



АНТИБИОТИК-ИНДУЦИРОВАННЫЙ ДИСБИОЗ КИШЕЧНИКА И УСТОЙЧИВОСТЬ МИОКАРДА К ИШЕМИЧЕСКОМУ-РЕПЕРFUЗИОННОМУ ПОВРЕЖДЕНИЮ У КРЫС С РАЗЛИЧНЫМ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИМ СТАТУСОМ

Борщев Ю. Ю., Минасян С. М., Буровенко И. Ю., Борщев В. Ю., Галагудза М. М.
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России (Санкт-Петербург, Россия)

ANTIBIOTIC-INDUCED INTESTINAL DYSBIOSIS AND MYOCARDIAL TOLERANCE TO ISCHEMIA-REPERFUSION INJURY IN RATS WITH DIFFERENT MICROBIOLOGICAL STATUS

Borshchev Yu. Yu., Minasian S. M., Burovenko I. Yu., Borshchev V. Yu., Galagudza M. M.
FSBU "National Almazov Medical Research Centre", Ministry of Health, Russia (Saint Petersburg, Russia)

Для цитирования: Борщев Ю. Ю., Минасян С. М., Буровенко И. Ю., Борщев В. Ю., Галагудза М. М. Антибиотик-индуцированный дисбиоз кишечника и устойчивость миокарда к ишемическому-реперфузионному повреждению у крыс с различным микробиологическим статусом. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2018;158(10): 62–67. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-158-10-62-67

For citation: Borshchev Yu. Yu., Minasian S. M., Burovenko I. Yu., Borshchev V. Yu., Galagudza M. M. Antibiotic-induced intestinal dysbiosis and myocardial tolerance to ischemia-reperfusion injury in rats with different microbiological status. Experimental and Clinical Gastroenterology. 2018;158(10): 62–67. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-158-10-62-67

**Галагудза
Михаил Михайлович**
Galagudza Michael M.
galagudza@almazovcentre.ru

Борщев Юрий Юрьевич — к.б.н., заведующий научно-исследовательским отделом
Минасян Саркис Минасович — к.м.н., старший научный сотрудник
Буровенко Инесса Юрьевна — аспирант
Борщев Виктор Юрьевич — студент
Галагудза Михаил Михайлович — д.м.н., чл.-корр. РАН, директор института
Borshchev Yuri Yurievich — PhD, head of research department
Minasian Sarkis Minasovich — PhD, senior researcher
Burovenko Inessa Yurievna — PhD student
Borshchev Victor Yurievich — undergraduate student
Galagudza Michael Michailovich — PhD, MD, corresponding member of RAS, director of the institute

Резюме

Цель исследования: изучение изменений морфофункциональных параметров изолированного сердца на модели глобальной ишемии-реперфузии у конвенциональных крыс и крыс SPF категории с антибиотик-индуцированным дисбиозом (АИД) кишечника.

Материалы и методы: эксперименты были выполнены на крысах стока Wistar со статусом SPF и конвенциональных крысах. АИД моделировали путем внутрижелудочного введения кларитромицина и метронидазола в течение 3 дней.

Результаты: показаны более выраженные нарушения эвакуаторной функции желудочно-кишечного тракта и изменения параметров изолированного сердца, а также устойчивости миокарда к ишемии-реперфузии у крыс SPF категории по сравнению с конвенциональными животными.

Заключение: Конвенциональные животные характеризуются более высокой устойчивостью миокарда к ишемическому-реперфузионному повреждению по сравнению с животными SPF категории, что может являться следствием хронического системного воспалительного ответа, обеспечивающего активацию кардиопротективных механизмов у животных конвенционального статуса.

Ключевые слова: антибиотик-индуцированный дисбиоз, изолированное сердце, ишемия, размер инфаркта

Summary

Aim: assessment of morphological and functional parameters of the isolated heart subjected to global ischemia-reperfusion in conventional and SPF rats with antibiotic-induced intestinal dysbiosis (AID).

Materials and methods: experiments were performed on male Wistar rats belonging to conventional and SPF colonies. AID was induced by intragastric administration of clarithromycin and metronidazole during 3 days.

Results: SPF animals demonstrated more severe disorders in the evacuatory function of the gastrointestinal tract. In addition, important differences in baseline myocardial function and myocardial tolerance to ischemia-reperfusion were noted between SPF and conventional rats.

Conclusion: conventional animals are characterized by increased myocardial tolerance to ischemia-reperfusion injury versus SPF animals, which might be attributed to the presence of chronic low-grade systemic inflammatory response causing activation of cardioprotective signaling in conventional rodents.

Key words: antibiotic-induced intestinal dysbiosis, isolated heart, ischemia, infarct size

Работа выполнена в Научно-исследовательском отделе токсикологии Центра доклинических трансляционных исследований Института экспериментальной медицины ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Введение

Исследования в области медицинской и экспериментальной микроэндоэкологии последних лет убедительно подтверждают наблюдения специалистов различных биомедицинских направлений о влиянии кишечной микробиоты на практически все физиологические процессы и её роли в развитии различных заболеваний [1]. Достаточно широко представлены сведения о влиянии антимикробных препаратов (АМП) на изменение состава кишечной микробиоты [2] в связи с формированием здоровья и различных патологий [3], в т. ч. показывающие определяющую роль про- и противовоспалительных цитокинов, микробных гормонов, медиаторов и различных метаболитов в реализации соответствующих эффектов [4].

На современном этапе возрастает актуальность изучения новых аспектов патогенеза заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), сочетающихся с сердечно-сосудистыми заболеваниями, с целью оптимизации терапии у данной группы больных. Понятие коморбидности достаточно актуально по отношению к гастродуоденальной и кардиоваскулярной патологиям. В литературе обсуждается проблема дальнейшего роста количества больных с сочетанием ишемической болезни сердца и язвенной болезни, которые явились в своем роде «лидерами» коморбидных состояний [5]. В то же время, современные стандарты в исследованиях на лабораторных животных направлены на обеспечение максимальной стандартизации всех факторов, способных оказывать влияние на результат эксперимента, включая микробиологический статус

животных. В частности, для уменьшения вариабельности экспериментальных исходов достаточно часто используются животные, свободные от специфицированной патогенной флоры или животные SPF категории (от англ. Specified Pathogen Free). Систематические исследования, в которых проводится сравнение физиологических ответов и компенсаторных реакций при моделировании патологии у животных с различным составом микробиоты ЖКТ, встречаются очень редко. Учитывая наличие единичных публикаций, посвященных исследованию устойчивости миокарда к ишемическому-реперфузионному повреждению (ИРП) при направленном изменении состава кишечной микробиоты на конвенциональных животных [6], и полное отсутствие данных по этому вопросу на животных SPF категории, острое научное и практическое значение приобретает необходимость разработки экспериментальных биомедицинских моделей на животных с контролируемым составом кишечной микробиоты для исследования прямого или опосредованного влияния антибиотик-индуцированного дисбиоза (АИД), вызванного введением АМП, с учётом модуляции устойчивости миокарда к ИРП.

Целью данного исследования было изучение некоторых особенностей модели АИД у крыс стока Вистар, рожденных и выращенных в конвенциональном виварии, и крыс того же стока SPF категории с АИД на фоне введения смеси АМП широкого спектра действия в аспекте изменения устойчивости миокарда изолированного сердца к ИРП.

Материал и методы исследования

Эксперименты были выполнены на самцах крыс стока Wistar SPF категории, полученных из питомника лабораторных животных «Пушино» массой

250–300 г, и самцах крыс того же стока, полученных из питомника конвенциональных животных «Рапполово» массой 250–300 г, в полном соответствии

с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях. АИД моделировался введением по 15 мг кларитромицина и метронидазола, растворенных в 0,5 мл воды, каждые 24 часа в течение 3 суток 1 раз в сутки с 10.00 до 12.00. Животным контрольных групп вводили воду в том же объеме. Далее всем животным в течение 5 дней внутривенно вводили по 0,5 мл фосфатного буфера. После завершения введения препаратов животных наркотизировали изофлураном, брали цельную кровь из задней полой вены для гематологического анализа, вскрывали грудную клетку и осуществляли удаление сердца для последующей перфузии изолированного сердца по Лангендорфу. В ходе перфузии регистрировали частоту сердечных сокращений (уд./мин.), коронарный поток (мл/мин.), величины конечно-диастолического (КД-ДЛЖ, мм рт. ст.) и систолического (СДЛЖ, мм рт. ст.) давления в левом желудочке на персональном компьютере с помощью программы PhysExp 3.0 [7]. Продолжительность глобальной ишемии составляла 30 мин., реперфузии – 60 мин. После завершения реперфузии осуществляли планиметрическую оценку размера инфаркта путём окраски срезов сердца 1% трифенилтетразолием хлорида (ТТХ). Размер инфаркта выражали в процентах от общей площади среза и вычисляли среднее значение для данного сердца по результатам анализа 5 срезов [8]. На протяжении всего эксперимента, ежедневно с 9

до 10 утра проводили оценку клинического статуса животных, потребления корма и воды, а также измеряли массу тела животных.

Животные были разделены на следующие группы: 1) Контроль SPF (К SPF, $n = 5$), крысы со статусом SPF, которые в течение трех дней ежедневно получали внутривенно по 0,5 мл дистиллированной воды, а затем в течение пяти дней – по 0,5 мл фосфатного буфера; 2) АИД SPF ($n = 5$), SPF крысам данной группы после 3-х дневного введения АМП внутривенно в течение 5 дней вводили фосфатный буфер в объеме 0,5 мл; 3) Конвенциональный контроль (К КОНВ, $n = 5$), конвенциональные животные, получавшие в течение трех дней ежедневно внутривенно по 0,5 мл дистиллированной воды, а затем в течение пяти дней – по 0,5 мл фосфатного буфера; 4) АИД КОНВ ($n = 5$), в данной группе в течение 3-х дней конвенциональным животным вводили внутривенно смесь антимикробных препаратов в объеме 0,5 мл, затем в течение пяти дней – по 0,5 мл фосфатного буфера. На момент окончания опыта оценивали массу внутренних органов: желудка, печени, почек, селезенки, слепой кишки.

Для каждого из определяемых показателей рассчитывали среднее значение (M) и стандартное отклонение ($\pm m$). Статистический анализ полученных результатов проводился с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни (программный пакет STATISTICA 9.0). Достоверными считались различия при уровне значимости $P < 0,05$.

Результаты исследования

Масса тела, потребление воды и пищи значимо не различались между группами (табл. 1). При аутопсии как у конвенциональных, так и у SPF животных с АИД было отмечено вздутие кишечника, указывающее на признаки интоксикации и нарушения пищеварения. В период введения АМП, особенно в первые сутки, у некоторых животных из всех групп отмечались симптомы диспепсии: маслянистая консистенция стула светлого цвета, в отдельных случаях диарея, а также такие признаки, как активный груминг, взъерошенная шерсть, беспокойство и агрессивность в поведении.

Масса основных внутренних органов крыс по группам на момент завершения эксперимента значимо не отличалась, за исключением почти 3-х кратного увеличения массы слепой кишки с химусом в группе АИД SPF и увеличения данного показателя на 56% в группе АИД КОНВ ($P < 0,05$ в сравнении с соответствующими контролями). Отмечено существенное увеличение массы селезенки у конвенциональных крыс по сравнению с соответствующими группами SPF животных более чем на 70% ($P < 0,05$; табл. 2).

Анализ гематологических параметров не выявил существенных изменений количества эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов у крыс в группах с АИД по сравнению с соответствующими контролями (табл. 3).

Размер инфаркта миокарда в группе К SPF составил $69,4 \pm 7,33\%$. У крыс группы АИД SPF отмечалась тенденция к увеличению размера инфаркта ($72,5 \pm 4,32\%$). В группах конвенциональных крыс

размер зоны инфаркта в группе АИД увеличился на 22% и составил $50,10 \pm 0,81\%$ и $61,13 \pm 16,96\%$, соответственно, для групп К КОНВ и АИД КОНВ. Таким образом, можно констатировать, что показатели площади необратимого ишемического-реперфузионного поражения миокарда значимо отличались в контрольных группах К SPF и К КОНВ (на 28%, $P < 0,05$), при тенденции к увеличению данных показателей у крыс с АИД, причём устойчивость миокарда к ишемическому-реперфузионному повреждению у конвенциональных крыс оказалась выше (табл. 4).

Исходные показатели систолического давления в левом желудочке в группах К SPF и АИД SPF и конвенциональных К КОНВ и АИД КОНВ достоверно не отличались, однако после 30-ти минут глобальной ишемии СДЛЖ у крыс SPF категории было достоверно ниже по сравнению с конвенциональными крысами в течение всего периода реперфузии примерно на 70%. У конвенциональных крыс снижение СДЛЖ по сравнению с исходными значениями к концу наблюдения составило около 20%, а для SPF животных этот показатель снизился в 2 раза (рис. 1А).

КДДЛЖ у крыс в группах К SPF, АИД SPF и АИД КОНВ было практически равным для всего периода наблюдения, однако в группе К КОНВ после глобальной ишемии этот показатель по сравнению со всеми группами был выше на 30% (рис. 1Б).

При относительном равенстве пульсового давления (ПД) в группах К SPF и АИД SPF, для всего перио-

да наблюдения, а также исходных значений в группах К КОНВ и АИД КОНВ, было отмечено устойчивое увеличение пульсового давления в группе конвенциональных крыс с АИД от 30% до 43% (рис. 1В).

Исходные значения скорости КП изолированно го сердца у SPF-крыс в контрольной группе К SPF и опытной группе АИД SPF были значимо больше, чем у конвенциональных животных в группах К КОНВ и АИД КОНВ на 39% и 22,5% соответственно ($P < 0,05$). В течение всего периода наблюдения после глобальной ишемии в группах с АИД (АИД SPF и АИД КОНВ) скорость КП была выше, чем в контрольных группах К SPF и К КОНВ, соответственно. На протяжении всего исследования, как в исходном состоянии, так и в постишемическом периоде СКП у конвенциональных крыс была

существенно ниже, чем у животных SPF категории. Так, исходная СКП в контрольной группе К SPF была больше на 70% ($P < 0,05$), по сравнению с конвенциональным контролем, как и через 60 минут после глобальной ишемии (рис. 1Г).

Значения давления в левом желудочке в период глобальной ишемии через 15 и 30 минут от её начала у крыс с АИД в группах SPF животных не отличались, а у конвенциональных крыс этот показатель был меньше на 56% и 20% по сравнению с контролем. При сравнении давления в левом желудочке в период глобальной ишемии через 30 минут у SPF и конвенциональных животных наблюдалась достоверная разница: в группах К SPF и АИД SPF этот показатель был меньше в 4 раза, чем в группах К КОНВ и АИД КОНВ соответственно (рис. 2).

Группа	Масса тела, г (1-й день)	Масса тела, г (9-й день)	Потребление воды, мл/сут. на 100 г	Потребление корма, г/сут. на 100 г
К SPF	282,8 ± 13,4	294,8 ± 26,5	10,5 ± 4,5	5,8 ± 2,3
АИД SPF	282,6 ± 18,6	298,0 ± 15,8	12,7 ± 3,9	5,1 ± 1,4
К КОНВ	267,0 ± 14,6	284,6 ± 17,9	11,9 ± 2,9	8,4 ± 1,6
АИД КОНВ	260,6 ± 16,8	276,8 ± 22,6	9,6 ± 1,1	7,0 ± 0,8

Таблица 1.

Масса тела животных, потребление воды и корма в течение всего опыта (n = 5 в каждой группе).

Группа	Желудок без содержимого	Печень	Почки	Селезёнка	Слепая кишка
К SPF	1,48 ± 0,25	9,45 ± 0,70	1,82 ± 0,11	0,77 ± 0,07	4,19 ± 0,56
АИД SPF	1,63 ± 0,28	9,24 ± 0,51	1,88 ± 0,10	0,72 ± 0,03	11,11 ± 1,50*
К КОНВ	1,42 ± 0,09	10,59 ± 0,51	1,72 ± 0,12	1,36 ± 0,34**	4,17 ± 0,48
АИД КОНВ	1,45 ± 0,21	10,07 ± 1,27	1,68 ± 0,16	1,27 ± 0,20**	6,51 ± 0,75*

Таблица 2.

Масса внутренних органов крыс в конце опыта (n = 5 в каждой группе).

Примечание:

* – $P < 0,05$ в сравнении с контролем;

** – $P < 0,05$ в сравнении с соответствующими группами животных SPF категории.

Группа	Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	Эритроциты, $\times 10^{12}/\text{л}$	Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$
К SPF	8,348 ± 3,561	7,793 ± 0,157	579,8 ± 172,7
АИД SPF	7,030 ± 1,669	7,665 ± 0,304	670,0 ± 120,3
К КОНВ	7,373 ± 2,726	8,163 ± 0,649	592,7 ± 39,2
АИД КОНВ	8,810 ± 3,472	7,966 ± 0,407	605,8 ± 231,3

Таблица 3.

Количество лейкоцитов, эритроцитов и тромбоцитов в периферической крови животных разных экспериментальных групп.

Группа	Размер инфаркта, %	Отличие от соответствующего контроля, %
К SPF	69,4 ± 7,3	0
АИД SPF	72,5 ± 4,3	+4,5%
К КОНВ	50,1 ± 0,8 **	0
АИД КОНВ	61,1 ± 17,9	+22%

Таблица 4.

Размер инфаркта миокарда (в % по отношению к общему объему сердца) животных разных экспериментальных групп.

Примечание:

** – $P < 0,05$ в сравнении с группой К SPF.

Обсуждение

Введение смеси АМП в нашем исследовании вызвало нарушения функций пищеварительной системы, проявляющихся в задержке эвакуации содержимого ЖКТ с накоплением химуса в слепой кишке. В более ранних работах в аналогичной модели с внутрижелудочным введением АМП показаны изменения структурных и функциональных показателей ЖКТ, по-видимому, обусловленные как нарушением микробиоты, так и прямым, в основном токсическим, действием антибиотиков на

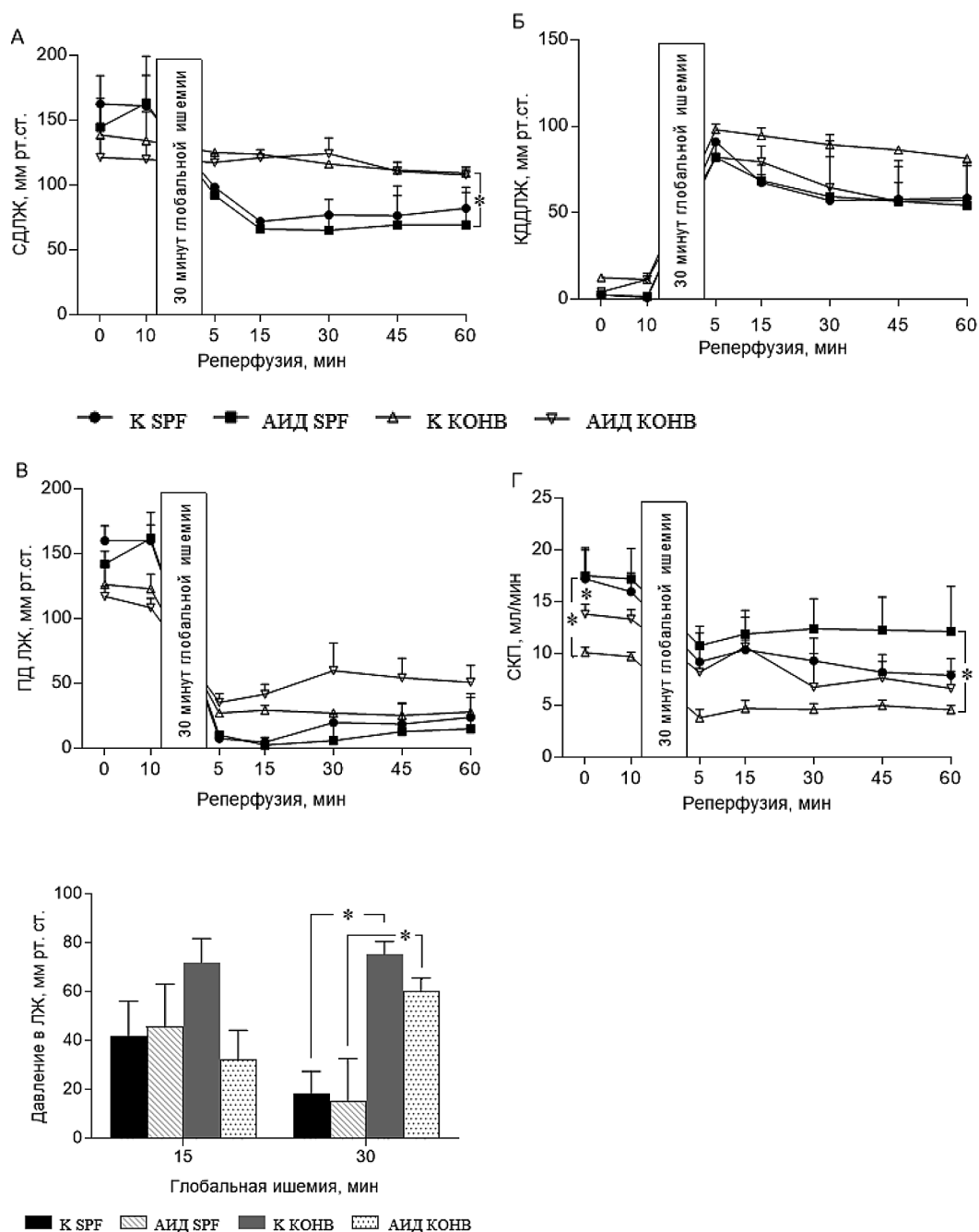
слизистую оболочку кишечника. Одной из причин изменения целостности кишечного эпителия в этих условиях может быть снижение, под влиянием метронидазола, толщины пристеночного слоя слизи, что приводит к повышению притока патогенов и их продуктов к кишечному эпителию и появлению в нём признаков воспаления [9]. Экспериментально было также показано, что эти нарушения слизистой оболочки кишки носят краткосрочный характер: у крыс с 5-ти дневным введением АМП,

Рисунок 1.

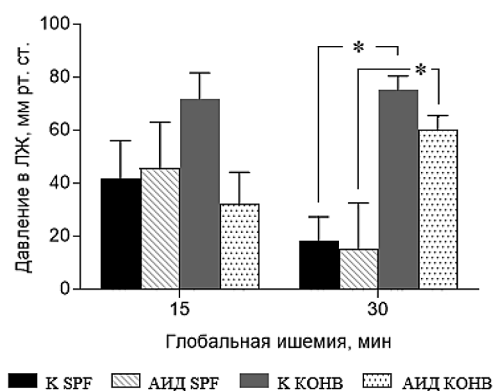
Функциональное состояние изолированного сердца.

Примечание:

А – динамика систолического давления в левом желудочке (СДЛЖ), Б – динамика конечно-диастолического давления в левом желудочке (КДДЛЖ), В – динамика пульсового давления в левом желудочке (ПДЛЖ), Г – динамика скорости коронарного потока (СКП). Условные обозначения экспериментальных групп указаны в тексте. * – $P < 0,05$ в сравнении с контролем.

**Рисунок 2.**

Динамика давления в левом желудочке в ходе 30-минутной глобальной ишемии. Обозначения аналогичны указанным на Рисунке 1.



по сравнению с 3-х дневным, большинство ключевых структурных и функциональных показателей тонкой и толстой кишки восстанавливаются [10].

В данной работе нами было сконцентрировано внимание на выяснении степени влияния АИД на основные функциональные характеристики изолированного сердца и устойчивости миокарда к ишемии-реперфузии на модели перфузии изолированного сердца, в зависимости от исходного состава кишечной микробиоты. Сравнительный анализ результатов проведенного исследования показал отсутствие существенных изменений в приросте массы тела, потреблении пищи и воды, гематологических показателей крови после 3-х дневного введения АМП, как в пределах SPF и конвенциональных групп, так и между ними. Однако, данные, полученные на модели изолированного сердца, показывают более высокую устойчивость

миокарда к ишемии-реперфузии конвенциональных крыс по сравнению с SPF-крысами. Это наблюдение может объясняться наличием состояния хронического системного воспалительного ответа, связанного с субклиническим, а в некоторых случаях и манифестным течением инфекционных заболеваний у конвенциональных животных. Из литературы известно, что устойчивость миокарда к ишемическому-реперфузионному повреждению у мышей может быть повышена после инфузии таких провоспалительных цитокинов, как фактор некроза опухолей- α и интерлейкин-1 β [11, 12]. Фактически экзогенное введение провоспалительных цитокинов в этом случае воспроизводит феномен позднего ишемического preconditionирования миокарда. Хотя в нашей работе не производилось измерение уровня провоспалительных цитокинов у животных с различным микробиологическим

статусом, по ряду косвенных признаков (например, спленомегалии) можно предположить, что более высокая устойчивость миокарда к ишемии у конвенциональных животных связана с цитокиновым прекодиционированием миокарда. Также в нашей работе показаны более высокие значения систолического давления в левом желудочке у крыс SPF категории по сравнению с конвенциональными и конечно-диастолического давления у интактных конвенциональных крыс по сравнению с крысами после введения АМП и с группой SPF. Данные гемодинамических исследований также показали, что интактные конвенциональные крысы обладают наиболее низкими показателями скорости коронарного потока. Гиперкинетический тип гемодинамики соответствовал как конвенциональным крысам после введения АМП, так и обеим группам SPF животных. Динамика изменения давления в левом желудочке в ходе 30-минутной глобальной ишемии показывает, что по сравнению с конвенциональными животными у крыс SPF через 30 мин. оно было существенно ниже. Эти данные свидетельствуют о меньшей выраженности ишемической контрактуры миокарда крыс SPF категории.

Из литературных источников известно, что введение ванкомицина *per os* крысам сокращает количественный и качественный состав кишечной микробиоты, и снижает уровень лептина в крови, что, вероятно, связано с достоверным уменьшением размера инфаркта на модели изолированного сердца [13]. Другими авторами, также на модели АИД, у крыс показано влияние введения АМП не только на морфофункциональные параметры ЖКТ [10], вызванные изменением состава кишечной микробиоты с чрезмерным ростом *Klebsiella spp.* и снижением представительства *Faecalobacterium prauznitzii*, но и на изменение продукции провоспалительных и противовоспалительных цитокинов [4]. Основываясь на показанных различиях воздействия АМП на животных с различным микробиологическим статусом, для выяснения механизмов влияния АМП на сочетанные нарушения ЖКТ и сердечно-сосудистой системы необходимы дальнейшие углубленные исследования конвенциональных животных и животных SPF статуса по единому протоколу, учитывая, что тест-системы SPF категории показали большую чувствительность к ишемическому-реперфузионному повреждению миокарда по сравнению с конвенциональными животными.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 18–15–00153).

Литература | Reference

1. Postler T.S., Ghosh S. Understanding the holobiont: how microbial metabolites affect human health and shape the immune system // *Cell. Metab.* – 2017. – Vol. 26. – P. 110–130.
2. Raymond F., Ouameur A.A., Deraspe M. et al. The initial state of the human gut microbiome determines its reshaping by antibiotics // *ISME J.* – 2016. – Vol. 10. – P. 707–720.
3. De Vos W.M., de Vos E.A. Role of the intestinal microbiome in health and disease: from correlation to causation // *Nutr. Rev.* – 2012. – Vol. 70. – P. S45–S56.
4. Аверина О.В., Ермоленко Е.И., Борщев Ю.Ю. и соавт. Влияние пробиотиков на продукцию цитокинов в системах *in vitro* и *in vivo* // *Мед. иммунол.* – 2015. – Т. 17, № 5. – С. 443–454.
5. Averina O. V., Ermolenko E. I., Ratushnyi A. Y., Tarasova E. A., Borshev Y. Y., Leontieva G. F., Kramskaya T. A., Kotyleva M. P., Danilenko V. N., Suvorov A. N. Influence of probiotics on cytokine production in the *in vitro* and *in vivo* systems. *Medical Immunology (Russia)*. 2015;17(5):443–454. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2015-5-443-454>
6. Лазебник Л.Б., Соколова Г.Н., Черняев А.Я. Хронические язвы у лиц пожилого возраста // *Эксп. клин. гастроэнтерология.* – 2002. – № 1. – С. 3–7.
7. Lazebnik L. B., Sokolova G. N., Cherniaev A. Ia. Chronic ulcers in elderly people. *Eksp Klin Gastroenterol.* 2002;(1):3–7.
8. Борщев Ю.Ю., Минасян С.М., Ермоленко Е.И. и соавт. Влияние пробиотического штамма *E. Faecium* L3 на устойчивость миокарда к ишемии-реперфузии в модели антибиотик-индуцированного дисбиоза кишечника // *Росс. физиол. журнал им. И.М. Сеченова.* – 2016. – Т. 102, № 11. – С. 1323–1332.
9. Borshchev Y. Y., Minasian S. M., Burovenko I. Y., Ermolenko E. I., et al. Influence of probiotic strain *e. Faecium* L3 on myocardial tolerance to ischemia-reperfusion injury in the model of antibiotic-induced intestinal dysbiosis. *Ross Fiziol Zh Im I M Sechenova.* 2016 Nov;102(11):1323–32.
10. Королев Д.В., Александров И.В., Галагудза М.М. и соавт. Автоматизация получения и обработки данных физиологического эксперимента // *Регионар. кровообр. микроцирк.* – 2008. – Т. 7, № 2(26). – С. 79–84.
11. Korolev D. V., Aleksandrov I. V., Galagudza M. M. et al. Automation of the acquisition and processing of physiological experiment data. *Regional blood circulation and microcirculation.* 2008, vol. 7, no 2(26), pp. 79–84
12. Минасян С.М., Бадриханова Л.Р., Галагудза М.М. и соавт. Сравнительное исследование защитного эффекта гипотермии, ишемического прекодиционирования и модифицированных кардиоплегических растворов при ишемии-реперфузии изолированного сердца крысы // *Регионар. кровообр. микроцирк.* – 2008. – № 2(26). – С. 72–78.
13. Minasyan S. M., Badrikhanova L. R., Galagudza M. M. et al. Comparative study of the protective effect of hypothermia, ischemic preconditioning and modified cardioplegic solutions in ischemia-reperfusion of an isolated rat heart. *Regional blood circulation and microcirculation.* 2008, vol. 7, no 2(26), pp. 72–78
14. Wlodarska M., Willing B., Keeney K. M. et al. Antibiotic treatment alters the colonic mucus layer and predisposes the host to exacerbated *Citrobacter rodentium*-induced colitis // *Infection and immunity.* – 2011. – Vol. 79. – P. 1536–1545.
15. Борщев Ю.Ю., Громова Л.В., Ермоленко Е.И. и соавт. Реакция пептидгидролаз тонкой и толстой кишки крыс на введение антибиотиков // *Росс. физиол. журнал им. И.М. Сеченова.* – 2012. – Т. 98, № 6. – С. 724–733.
16. Borshchev Y. Y., Gromova L. V., Ermolenko E. I., et al. Reaction of small and large intestine peptidhydrolases of rats to antibiotic administration. *Ross Fiziol Zh Im I M Sechenova.* 2016 Nov;102(11):1323–32.
17. Hoshida S., Yamashita N., Otsu K., Hori M. Repeated physiologic stresses provide persistent cardioprotection against ischemia-reperfusion injury in rats // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2002. – Vol. 40. – P. 826–831.
18. Hoshida S., Yamashita N., Otsu K., Hori M. The importance of manganese superoxide dismutase in delayed preconditioning: involvement of reactive oxygen species and cytokines // *Cardiovasc. Res.* – 2002. – Vol. 55. – P. 495–505.
19. Lam V., Su J., Koprowski S., Hsu A. et al. Intestinal microbiota determine severity of myocardial infarction in rats // *FASEB J.* – 2012. – Vol. 26. – P. 1727–1735.