

СОВРЕМЕННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ТЕРАПИИ СИНДРОМА РАЗДРАЖЕННОГО КИШЕЧНИКА, МИРОВОЙ ОПЫТ: ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Крутихина С. Б., Горелов А. В.
ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)
ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора

ACTUAL CAPACITY OF TREATMENT IRRITABLE BOWEL SYNDROME, GLOBAL EXPERIENCE: REVIEW OF THE LITERATURE

Krutikhina S. B., Gorelov A. V.
I. M. Sechenov First Moscow State Medical University
Central Research Institute of epidemiology of the Federal Service of Customers' Right Protection and Human Well-Being Surveillance (Rosпотребнадзор)

Для цитирования: Крутихина С. Б., Горелов А. В. Современные возможности терапии синдрома раздраженного кишечника, мировой опыт: обзор литературы. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология 2018;150(2): 137–141.

For citation: Krutikhina S. B., Gorelov A. V. actual capacity of treatment irritable bowel syndrome, global experience: review of the literature. Experimental and Clinical Gastroenterology. 2018;150(2): 137–141.

Крутихина С. Б., ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), кафедра детских болезней, ассистент
Горелов А. В., ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), кафедра детских болезней, профессор ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, заведующий клиническим отделом инфекционной патологии

Krutikhina S. B., I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Department of Children's Diseases, Assistant
Gorelov A. V., I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Department of Children's Diseases, Professor, MD; Central Research Institute of epidemiology of the Federal Service of Customers' Right Protection and Human Well-Being Surveillance (Rosпотребнадзор)

**Крутихина
Светлана Борисовна**
Krutikhina Svetlana B.
svetulkakru@gmail.com

Резюме

Синдром раздраженного кишечника (СРК) представляет собой функциональное расстройство органов пищеварения, которое проявляется абдоминальными болями и сопровождается расстройствами дефекации [2]. Распространенность СРК варьирует от 3% до 28% в различных странах [2, 4]. Патогенез СРК до сих пор не полностью ясен, и на сегодняшний день обнаружена связь с генетическими, иммунными факторами, нарушениями функционирования оси «мозг-кишечник», изменениями в микробиоте и психосоциальными факторами [3–12]. В исследованиях установлена способность кишечной микробиоты вырабатывать нейротрансмиттеры, изменяющие секрецию и моторику кишечника, а также порог висцеральной чувствительности [8, 9]. Приведены данные наблюдений в мире в целом по эффективности и безопасности применения пробиотика *B. longum infantis (longum)* 35624 у пациентов с СРК и некоторыми другими заболеваниями ЖКТ.

Ключевые слова: синдром раздраженного кишечника, пробиотики, микробиота, *B. longum* 35624

Summary

Irritable bowel syndrome (IBS) is a functional disorder of digestive organs, which manifests itself as abdominal pain and accompanied by disorders of defecation [2]. The prevalence of IBS ranges from 3% to 28% in different countries [2, 4]. The pathogenesis of IBS is still not completely clear, and now relation found with genetic, immune factors, impaired functioning axis the "brain-gut", changes in the microbiota and psychosocial factors [3–12]. The ability of intestinal microbiota to produce neurotransmitters that change intestinal secretion and motility, as well as visceral sensitivity threshold [8, 9] was established in the studies. The data of observations in the world as a whole on the efficacy and safety of probiotic *B. longum infantis (longum)* 35624 in patients with IBS and some other gastrointestinal diseases.

Keywords: irritable bowel syndrome, probiotics, microbiota, *B. longum* 35624

Введение

Синдром раздраженного кишечника (СРК) представляет собой функциональное расстройство органов пищеварения, которое проявляется абдоминальными болями и сопровождается расстройствами дефекации. Согласно Римским критериям IV пересмотра (2016г), критерии СРК включают в себя: абдоминальную боль, по меньшей мере 4 дня в месяц, связанную либо с актом дефекации, либо с изменением частоты дефекации, либо с изменением формы и консистенции стула [1]. СРК классифицируется в зависимости от консистенции стула на СРК с запором (СРК-з), СРК с диареей (СРК-д), СРК с чередованием запоров и диареи (СРК-см)

и недифференцированный тип СРК (СРК-И). В зависимости от тяжести течения выделяют СРК легкой, умеренно-тяжелой и тяжелой степени, что определяет тактику ведения пациента и объем медицинских мероприятий [2].

Распространенность СРК варьирует от 3% до 28% в различных странах, смешанный тип СРК считается более распространенным, чем СРК с запорами и СРК с диареей [2, 4]. Также СРК чаще страдают женщины по сравнению с мужчинами. Кроме того, больные с СРК часто госпитализируются, в два раза чаще подвергаются аппендэктомии или холецистэктомии, чем пациенты без СРК [15].

Основные звенья патогенеза

Патогенез СРК до сих пор не полностью ясен. На сегодняшний день подтверждена связь СРК с генетическими и иммунными факторами, изменениями в микробиоте кишечника, нарушениями в системах физиологического реагирования на стресс (например, ось гипоталамус–гипофиз–надпочечники), и психосоциальными факторами [3]. Некоторые генетические исследования определили предполагаемые локусы генов с возможным риском по развитию СРК [4], были выявлены генетические полиморфизмы, связанные со специфическими симптомами СРК [5].

Важную роль при развитии СРК играют иммунные факторы, особенно дисбаланс цитокинов, активация иммунных клеток, увеличение проницаемости кишечной стенки. Bashashati M. и соавторы в своем исследовании выявили у пациентов с СРК, вне зависимости от типа заболевания, повышенные уровни ФНО- α в крови [6]. Также уровень сывороточного интерлейкина (ИЛ)-6 у больных с СРК оказался значительно выше, чем у здоровых добровольцев [7]. В нескольких исследованиях была определена роль тучных клеток в развитии СРК и корреляция тяжести заболевания с уровнем тучных клеток [8, 9].

СРК считается расстройством регуляции оси головной мозг–кишечник. У пациентов с СРК отмечаются нарушения эвакуации содержимого толстой кишки [10] в сочетании с висцеральной гиперчувствительностью, обусловленной нарушениями оценки нейрональных сигналов из желудочно-кишечного тракта [3, 11]. Мета-анализ, включавший 18 исследований, показал, что у пациентов с СРК имеются различия в степени активности участков головного мозга, которые активируются при эмоциональном возбуждении, по сравнению со здоровыми людьми, а также изменения вегетативной функции и базальных уровней гормонов стресса, что приводит к нарушению функционирования оси гипоталамус–гипофиз–надпочечники [12].

Психосоциальные факторы могут играть немаловажную роль в патогенезе СРК. Психосоциальные проблемы, как правило, отмечаются чаще у пациентов с более тяжелыми формами СРК. Так, например, в недавних зарубежных исследованиях было показано, что тяжесть СРК прямо коррелирует с беспокойством и депрессией [13], и 94,4% пациентов с тяжелым СРК имеют по крайней мере одно психогенное расстройство по сравнению с пациентами с легкой (35,7%) или средней степенью тяжести (74,1%) [14].

Роль микробиоты при СРК

За последние годы возрос интерес к возможной роли микробиоты кишечника в патогенезе СРК. Способность кишечной микробиоты вырабатывать нейротрансмиттеры, изменяющие при этом секрецию и моторику кишечника, а также порог висцеральной чувствительности, свидетельствует о существенной роли дисбиотических изменений в патогенезе СРК [16, 19]. Эпидемиологические исследования показали, что СРК имеет связь с изменением кишечной микробиоты, например, после острых кишечных инфекций (постинфекционный СРК) или использования антибиотиков [16]. Последние исследования микробиома продемонстрировали композиционные и функциональные изменения микробиоты кишечника у пациентов с СРК [17]. Например, культуральные исследования обнаружили более низкий уровень лактобактерий

и бифидобактерий, повышенный уровень анаэробных *Clostridium spp* у пациентов с СРК. Анализ ПЦП продемонстрировал значительную индивидуальную неоднородность фекальной микробиоты у пациентов с СРК, и было отмечено, что бактерии рода *Bifidobacterium spp*, *Lactobacillus spp* и *Veillonella spp* и группы *Bifidobacterium catenulatum* и *Clostridium coccoides* у этих пациентов с СРК страдают в большей степени. Также выявлена связь изменения микробиоты и частоты дефекации у пациентов с СРК: более низкие уровни лактобактерий отмечались у пациентов с диареей, более высокие уровни *Veillonella spp.* – у пациентов с запорами [18].

На сегодняшний день существуют убедительные доказательства того, что микрофлора кишечника оказывает влияние на системный иммунитет [20]. Например, виды *Clostridia* и *Bifidobacteria*

индуцируют регуляторные Т-клетки при воспалительных или аутоиммунных заболеваниях [21]. В некоторых исследованиях отмечено, что бактерии

Bifidobacterium longum subsp *infantis* (*B. infantis*) 35624 индуцируют регуляторные Т-клетки у животных как в кишечнике, так и на вне его [22].

Применение пробиотиков у пациентов с СРК

Все вышесказанное говорит о том, что использование пробиотиков является перспективным методом лечения для восстановления баланса кишечной микробиоты при СРК.

Пробиотические бактерии обладают множеством положительных свойств. Они непатогенны для человека, могут выдерживать кислую среду желудка, могут адгезироваться к человеческим эпителиальным клеткам и колонизировать их. Пробиотики также модулируют иммунитет желудочно-кишечного тракта путем изменения уровня цитокинов. На сегодняшний день существует множество видов пробиотиков, но не все пробиотики эффективны, т.к. отдельным штаммам присущи определенные свойства [21].

В настоящее время *Bifidobacterium infantis* 35624 имеет лучшую доказательную базу эффективности при СРК и рекомендован для лечения этой категории больных [24, 25].

Первоначальные исследования были проведены McCarthy и соавторами в эксперименте на мышах. При этом было обнаружено несколько противовоспалительных свойств, присущих *B. infantis* 35624. Так, мыши без ИЛ-10, у которых развивалось спонтанное воспаление толстой кишки из-за отсутствия ИЛ-10, получали *B. infantis* 35624 или плацебо в течение 19 недель. По завершении исследования у мышей, получавших пробиотик, воспалительный процесс в желудочно-кишечном тракте был значительно менее выражен, чем в группе плацебо. Затем моноциты селезенки этих мышей культивировали с *Salmonella typhimurium*. Несмотря на это, у мышей в группе *B. infantis* 35624 отмечалось значительное снижение уровней ФНО- α , ИНФ и ИЛ-12 [26].

При культивации эпителиальных клеток, полученных из толстой кишки человека, с *B. infantis* 35624 было отмечено, что уровень ИЛ-8 уменьшился на 38% по сравнению с исходным уровнем [27]. В исследовании, проведенном в Ирландии О'Mahony и соавторами [28], продемонстрировано, что прием *B. infantis* 35624 может изменить уровни цитокинов у больных с СРК. 57 пациентов с СРК в течение 4-недельного периода получали плацебо, затем при рандомизации проводилось распределение на группы, в которых пациенты получали 1×10^{10} КОЭ *B. infantis* 35624 или *Lactobacillus salivarius* 4331 в течение 8 недель. В периферической крови измеряли уровни цитокинов ИЛ-10 и ИЛ-12 в сравнении с образцами, полученными от здоровых добровольцев, сопоставимых по возрасту и полу. До лечения соотношение провоспалительного цитокина ИЛ-10 и противовоспалительного цитокина ИЛ-12 (ИЛ-0/12) было значительно ниже у пациентов с СРК (при СРК 69 ± 15 , у здоровых 176 ± 31 ; $P = 0,003$). После лечения *B. infantis* 35624, соотношение ИЛ-10/12 значительно увеличилось и приблизилось к уровню, который наблюдался у здоровых добровольцев.

Эти изменения в соотношении ИЛ-10/12 не наблюдались у пациентов с СРК, принимающих плацебо или *L. salivarius*. В дальнейших исследованиях было изучено влияние приема пробиотика на симптомы СРК (боль в животе/дискомфорт, вздутие живота, затруднение дефекации, частота дефекаций, консистенция кала) и качество жизни (с помощью опросников и анкет). По сравнению с пациентами, получавшими плацебо, у пациентов, получавших *B. infantis* 35624 в течение 8 недель, наблюдалось значительное уменьшение болей в животе/дискомфорта и вздутия живота. Не было отмечено статистически значимых различий между подгруппами по частоте стула или его консистенции [29].

Затем Р. J. Whorwell и соавторы провели двойное слепое, плацебо-контролируемое, многоцентровое клиническое исследование, оценивающее эффективность *B. infantis* 35624 в лечении СРК, у 362 женщин с симптомами СРК [30]. Больных разделили на 3 группы, в которых они получали различные дозы (1×10^6 , 1×10^8 , и 1×10^{10} КОЕ/мл) пробиотика, и группу, получающую плацебо в течение 4 недель. Симптомы СРК (вздутие живота, чувство неполного опорожнения кишечника, натуживание, частота стула и удовлетворение дефекацией) оценивали по 6-бальной шкале. Значительные улучшения были отмечены на четвертой неделе лечения в группе, получавшей 1×10^8 КОЭ /мл пробиотика, по таким симптомам, как вздутие живота, ощущение неполного опорожнения кишечника, натуживание, удовлетворение дефекацией.

В многоцентровом, двойном слепом, рандомизированном, плацебо-контролируемом исследовании, проведенном Ringel-Kulka T. и соавторами в 2016 году, оценивались эффекты *B. infantis* 35624 у здоровых добровольцев с жалобами на дискомфорт и вздутие живота [31]. В исследование было включено 302 человека, которые отмечали дискомфорт в области живота и вздутие чаще, чем 2 раза в неделю, по крайней мере в течение 3 месяцев, не обращались к врачу или не получали никакого лечения по этому поводу за последние 12 месяцев. Испытуемые получали в течение 4 недель пробиотик *B. infantis* 35624 в дозе 10^9 КОЕ/мл в виде капсул ($n = 143$) или плацебо ($n = 154$). Обе группы показали статистически значимые отличия ($p < 0,001$) по уменьшению дискомфорта и вздутия живота после 4-недельного периода лечения. Не выявлено значимых различий по сумме баллов при оценке симптомов на момент завершения исследования между группой, получавшей пробиотик и плацебо. Однако, частота «бессимптомных» дней была на 72% больше в группе *B. infantis* по сравнению с группой плацебо ($P < 0,035$).

В 2013 году группа исследователей из Ирландии провела оценку фекальной экскреции при оральном применении *B. infantis* 35624 у 159 человек (87 пациентов с СРК и 72 – здоровых добровольцев) [32].

Все участники исследования, как пациенты, с СРК, так и здоровые добровольцы, были распределены в процессе рандомизации по группам, которые получали *B. infantis* 35624 или плацебо. С помощью метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) оценивалась фекальная экскреция *B. infantis* 35624 до и после лечения. После 4 и 8 недель лечения фекальные уровни *B. infantis* 35624 у больных с СРК и здоровых, которые получали пробиотик, значительно выросли по сравнению с группами, получавшими плацебо, и достигли плато в диапазоне от 2 до 2.5 log₁₀ нгДНК/г кала, затем в течение 2 недель уровень экскреции *B. infantis* 35624 снизился, но был все же выше, чем первоначальный. У пациентов с СРК, получающих пробиотик, статистически значимо повысился уровень *Clostridium coccoides* и *Eubacterium rectale* после 8 недель лечения по сравнению с плацебо (5.69 log₁₀ нгДНК/г кала в группе лечения по сравнению с 5.53 log₁₀ нгДНК, НГ/г кала в группе плацебо). Наибольшие статистические различия произошли с видом *Bifidobacterium catenulatum* в группах, получавших пробиотик, где средние уровни выросли по сравнению с исходными до 0.40 log₁₀ нгДНК/г кала.

В 2013 году также было проведено еще одно исследование, изучающее профили цитокинов при приеме *B. infantis* у больных с воспалительными заболеваниями кишечника (44 больных с язвенным колитом), псориазом (52 больных с бляшковидной формой) и синдромом хронической усталости (48 женщин) и группой здоровых добровольцев (35 человек) [33]. Были оценены уровни С-реактивного белка (СРБ), ФНО-α и ИЛ-6 в плазме крови

до и после 8 недель лечения *B. infantis*. После 6–8 недель терапии *B. infantis* 35624 у 75% больных псориазом, 71% больных синдромом хронической усталости и 62% пациентов с язвенным колитом отмечалось снижение уровней СРБ, ФНО-α и ИЛ-6. В группе плацебо только у 7% пациентов с псориазом, 11% пациентов с синдромом хронической усталости было зарегистрировано снижение уровней СРБ, ФНО-α и ИЛ-6, в группе с язвенным колитом таких изменений не наблюдалось. В отличие от пациентов с воспалительными заболеваниями, уровни СРБ, ФНО-α и ИЛ-6 в плазме крови у здоровых добровольцев не изменились после 8 недель лечения *B. infantis* 35624.

Прием БАД, содержащих *B. infantis* 35624, хорошо переносится и обычно не сопровождается развитием серьезных побочных эффектов. Отдельные пациенты с СРК могут испытывать кратковременное ухудшение при приеме *B. infantis* 35624, сопровождающееся такими симптомами, как вздутие живота, которые прекращаются через 2–3 недели при продолжающемся приеме [28, 30, 32].

В 2016 году при секвенировании и сравнении полного генома с другими геномами бактерий рода *Bifidobacterium* была обнаружена идентичность штаммов *B. infantis* 35624 и *B. longum* 35624 [34]. На сегодняшний день, согласно данным реестров ATCC (American Type Culture Collection), CNCM (National Collection of Microorganisms Cultures) и NCIMB (National Collection of Industrial and Marine Bacteria) номенклатура штамма, описанного в данной статье, выглядит как *Bifidobacterium longum longum* 35624 [25].

Заключение

На сегодняшний день не существует универсального лечения СРК. Учитывая также общую связь между симптомами СРК и такими факторами, как диета, стресс и различные психологические факторы, при лечении этой категории больных следует уделять внимание немедикаментозным методам (изменение образа жизни, диета, психотерапия), которые могут, если не устранить, то хотя бы смягчить влияние этих факторов. Кроме этого, больные с СРК

часто нуждаются и в медикаментозной терапии. Использование пробиотика *B. infantis* (*longum*) 35624 у больных с СРК приводит к облегчению симптомов и увеличению числа «бессимптомных» дней, что значительно повышает качество жизни больных. Возможно, дальнейшие исследования *B. infantis* (*longum*) 35624 будут способствовать расширению границ его применения у больных с другими заболеваниями и нарушениями функции ЖКТ.

Литература

1. Бельмер С.В., Хавкин А.И., Печкуров Д.В. «Функциональные расстройства органов пищеварения у детей (в свете Римских критериев IV)». Методическое пособие. Москва, 2016, с. 66–68
2. Föxx-Orenstein A. E. "New and emerging therapies for the treatment of irritable bowel syndrome: an update for gastroenterologists". *Ther Adv Gastroenterol*, 2016, Vol. 9(3) 354–375
3. Camilleri, M. "Peripheral mechanisms in irritable bowel syndrome". *N Engl J Med* 2012;367: 1626–1635.
4. Ek, W., Reznichenko, A., Ripke, S., et al. "Exploring the genetics of irritable bowel syndrome: a GWA study in the general population and replication in multinational case-control cohorts" (он-лайн публикация). 2015, *Gut* 64: 1774–1782.
5. Grasberger, H., Chang, L., Shih, W., Presson, A., Sayuk, G., Newberry, R. et al. (2013) Identification of a functional TPN1 polymorphism associated with irritable bowel syndrome bowel habit subtypes. *Am J Gastroenterol* 108: 1766–1774.
6. Bashashati, M., Rezaei, N., Shafieyoun, A., et al. "Cytokine imbalance in irritable bowel syndrome: a systematic review and meta-analysis". *Neurogastroenterol Motil* 2014, 26: 1036–1048.
7. Rana, S., Sharma, S., Sinha, S., Parsad, K., Malik, A. and Singh, K. "Pro inflammatory and anti-inflammatory cytokine response in diarrhoea predominant irritable bowel syndrome patients". *Trop Gastroenterol*, 2012, 33: 251–256.
8. Walker, M., Talley, N., Prabhakar, M., Pennaneach, C., Aro, P., Ronkainen, J. et al. "Duodenal mastocytosis, eosinophilia and intraepithelial lymphocytosis as possible disease markers in the irritable bowel syndrome and

- functional dyspepsia". *Aliment Pharmacol Ther*, 2009, 29: 765–773.
9. Vivinus-Nebot, M., Dainese, R., Anty, R., et al. "Combination of allergic factors can worsen diarrheic irritable bowel syndrome: role of barrier defects and mast cells". *Am J Gastroenterol*, 2012, 107: 75–81.
10. Tornblom, H., Van, O., Sadik, R., Abrahamsson, H., Tack, J. and Simren, M. "Colonic transit time and IBS symptoms: what's the link?" *Am J Gastroenterol.*, 2012, 107: 754–760.
11. Larsson, M., Tillisch, K., Craig, A., Engstrom, et al. "Brain responses to visceral stimuli reflect visceral sensitivity thresholds in patients with irritable bowel syndrome". *Gastroenterology*, 2012, 142: 463–472.
12. Tillisch, K., Mayer, E. and Labus, J. "Quantitative meta-analysis identifies brain regions activated during rectal distension in irritable bowel syndrome". *Gastroenterology*, 2011, 140: 91–100.
13. Rey de Castro, N., Miller, V., Carruthers, H. and Whorwell, P. "Irritable bowel syndrome: a comparison of subtypes". *J Gastroenterol Hepatol*, 2015, 30: 279–285.
14. Singh, P., Agnihotri, A., Pathak, M., Shirazi, A., et al. "Psychiatric, somatic and other functional gastrointestinal disorders in patients with irritable bowel syndrome at a tertiary care center". *J Neurogastroenterol Motil*, 2012;18: 324–331.
15. Corsetti M. and Whorwell P. "The global impact of IBS: time to think about IBS-specific models of care?" *Ther Adv Gastroenterol* 2017, Vol. 10(9) 727–735.
16. Schwille-Kiuntke J, Enck P, Zendler C et al. "Postinfectious irritable bowel syndrome: follow-up of a patient cohort of confirmed cases of bacterial infection with Salmonella or Campylobacter". *Neurogastroenterol Motil*, 2011; 23: e479–88.
17. Ringel Y, Ringel-Kulka T. "The intestinal microbiota and irritable bowel syndrome". *J Clin Gastroenterol* 2015; 49: S56–9.
18. Malinen E, Rinttila T, Kajander K, et al. "Analysis of the fecal microbiota of irritable bowel syndrome patients and healthy controls with real-time PCR". *Am J Gastroenterol*, 2005; 100:373–82;
19. Spiller, R.C. "Postinfectious irritable bowel syndrome" *Gastroenterol.*, 2003.Vol. 124, No. 6.– P. 1662–1671
20. Lee YK, Menezes JS, Umesaki Y, Mazmanian SK. Proinflammatory "T-cell responses to gut microbiota promote experimental autoimmune encephalomyelitis". *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108(Suppl 1):4615–22;
21. Atarashi K, Tanoue T, Shima T. et al. "Induction of colonic regulatory T cells by indigenous Clostridium species". *Science*, 2011; 331:337–41;
22. Konieczna P, Akdis CA, Quigley EM, Shanahan F, O'Mahony L. "Portrait of an immunoregulatory Bifidobacterium". *Gut Microbes* 2012; 3:261–6;
23. Brenner D. M., Chey W. D. "Bifidobacterium infantis 35624: A Novel Probiotic for the Treatment of Irritable Bowel Syndrome" *REVIEWS IN GASTROENTEROLOGICAL DISORDERS*, 2009, Vol. 9 N. 1 pp 7–15
24. Quigley E. M., Fried M., Gwee K.-A. et al. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines "Irritable Bowel Syndrome: a Global Perspective" Update September 2015, pp. 17–20.
25. F. Guarner, Sanders M. E., Eliakim R. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines "Probiotics and prebiotics", February 2017, pp 14.
26. McCarthy J, O'Mahony L, O'Callaghan L, et al. "Double blind, placebo controlled trial of two probiotic strains in interleukin 10 knockout mice and mechanistic link with cytokine balance". *Gut*.2003;52: 975–980.
27. Jobin C, Sartor RB. "The I-B/NF-B system: a key determinant of mucosal inflammation and protection". *Am J Physiol Cell Physiol*. 2000;278: C451-C462.
28. O'Mahony L, McCarthy J, Kelly P, et al. "Lactobacillus and Bifidobacterium in irritable bowel syndrome: symptom responses and relationship to cytokine profiles". *Gastroenterology*. 2005;128:541–551.
29. Heaton KW, O'Donnell LJ. "An office guide to whole-gut transit time. Patients' recollection of their stool form". *J Clin Gastroenterol*. 1994;19:28–30.
30. Whorwell PJ, Altringer L, Morel J, et al. Efficacy of an encapsulated probiotic *Bifidobacterium infantis* 35624 in women with irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol*. 2006;101:1581–1590.
31. Ringel-Kulka T., McRorie J, Ringel Y. "Multi-Center, Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled, Parallel-Group Study to Evaluate the Benefit of the Probiotic *Bifidobacterium infantis* 35624 in Non-Patients With Symptoms of Abdominal Discomfort and Bloating". *Am J Gastroenterol.*, 2016; doi: 10.1038/ajg.2016.511
32. Charbonneau D., Gibb R. D., Quigley E. M. "Fecal excretion of *Bifidobacterium infantis* 35624 and changes in fecal microbiota after eight weeks of oral supplementation with encapsulated Probiotic". 2013, *Gut Microbes* 4:3, 201–211
33. Groeger D., O'Mahony L., Murphy E. F., Bourke J. F. et al. "Bifidobacterium infantis 35624 modulates host inflammatory processes beyond the gut". *Gut Microbes*, 2013;4:4, 1–15
34. Altmann F. et al. *Plos one*. 2016, sept 22, 11(9).

ALF201802-RX-01