

Дані аналізували за допомогою програми Statistica 11.0 for Windows. Результати подано як середнє значення \pm стандартна похибка середнього ($M \pm m$). Для порівняння середніх використовували t-критерій Стюдента, статистично значущими вважали відмінності при $p < 0,05$. Для змінних, що не відповідали нормальному розподілу, застосовували непараметричні методи. Кореляційний аналіз використовували для вивчення взаємозв'язків між показниками.

Результати дослідження та їх обговорення.

У таблиці 2 наведено клінічні та біохімічні характеристики пацієнтів із МАСХП порівняно з контрольною групою.

Таблиця 2 – Клінічні та біохімічні показники у пацієнтів із МАСХП (n=152) та в контрольній групі (n=47)

Показник	МАСХП (n=152)	Контроль (n=47)	p-value
ІМТ	29,37 \pm 0,56	24,5 \pm 0,7	$\leq 0,05$
АЛТ	43,65 \pm 6,09	23,65 \pm 6,09	$\leq 0,05$
АСТ	44,9 \pm 2,23	23,9 \pm 2,23	$\leq 0,05$
ГГТ	54,45 \pm 3,58	31,45 \pm 3,58	$\leq 0,05$
hsCRP	3,5 \pm 0,29	1,2 \pm 0,29	$\leq 0,05$
Лужна фосфатаза	78,40 \pm 4,28	69,40 \pm 4,28	$\leq 0,05$
Індекс НОМА-IR	3,6 \pm 1,23	2,2 \pm 1,34	$\leq 0,05$

У пацієнтів із МАСХП виявлено достовірно вищі значення BMI, ALT, AST, GGT, високочутливого С-реактивного білка (hsCRP), лужної фосфатази та індексу НОМА-IR порівняно з контрольною групою ($p \leq 0,05$), що свідчить про наявність метаболічних порушень і системної запальної активності (табл. 2).

У таблиці 3 узагальнено показники ліпідного профілю у пацієнтів із МАСХП та в контрольній групі.

Таблиця 3 – Показники ліпідного профілю у пацієнтів із МАСХП та в контрольній групі

Показник	Група МАСХП (n=152)	Контрольна група (n=47)	p-value
ЗХ, ммоль/л	6,2 \pm 0,21	5,2 \pm 0,28	$\leq 0,05$
ТГ, ммоль/л	2,5 \pm 0,36	1,12 \pm 0,09	$\leq 0,05$
ЛПВЩ, ммоль/л	1,03 \pm 0,06	1,52 \pm 0,07	$\leq 0,05$
ЛПНЩ, ммоль/л	3,98 \pm 0,17	3,2 \pm 0,23	$\leq 0,05$
ЛПДНЩ, ммоль/л	1,09 \pm 0,16	0,77 \pm 0,07	$> 0,05$

У пацієнтів із МАСХП спостерігалися достовірно вищі рівні загального холестерину, тригліцеридів та ЛПНЩ, тоді як рівні ЛПВЩ були достовірно нижчими порівняно з контрольною групою ($p < 0,05$). Для ЛПДНЩ статистично значущої різниці не виявлено.

Ці результати свідчать про наявність атерогенної дисліпідемії у пацієнтів із МАСХП.

Рівні фекального зонуліну аналізували у пацієнтів із МАСХП та в контрольній групі.

На **рисунок 1** показано, що у пацієнтів із МАСХП рівні фекального зонуліну були достовірно вищими порівняно з контрольною групою ($109 \pm 2,76$ проти

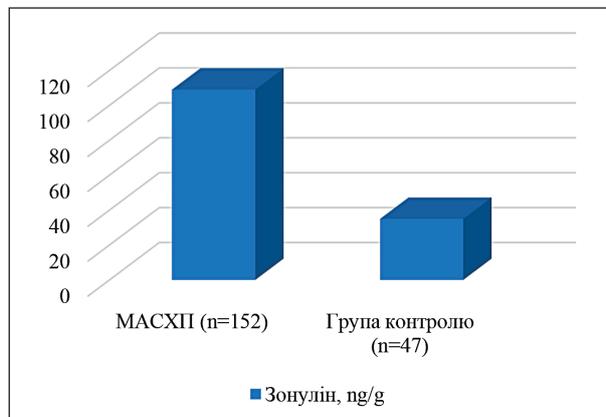


Рисунок 1 – Рівні фекального зонуліну у пацієнтів із МАСХП та в контрольній групі.

$45 \pm 0,86$ ng/g, $p \leq 0,05$), що свідчить про підвищену кишкову проникність.

Подальший аналіз виявив відмінності залежно від клінічної форми захворювання. Середня концентрація зонуліну досягала 113 ng/g у пацієнтів зі стеатогепатитом і 104 ng/g у пацієнтів із простим стеатозом, причому в обох випадках ці значення перевищували верхню межу норми.

Пацієнти основної групи отримували комбіновану мікробіом-таргетну терапію, спрямовану на корекцію дисбалансу кишкової мікробіоти та покращення метаболічних і біохімічних показників, пов'язаних із МАСХП. Пацієнтів, які не дотримувалися призначеного режиму лікування або припинили терапію у зв'язку з виникненням нових супутніх захворювань, було виключено з аналізу. У результаті повний курс лікування завершили 95 пацієнтів, яких і включили до фінальної оцінки.

Як показано в **таблиці 4**, після лікування у пацієнтів спостерігалось достовірне покращення кількох біохімічних показників, включаючи ALT, AST, hsCRP, лужну фосфатазу та індекс НОМА-IR ($p < 0,05$). Статистично значущих змін BMI не виявлено. Ці дані свідчать про покращення метаболічного стану та зменшення системної запальної активності після комбінованої терапії.

Таблиця 4 – Біохімічні показники у пацієнтів із МАСХП до та після терапії (n=95)

Показник	До лікування	Після лікування	p
ІМТ	29,37 \pm 0,58	27,9 \pm 0,43	$> 0,05$
АЛТ	45,12 \pm 2,78	29,5 \pm 2,18	$\leq 0,05$
АСТ	37,45 \pm 3,01	19,9 \pm 1,36	$\leq 0,05$
ГГТ	51,83 \pm 1,45	32,78 \pm 1,48	$> 0,05$
hsCRP	3,5 \pm 0,12	1,58 \pm 0,45	$\leq 0,05$
Лужна фосфатаза	76,59 \pm 3,67	48,4 \pm 3,28	$\leq 0,05$
Індекс НОМА-IR	3,56 \pm 0,89	1,7 \pm 0,35	$\leq 0,05$

Дані еластографії печінки були проаналізовані у підгрупі пацієнтів із МАСХП (n=95).

У таблиці 5 продемонстровано результати після лікування показників еластометрії, зокрема, спостережалося зниження показників жорсткості печінки: середнє значення еластографії зменшилося з 6,85 кПа до початку терапії до 5,87 кПа після лікування, що свідчить про покращення стану печінкової паренхіми.

З огляду на те, що комбінована терапія включала пробіотичні та мікробіом-модулювальні засоби, склад кишкового мікробіому аналізували до і після лікування.

Після терапії у пацієнтів спостережалося:

- збільшення рівня Bacteroidetes;
- незначне зменшення кількості Firmicutes;
- зниження співвідношення Firmicutes/Bacteroidetes з 4,9 до 3,2.

Крім того, відносна кількість Actinobacteria зменшилася з 21% до лікування до 11% після терапії.

Лікування також асоціювалося зі значним зниженням рівнів фекального зонуліну, що відображало покращення бар'єрної функції кишківника (рис. 2).

У пацієнтів із МАСХП рівень зонуліну після лікування знизився приблизно у 1,7 рази (зі 107,1 до 62 нг/г).

Виявлено помірний позитивний кореляційний зв'язок між рівнями зонуліну та співвідношенням Firmicutes/Bacteroidetes ($r=0,53$; $p<0,05$), що свідчить про взаємозв'язок між кишковою проникністю та складом кишкового мікробіому (рис. 3).

Результати проведеного дослідження підтверджують сучасне уявлення про важливу роль осі «кишківник–печінка» у патогенезі та прогресуванні метаболічно асоційованої стеатотичної хвороби печінки. Встановлено, що для пацієнтів із МАСХП характерні не лише метаболічні порушення та дисліпідемія, але й зміни бар'єрної функції кишківника та складу кишкового мікробіому, що свідчить про складну взаємодію метаболічних, мікробних і запальних механізмів.

У пацієнтів із МАСХП виявлялися достовірно вищі показники індексу маси тіла, рівнів печінкових ферментів, маркерів запалення та інсулінорезистентності порівняно з контрольною групою. Такі зміни відображають добре відомий зв'язок МАСХП із компонентами метаболічного синдрому, зокрема ожирінням, дисліпідемією та системним низькоградусним запаленням. Підвищення рівнів АЛТ, АСТ і ГГТ узгоджується з літературними даними щодо наявності гепатоцелюлярного ушкодження та метаболічної дисфункції печінки при МАСХП.

Одним із важливих результатів стало достовірне підвищення рівня фекального зонуліну у пацієнтів із МАСХП, що свідчить про порушення цілісності кишкового бар'єра. Зонулін є ключовим регулятором проникності щільних міжклітинних контактів кишкового епітелію, а підвищення його рівня асоціюється зі збільшенням кишкової проникності. Це створює умови для транслокації мікробних компонентів та ендотоксинів у портальний кровообіг, що може активувати печінкові запальні каскади, зокрема toll-like

Таблиця 5 – Показники еластографії печінки у пацієнтів із МАСХП до та після лікування

Показник	До лікування	Після лікування
Середня жорсткість печінки, кПа	6.85	5.87
Діаметр ворітної вени, см	1.2	1.1

ресептор-залежні сигнальні шляхи та клітини Купфера, сприяючи розвитку стеатозу та прогресуванню захворювання.

Зростання інтересу до ролі кишкової проникності в патогенезі МАСХП пов'язане з даними про те, що ендотоксемія, яка виникає внаслідок порушення кишкового бар'єра, здатна стимулювати запальні процеси у печінці та накопичення ліпідів. У цьому контексті підвищені рівні зонуліну можуть відображати функціональне порушення кишкового бар'єра, що полегшує потрапляння бактеріальних продуктів, зокрема ліпополісахаридів, у портальний кровообіг і підтримує метаболічне запалення в печінці.

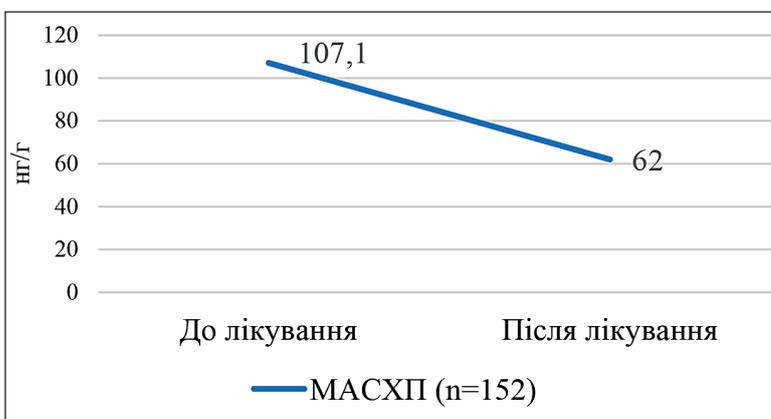


Рисунок 2 – Рівні зонуліну до та після лікування у пацієнтів із МАСХП.

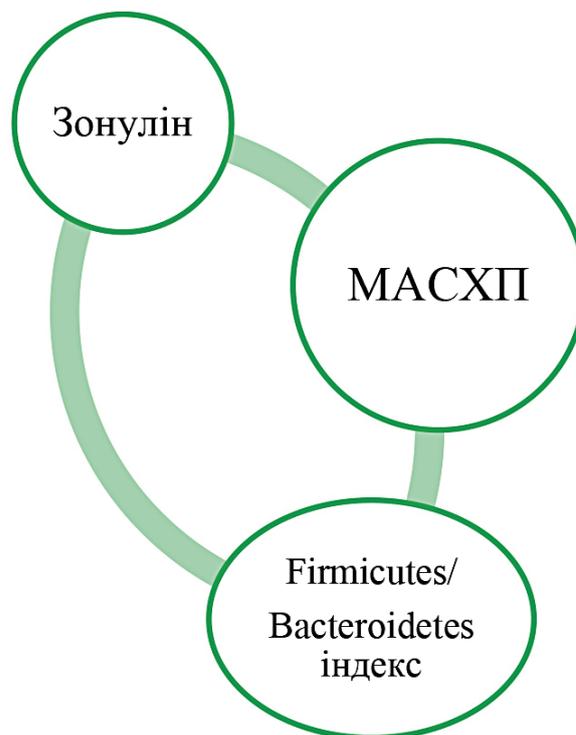


Рисунок 3 – Кореляційний зв'язок між рівнем зонуліну та співвідношенням Firmicutes/Bacteroidetes у пацієнтів із МАСХП.

Поряд із порушенням бар'єрної функції було виявлено зміни складу кишкового мікробіому, насамперед у співвідношенні основних бактеріальних філ – Firmicutes та Bacteroidetes. Подібні зміни раніше асоціювалися з метаболічними порушеннями, включаючи ожиріння та МАСХП. Відомо, що зміни мікробіоного складу можуть впливати на метаболізм господаря через модуляцію метаболізму жовчних кислот, продукцію коротколанцюгових жирних кислот і регуляцію кишкової проникності.

Виявлений помірний позитивний кореляційний зв'язок між рівнем фекального зонуліну та співвідношенням Firmicutes/Bacteroidetes додатково підтверджує взаємозв'язок між змінами кишкового мікробіому та порушенням бар'єрної функції кишківника. Ймовірно, окремі мікробні спільноти здатні стимулювати вивільнення зонуліну, сприяючи порушенню цілісності щільних контактів і підвищенню кишкової проникності. У свою чергу, дефект бар'єрної функції може полегшувати транслокацію мікробних компонентів і підтримувати запальні процеси в печінці.

Оцінка мікробіом-таргетної терапії показала її потенційну ефективність у модулюванні осі «кишківник–печінка». Після комбінованої терапії, що включала рифаксимін, пробіотики та мікробіом-модулювальні втручання, відзначалося достовірне покращення низки біохімічних показників, зокрема зниження рівнів печінкових ферментів, маркерів запалення та показників інсулінорезистентності. Це свідчить про можливий позитивний вплив корекції кишкового мікробіому на метаболічні та запальні механізми, залучені до розвитку МАСХП.

Важливо, що лікування супроводжувалося також достовірним зниженням рівня фекального зонуліну, що свідчить про покращення бар'єрної функції кишківника. Відновлення цілісності кишкового бар'єра може зменшувати транслокацію мікробних ендотоксинів та послаблювати печінкову запальну сигналізацію, що частково пояснює позитивну динаміку метаболічних і біохімічних показників після терапії.

Крім того, після лікування спостерігалися зміни складу кишкового мікробіому, зокрема збільшення кількості Bacteroidetes, зменшення Firmicutes та нормалізація співвідношення Firmicutes/Bacteroidetes. Це свідчить про можливість відновлення мікробіоного балансу під впливом мікробіом-таргетної терапії, що, у свою чергу, може сприяти покращенню бар'єрної функції кишківника та метаболічного гомеостазу.

Узагальнюючи, отримані результати підтверджують тісний зв'язок МАСХП із порушеннями осі «кишківник–печінка», включаючи кишковий дисбіоз і підвищену кишкову проникність. Зонулін може

розглядатися як перспективний маркер дисфункції кишкового бар'єра та потенційний патофізіологічний посередник між змінами кишкового мікробіому та метаболічним ураженням печінки.

Водночас слід враховувати певні обмеження дослідження. Для окремих аналізів обсяг вибірки був відносно невеликим, а спостережний дизайн не дозволяє робити остаточні висновки щодо причинно-наслідкових зв'язків. Подальші масштабні проспективні дослідження необхідні для більш детального з'ясування взаємозв'язків між складом мікробіому, кишковою проникністю та прогресуванням МАСХП.

Таким чином, отримані дані підкреслюють важливу роль осі «кишковий мікробіом–кишковий бар'єр» у патогенезі МАСХП і свідчать про перспективність мікробіом-таргетних підходів у покращенні метаболічних та запальних показників у цієї категорії пацієнтів.

Висновки.

Результати цього дослідження підтверджують значущу роль осі «кишківник–печінка» у патогенезі метаболічно асоційованої стеатотичної хвороби печінки. У пацієнтів із МАСХП виявлено виражені метаболічні порушення, що супроводжувалися змінами складу кишкового мікробіому та підвищеною кишковою проникністю.

Підвищені рівні фекального зонуліну, виявлені у пацієнтів із МАСХП, свідчать про порушення цілісності кишкового бар'єра і можуть відображати посилену кишкову проникність, що сприяє метаболічним і запальним процесам у печінці.

Помірний позитивний кореляційний зв'язок між рівнями зонуліну та співвідношенням Firmicutes/Bacteroidetes додатково підтверджує тісний взаємозв'язок між змінами кишкового мікробіому та дисфункцією кишкового бар'єра.

Застосування мікробіом-таргетної терапії асоціювалося з покращенням метаболічних і біохімічних показників, нормалізацією складу кишкового мікробіому та достовірним зниженням рівнів фекального зонуліну, що свідчить про відновлення бар'єрної функції кишківника.

Ці результати підкреслюють потенційну важливість модуляції мікробіому та відновлення кишкового бар'єра як терапевтичних мішеней при МАСХП, акцентуючи значущість мікробіом-орієнтованих стратегій у комплексному веденні метаболічної хвороби печінки.

Перспективи подальших досліджень.

Необхідні подальші дослідження для з'ясування довгострокових клінічних ефектів мікробіом-таргетних втручань та їх ролі у запобіганні прогресуванню МАСХП.

References / Література

- Jiménez-González C, Alonso-Peña M, Argos Vélez P, Crespo J, Iruzubieta P. Unraveling MASLD: the role of gut microbiota, dietary modulation, and AI-driven lifestyle interventions. *Nutrients*. 2025;17(9):1580. DOI: [10.3390/nu17091580](https://doi.org/10.3390/nu17091580).
- Tilg H, Adolph TE, Dudek M, Knolle P. Non-alcoholic fatty liver disease: the interplay between metabolism, microbes and immunity. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2021;18:707-722.
- Di Vincenzo F, Del Gaudio A, Petito V, Molfino A, Santoro L, Gasbarrini A, et al. Gut microbiota, intestinal permeability, and systemic inflammation: a narrative review. *Intern Emerg Med*. 2024;19:275-293. DOI: [10.1007/s11739-023-03374-w](https://doi.org/10.1007/s11739-023-03374-w).
- Loomba R, Sanyal AJ. The global NAFLD epidemic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2013;10:686-690.
- Tilg H, Cani PD, Mayer EA. Gut microbiome and liver diseases. *Gut*. 2016;65:2035-2044.
- Boursier J, Mueller O, Barret M, Machado M, Fizanne L, Araujo-Perez F, et al. The severity of non-alcoholic fatty liver disease is associated with gut dysbiosis and shift in the metabolic function of the gut microbiota. *Hepatology*. 2016;63(3):764-775.
- Albillos A, de Gottardi A, Rescigno M. The gut-liver axis in liver disease: pathophysiological basis for therapy. *J Hepatol*. 2020;72(3):558-577.
- Ciurea NA, Pantea CM, Grama P, Kosovski IB, Bataga S. Fecal zonulin as a non-invasive marker of intestinal permeability: findings from a prospective cohort study. *Medicina (Kaunas)*. 2025;61(9):1527.

9. Fasano A. Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: the biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer. *Physiol Rev.* 2011;91(1):151-175.
10. Veres-Székely A, Szász C, Pap D, Szebeni B, Bokrossy P, Vannay Á. Zonulin as a potential therapeutic target in microbiota-gut-brain axis disorders: encouraging results and emerging questions. *Int J Mol Sci.* 2023;24:7548. DOI: [10.3390/ijms24087548](https://doi.org/10.3390/ijms24087548).
11. Koutoukidis DA, Yen S, Gomez Castro P, Misheva M, Jebb SA, Aveyard P, et al. Changes in intestinal permeability and gut microbiota following diet-induced weight loss in patients with metabolic dysfunction-associated steatohepatitis and liver fibrosis. *Gut Microbes.* 2024;16(1):2392864. DOI: [10.1080/19490976.2024.2392864](https://doi.org/10.1080/19490976.2024.2392864).
12. Leung C, Rivera L, Furness JB, Angus PW. The role of the gut microbiota in NAFLD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2016;13:412-425.
13. Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes.* 2007;56:1761-1772.
14. Tilg H, Moschen AR. Microbiota and diabetes: an evolving relationship. *Gut.* 2014;63:1513-1521.
15. Didyk OK, Chernyavskiy VV, Shypulin VP. Assessing the diagnostic value of zonulin as a biomarker for intestinal permeability in patients with metabolic-associated fatty liver disease in combination with type 2 diabetes mellitus. *Zaporozhye Medical Journal.* 2023;25(5):416-420.
16. Didyk OK, Chernyavskiy VV, Shypulin VP, Tishchenko VV. Effectiveness of rifaximin and probiotics for the correction of intestinal permeability in patients with metabolic-associated fatty liver disease in combination with type 2 diabetes mellitus. *Wiad Lek.* 2024;77(4):732-738. DOI: [10.36740/WLek202404118](https://doi.org/10.36740/WLek202404118).
17. Zheng Y, Zhang Z, Tang P, Wu Y, Zhang A, Li D, et al. Probiotics fortify intestinal barrier function: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Front Immunol.* 2023;14:1143548. DOI: [10.3389/fimmu.2023.1143548](https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1143548).

ВІДНОВЛЕННЯ ВЗАЄМОДІЇ В ОСІ «КИШКІВНИК–ПЕЧІНКА»: МІКРОБІОМ І ЦІЛІСНІСТЬ КИШКОВОГО БАР'ЄРА В ТЕРАПІЇ МЕТАБОЛІЧНО АСОЦІЙОВАНОЇ СТЕАТОТИЧНОЇ ХВОРОБИ ПЕЧІНКИ

Квіт К. Б., Харченко В. В., Бодревич Б. Б.

Резюме. Метаболічно асоційована стеатотична хвороба печінки (МАСХП) на сьогоднішній день розглядається як провідна причина хронічних захворювань печінки у світі та тісно пов'язана з метаболічними порушеннями і системним запаленням. Сучасні дослідження підкреслюють значення осі «кишківник–печінка» у розвитку МАСХП, зокрема роль дисбалансу кишкового мікробіому та порушення бар'єрної функції кишківника. Зонулін – білок, що регулює щільні міжклітинні контакти епітелію кишківника, розглядається як потенційний маркер підвищеної кишкової проникності та може сприяти розвитку запальних процесів у печінці через транслокацію мікробних продуктів.

Мета – оцінити взаємозв'язок між складом кишкового мікробіому, зонулін-асоційованою кишковою проникністю та МАСХП, а також визначити вплив мікробіом-таргетної терапії на бар'єрну функцію кишківника та метаболічні показники.

У дослідження включено 152 пацієнти з МАСХП та 47 осіб контрольної групи. Аналізували клінічні, біохімічні та метаболічні показники. Склад кишкового мікробіому визначали методом кількісної ПЛР у реальному часі, рівень зонуліну в калі – методом ELISA. Пацієнти отримували рифаксимін із подальшим призначенням пробіотиків (*Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus acidophilus* LA-5 та *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12) у поєднанні з модифікацією способу життя.

У пацієнтів із МАСХП виявлено достовірно вищі показники ІМТ, печінкових ферментів, маркерів запалення та НОМА-ІР порівняно з контрольною групою ($p < 0,05$). Рівень зонуліну був значно підвищеним ($109 \pm 2,76$ проти $45 \pm 0,86$ нг/г; $p < 0,05$). Після терапії відзначено зниження ALT, AST, hsCRP, НОМА-ІР та зонуліну (у 1,7 раза). Також спостерігалось збільшення Bacteroidetes, зменшення Firmicutes і нормалізація співвідношення Firmicutes/Bacteroidetes.

МАСХП асоціюється з дисбіозом кишкового мікробіому та підвищеною кишковою проникністю. Мікробіом-таргетна терапія може сприяти покращенню метаболічних показників, відновленню мікробного балансу та зниженню кишкової проникності.

Ключові слова: МАСХП, кишковий мікробіом, зонулін, кишкова проникність, мікробіом-таргетна терапія.

REBUILDING BRIDGES IN THE GUT-LIVER AXIS: MICROBIOME AND BARRIER INTEGRITY IN METABOLIC DYSFUNCTION-ASSOCIATED STEATOTIC LIVER DISEASE THERAPY

Квіт К. В., Kharchenko V. V., Bodrevych B. B.

Abstract. Metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease (MASLD) has emerged as the leading cause of chronic liver disease worldwide and is closely related to metabolic disturbances and systemic inflammation. Recent studies emphasize the importance of the gut–liver axis in MASLD development, highlighting the role of gut microbiota imbalance and impaired intestinal barrier function. Zonulin, a protein involved in the regulation of intestinal tight junctions, is considered a potential biomarker of increased intestinal permeability and may contribute to hepatic inflammation through enhanced translocation of microbial products.

The aim is to investigate the relationship between gut microbiome composition, zonulin-associated intestinal permeability, and MASLD, and to evaluate the effects of microbiome-targeted therapy on intestinal barrier integrity and metabolic parameters.

The study included 152 patients with MASLD and 47 controls. Clinical, biochemical, and metabolic parameters were assessed. Gut microbiome composition was analyzed using quantitative real-time PCR, and fecal zonulin levels were measured by ELISA. Patients received microbiome-targeted therapy consisting of rifaximin followed by probiotics (*Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus acidophilus* LA-5, and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12) combined with lifestyle modification.

Patients with MASLD had significantly higher BMI, liver enzyme levels, inflammatory markers, and HOMA-IR compared with controls ($p < 0.05$). Fecal zonulin levels were significantly elevated (109 ± 2.76 vs 45 ± 0.86 ng/g; $p < 0.05$). After therapy, significant reductions in ALT, AST, hsCRP, HOMA-IR, and zonulin levels (1.7-fold) were observed. Micro-

biome analysis revealed an increase in Bacteroidetes, a decrease in Firmicutes, and normalization of the Firmicutes/Bacteroidetes ratio.

MASLD is associated with gut microbiota dysbiosis and increased intestinal permeability. Microbiome-targeted therapy may improve metabolic parameters, restore microbial balance, and reduce intestinal permeability.

Key words: MASLD, gut microbiome, zonulin, intestinal permeability, microbiome-targeted therapy.

ORCID and contributionship / ORCID кожного автора та його внесок до статті:

Kvit K. B.: <https://orcid.org/0000-0003-1394-9429>^{ABDEF}

Kharchenko V. V.: <https://orcid.org/0000-0001-7443-2314>^{BEF}

Bodrevych B. B.: <https://orcid.org/0000-0002-1222-6934>^{CD}

Conflict of interest / Конфлікт інтересів:

The authors declare no conflict of interest / Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Kvit Khrystyna Bohdanivna / Квіт Христина Богданівна

Lviv National Medical University / Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького
Ukraine, 79010, Lviv, 69 Pekarska str. / Україна, 79010, м. Львів, вул. Пекарська 69

Tel.: +380674788881 / Тел.: +380674788881

E-mail: akskris88@gmail.com

A – Work concept and design, **B** – Data collection and analysis, **C** – Responsibility for statistical analysis, **D** – Writing the article, **E** – Critical review, **F** – Final approval of the article / **A** – концепція роботи та дизайн, **B** – збір та аналіз даних, **C** – відповідальність за статичний аналіз, **D** – написання статті, **E** – критичний огляд, **F** – остаточне затвердження статті.

This article is distributed under the terms of the **Creative Commons Attribution (CC-BY) License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited © All authors, 2026 / Ця стаття розповсюджується на умовах ліцензії **Creative Commons Attribution (CC-BY)**, яка дозволяє необмежене використання, поширення та відтворення в будь-якому форматі за умови належного цитування оригінальної роботи © Всі автори, 2026

Received 11.10.2025 / Стаття надійшла 11.10.2025 року
Accepted 03.03.2026 / Стаття прийнята до друку 03.03.2026 року
Published 27.03.2026 / Опубліковано 27.03.2026 року

DOI 10.29254/2077-4214-2026-1-180-270-279

UDC 618-089.888-06-007.274-084

Lazurenko V. V., Safonov R. A., Tertyshnyk D. Yu., Zhelezniakov O. Yu.,

Zub O. V., Sharashydz A. H., Blahoveshchenskyi R. Ye.

**PREVENTION OF ADHESION FORMATION DURING SURGICAL PROCEDURES
IN OBSTETRICS AND GYNECOLOGY**

Kharkiv National Medical University (Kharkiv, Ukraine)

vlazur13@gmail.com

Postoperative adhesion formation (PAF) is a pathological process characterized by fibrous adhesions developing between the surface of an organ and the wall of a cavity or an adjacent organ following trauma or ischemia. These adhesions form dense septa, bands, and “bridges” with their own vascularization and innervation. PAF is associated with a number of complications, including prolonged hospitalization due to the presence of the disease, increased duration and complexity of surgical procedures during repeat operations, significant financial costs related to patient examination and treatment, and increased postoperative morbidity and mortality. Therefore, the aim of this study was to optimize preventive measures for postoperative adhesion formation following surgical interventions in obstetric and gynecological practice. The main group consisted of 37 women (15 after cesarean section, 10 after myomectomy, and 12 after ovarian tumor removal) who received the proposed mixture into the abdominal cavity during surgery in order to prevent PAF. The mixture consisted of analgesic, hemostatic, and corticosteroid components. The comparison group included 32 women (12 after cesarean section, 10 after myomectomy, and 10 after ovarian tumor removal) who did not receive the mixture during surgery. Ten women without a history of surgical intervention constituted the control group. It was determined that patients who did not receive intraperitoneal administration of the proposed agents during surgery demonstrated intensified inflammatory responses, manifested by pronounced expression of proinflammatory cytokines IL-1 β , IL-6, and TNF- α , as well as changes in the levels of endothelial factors (VEGF, ET-1, eNOS) and C-reactive protein.

Key words: adhesion formation, postoperative period, cesarean section, myomectomy, ovarian tumor removal, C-reactive protein, interleukins, endothelial dysfunction.