

<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-203-7-158-164>

## Сравнительная оценка состояния микробиоты кишечника, показателей липидного обмена и морфологических изменений печени на экспериментальных моделях метаболического синдрома\*

Николаева Т. Н., Кожевникова Т. Н., Вострова Е. И., Сосновская О. Ю., Григорьева Е. А., Козлов В. В., Востров А. В., Сарычева М. А., Санин А. В., Чекнёв С. Б., Пронин А. В.

ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, 123098, ул. Гамалеи, 18, Россия

**Для цитирования:** Николаева Т. Н., Кожевникова Т. Н., Вострова Е. И., Сосновская О. Ю., Григорьева Е. А., Козлов В. В., Востров А. В., Сарычева М. А., Санин А. В., Чекнёв С. Б., Пронин А. В. Сравнительная оценка состояния микробиоты кишечника, показателей липидного обмена и морфологических изменений печени на экспериментальных моделях метаболического синдрома. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2022;203(7): 158–164. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-203-7-158-164

✉ Для переписки:

**Кожевникова**

**Татьяна**

**Николаевна**

tatiana140663

@gmail.com

**Николаева Татьяна Николаевна**, вед. н.с., д.м.н., зав. лаб. естественного иммунитета,  
**Кожевникова Татьяна Николаевна**, к.м.н., научный сотрудник лаб. клеточного иммунитета  
**Вострова Елена Ивановна**, научный сотрудник лаборатории межклеточных взаимодействий  
**Сосновская Ольга Юрьевна**, к.б.н., с.н.с., лаб. клеточного иммунитета  
**Григорьева Екатерина Анатольевна**, н.с.к.б.н. лаб. естественного иммунитета  
**Козлов Вячеслав Владимирович**, н.с. лаб. естественного иммунитета,  
**Востров Алексей Васильевич**, ведущий инженер лаборатории межклеточных взаимодействий,  
**Сарычева Мария Андреевна**, научный сотрудник лаборатории межклеточных взаимодействий,  
**Чекнёв Сергей Борисович**, д.м.н., заместитель директора по научной работе, заведующий лаб. межклеточных взаимодействий  
**Санин Александр Владимирович**, доктор биологических наук, профессор, зав. лаб. клеточного иммунитета  
**Пронин Александр Васильевич**, заместитель директора по научной работе, д.б.н., профессор

### Резюме

\* Иллюстрации к статье – на цветной вкладке в журнал (стр. V).

Метаболический синдром (МС) — широко распространенный полиэтиологический симптомокомплекс, характеризующийся метаболическими, гормональными нарушениями и клиническими проявлениями, которые существенно повышают риск развития сердечно-сосудистых заболеваний, атеросклероза, диабета II типа и других патологических состояний. Важную роль в развитии МС отводят кишечной микробиоте. Для разработки новых средств фармакокоррекции проявлений МС необходима отработка адекватных моделей.

В данной работе проведены сравнительные исследования по оценке показателей липидного и углеводного обмена, содержания пептидных гормонов, морфологических изменений ткани печени, количественного и родового состава микробиоты кишечника мышей.

В экспериментах использованы модели экспериментальной гиперлипидемии (ГЛ), вызванной введением полксамера 407 (Pol407) и алиментарного МС (рацион с фруктозой и добавлением в корм холестерина).

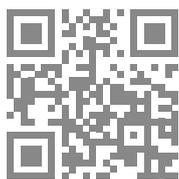
Выявлено значительное повышение уровней холестерина, триглицеридов и липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) в группе мышей получавших инъекции Pol407. Для оценки показателей углеводного обмена в сыворотках крови проведено определение следующих маркеров: инсулина, адипонектина, лептина. На модели алиментарного МС отмечено снижение адипонектина на фоне повышенного содержания инсулина в сыворотке крови.

Обе экспериментальные модели вызвали изменения микробиоты кишечника лабораторных животных, которые характерны для проявления метаболического дисбиоза — увеличение представленности в биоматериале бактерий Firmicutes (стафилококков, стрептококков, энтерококков), изменения среди представителей как факультативной (*E.coli*), так и транзиторной (бактерии рода *Enterobacter*) микрофлоры. Кроме того, в обеих группах отмечены дистрофические, морфологические изменения и развитие признаков воспаления в ткани печени.

**Ключевые слова:** метаболический синдром, микробиота кишечника, гиперлипидемия, экспериментальная модель, полксамер, фруктоза

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

EDN: LSRZUS





# Comparative assessment of the intestinal microbiota, lipid metabolism and morphological changes of the liver in experimental models of metabolic syndrome\*

T. N. Nikolaeva, T. N. Kozhevnikova, E. I. Vostrova, O. Yu. Sosnovskaya, E. A. Grigorieva,

V. V. Kozlov, A. V. Vostrov, M. A. Sarycheva, A. V. Sanin, S. B. Cheknev, A. V. Pronin

Federal State Budgetary Institution "National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N. F. Gamaleya" of the Ministry of Health of the Russian Federation, build.18, Gamaleya str., Moscow, 123098, Russia

**For citation:** Nikolaeva T. N., Kozhevnikova T. N., Vostrova E. I., Sosnovskaya O. Yu., Grigorieva E. A., Kozlov V. V., Vostrov A. V., Sarycheva M. A., Sanin A. V., Cheknev S. B., Pronin A. V. Comparative assessment of the intestinal microbiota, lipid metabolism and morphological changes of the liver in experimental models of metabolic syndrome. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2022;203(7): 158–164. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-203-7-158-164

✉ *Corresponding author:*

**Tatiana N.**

**Kozhevnikova**

tatiana140663

@gmail.com

**Tatiana N. Nikolaeva**, Doctor of Medical Sciences, Head. Laboratory of Natural Immunity; *ORCID: 0000-0001-6226-7251*

**Tatiana N. Kozhevnikova**, PhD(Med), research scientist, Laboratory of Cellular Immunity; *ORCID: 0000-0003-0507-1935*

**Elena I. Vostrova**, research scientist, Lab. of Cell to Cell Interactions; *ORCID: 0000-0002-9214-0590*

**Olga Yu. Sosnovskaya**, PhD(Biol), senior scientist, Laboratory of Cellular Immunity; *ORCID: 0000-0001-9954-2667*

**Ekaterina A. Grigorieva**, PhD (Biol), research scientist, Lab. of Natural Immunity; *ORCID: 0000-0001-7811-3740*

**Vyacheslav V. Kozlov**, research scientist, Lab. of Natural Immunity; *ORCID: 0000-0002-0502-4824*

**Alexei V. Vostrov**, lead engineer, Lab. of Cell to Cell Interactions; *ORCID: 0000-0003-2834-537X*

**Maria A. Sarycheva**, research scientist Lab. of Cell to Cell Interactions; *ORCID: 0000-0003-0250-1581*

**Sergey B. Cheknev**, Doctor of Medical Sciences, Deputy Director for Science, Head of the Lab. of Cell to Cell Interactions; *ORCID: 0000-0002-9512-7148*

**Aleksandr V. Sanin**, D. Sci(Biol), professor, Head.Laboratory of Cellular Immunity; *ORCID: 0000-0003-3091-5802*

**Alexandr V. Pronin**, D. Sci(Biol), professor, Deputy Director for Science; *ORCID: 0000-0001-5266-9783*

## Summary

Metabolic syndrome (MS) is a widespread polyetiological clustering characterized by metabolic, hormonal disorders and clinical manifestations that significantly increase the risk of developing cardiovascular diseases, atherosclerosis, type II diabetes and other pathological conditions. An important role in the development of MS is assigned to the intestinal microbiota. To develop new therapeutic agents for correction of MS manifestations, it is necessary to develop adequate experimental models.

In this paper, comparative studies were conducted to assess the parameters of lipid metabolism, the content of peptide hormones, morphological changes in liver tissue, and the quantitative and generic composition of the intestinal microbiota of mice.

Experimental models of experimental hyperlipidemia (HL) caused by the introduction of poloxamer 407 (Pol407) and alimentary MS (a diet with fructose and the addition of cholesterol to the feed) were used.

Significant increase in the levels of cholesterol, triglycerides, and low-density lipoprotein (LDL) was found in the group of mice treated with Pol407 injections. To assess the indicators of carbohydrate metabolism in blood serum, the following markers were determined: insulin, adiponectin, leptin. In the alimentary MS model a decrease in adiponectin in the blood serum, while insulin level was increased.

In both experimental models, significant changes in the gut microbiota of mice were observed. They were associated with the manifestation of metabolic dysbiosis — an increase in the representation of Firmicutes (staphylococci, streptococci, enterococci) in the biomaterial, changes among representatives of both facultative (*E. coli*), and transient (*Enterobacter* bacteria) microflora. In addition, dystrophic, as well as morphological changes and signs of inflammation in the liver tissue were noted in both groups.

**Keywords:** metabolic syndrome, intestinal microbiota, hyperlipidemia, experimental model, poloxamer, fructose

**Conflict of interest.** Authors declare no conflict of interest.

\* Illustrations to the article are on the colored inset of the Journal (p. V).

## Введение

Метаболический синдром (МС) – патологическое состояние организма, характеризующееся метаболическими, гормональными нарушениями и клиническими проявлениями, связанными с ожирением, изменениями гомеостаза глюкозы

и липидного обмена, приводящими, в свою очередь, к риску развития сердечно-сосудистых заболеваний, атеросклероза, сахарного диабета II типа, неалкогольной жировой дистрофии печени [1, 2]. Получены доказательства участия в развитии МС

кишечной микробиоты. Микрофлора желудочно-кишечного тракта участвует в формировании экосистемы кишечника, в физиологической регуляции процессов, направленных на поддержание иммунного гомеостаза, процессов жизнедеятельности, связанных с пищеварением и обменом веществ [3, 4, 5]. Изменения кишечного микробного пейзажа приводят к повышению кишечной проницаемости, эндотоксемии, хроническому воспалению и способствуют развитию ожирения и ассоциированных с ним хронических нарушений обмена веществ [6, 7].

Основным диагностическим критерием МС служит дислипидемия – дисфункциональные нарушения регуляции жирового и углеводного обмена. Жировая ткань выделяет биологически активные адипокины, дисбаланс которых приводит к различным метаболическим дисфункциям. Гипертрофия жировой ткани сопровождается снижением выработки противовоспалительного адипонектина и ростом продукции провоспалительных – лептина, резистина. Наиболее специфичный гормон жировой ткани – лептин участвует в регуляции энергетического обмена и рассматривается в качестве одного из факторов патогенеза инсулиннезависимого сахарного диабета (сахарного диабета 2-го типа): избыток лептина ведет к подавлению секреции инсулина, ослабляет действие инсулина на клетки печени, способствует развитию инсулинрезистентности в инсулинозависимых тканях. У пациентов с ожирением и МС развивается ГЛ и последующая «селективная лептинорезистентность», приводящая к снижению анорексигенного действия лептина и преобладанию липогенеза над липолизом [8, 9].

Развитие МС сопровождается повышением уровня инсулина с одновременным развитием резистентности к нему и снижением уровня адипонектина – гормона, содержание которого обратно связано с индексом атерогенности и степенью ожирения [10]. У мышей с дислипидемией уровень адипонектина снижен на фоне повышенного уровня инсулина в сыворотке крови.

В литературе представлены данные об экспериментальной индукции ГЛ у животных.

## Материалы и методы

Эксперименты выполнены на мышах C57Bl/6, самцах, массой 18–20 г, полученных из Центрального питомника лабораторных животных «Столбовая». Животных содержали при свободном доступе к воде и корму. Основные правила содержания и ухода соответствовали нормативным документам. Все процедуры по рутинному уходу за животными выполнялись в соответствии с СОП ФГБУ «НИЦЭМ им.Н.Ф.Гамалеи» Минздрава России.

Проведение экспериментов проводилось после одобрения Комитета по биомедицинской этике ФГБУ НИЦ ЭМ им.Н.Ф.Гамалеи (протокол № 3 от 18.02.21 г.).

Мыши опытной группы (группа 1) получали в качестве питья 20% раствор фруктозы + холестерина (0,5% на 100 г стандартного корма).

Алиментарная модель включает длительное использование диеты с высоким содержанием фруктозы и жира [11, 12]. Продолжительное потребление фруктозы приводит к неалкогольной жировой болезни печени, возникновению резистентности к инсулину и диабету II типа [13]. Обнаружено, что индуцированный метаболизм фруктозы в клетках кишечной стенки снижает выработку белков, которые поддерживают барьерную функцию кишечника – активность эпителиальных клеток, покрытых слизистыми компонентами, предотвращающих проникновение бактерий и микробных продуктов, таких как эндотоксины, из кишечника в кровь. Таким образом повышается проницаемость кишечной стенки, что приводит к развитию хронического воспаления и эндотоксемии [14].

Известна модель хронической гиперлипидемии и атеросклероза, получаемая путем внутрибрюшинного введения неионного детергента – полксамера 407 (P407), оказывающего влияние на липидный метаболизм [15]. Показано, что внутрибрюшинное введение P407 крысам вызывает выраженную, продолжающуюся до нескольких дней гиперлипидемию, гиперхолестеринемию и гипертриглицеридемию. Хроническое (в течение трех месяцев) воздействие этого вещества приводит к появлению у животных липидных отложений в аорте [16, 17]. P407, подобно другим поверхностно активным соединениям, встраивается в липидные слои биомембран, повышая их проницаемость. Механизм развития липидемии при введении полксамера связан с подавлением гидролиза триглицеридов за счет подавления липопротеинлипазы [15, 18, 19].

С целью поиска кандидатов и создания новых препаратов для терапии проявлений МС необходима отработка адекватных моделей дисфункциональных изменений метаболических процессов. В настоящем исследовании на моделях экспериментальной гиперлипидемии и нарушении углеводного обмена проведена сравнительная оценка показателей липидного обмена, содержания пептидных гормонов, морфологических изменений ткани печени, количественного и родового состава микробиоты кишечника лабораторных животных.

Мышам опытной группы (группа 2) вводили внутрибрюшинно полксамер 407 (Sigma) два раза в неделю в дозе 500 мг/кг.

Контрольная группа мышей получала стандартный полусинтетический корм и в качестве питья воду. (группа 3)

Длительность экспериментов составила 2,5 месяца (10 недель). В каждой группе представлено 5–10 мышей.

Содержание липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), низкой плотности (ЛПНП), аспартат аминотрансферазы (АСТ), аланин аминотрансферазы (АЛТ), общего холестерина, триглицеридов, глюкозы в плазме крови определяли на биохимическом анализаторе Beckman Coulter 680.

Для определения лептина и адипонектина в сыворотке крови мышей использовали коммерческие наборы фирмы AssayPro, инсулина – фирмы RayBiotech, измерения проводились на спектрофотометре Multiskan FC Termo Fisher с использованием программы SkanIt Software 3.0.

Для проведения морфологического исследования фрагменты печени фиксировали в растворе формалина. Срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином-эозином.

Микробиотический пейзаж дистального отдела толстого кишечника и биоматериала фекалий оценивали по количественным и родовым показателям микробных популяций кишечной флоры: *Bifidobacterium* грамположительные бактерии группы *Firmicutes*, включая *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, и грамотрицательные бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, в том числе ферментирующие *Escherichia coli lac+* и неферментирующие *E. coli lac-*, а также грибы рода *Candida*. С этой целью использовали элективные и селективные питательные среды: Бифидум среда (ФБУН ГНЦ ПМБ, г. Оболensk), Mannitol Salt agar Base (Himedia), Mannitol Salt agar Base (Himedia), Streptococcus Selection agar

(Himedia), MRS agar (Himedia), Brilliance™ E coli/coliform selective medium(OXOID), Eosin methylene blue agar (Levine) (OXOID), MacConkey agar (OXOID), Endo agar Special (Himedia), Rogosa agar (OXOID), Blood agar Base(infusion agar) (Himedia), Sabouraud Dextrose agar(Himedia), MRS agar, Sabouraud Dextrose agar (Himedia), Nutrient agar (Himedia).

В качестве исследуемого материала использовали сегмент нисходящего отдела толстого кишечника, который измельчали и обрабатывали в шейкере-инкубаторе ST-3L (Elmi) при 20°C, в режиме 370 об./мин в течение 20 мин, и свежевыделенные фекалии лабораторных мышей. Количество жизнеспособных бактерий в биоматериале определяли методом прямого посева на питательные среды и визуального подсчета выросших колоний по истечении необходимых сроков инкубации. Количество бактерий в содержимом дистального отдела толстого кишечника выражали в lg(КОЕ/мл), в биоматериале фекалий – в lg(КОЕ/г).

При математической обработке результатов ( $M \pm m$ ) достоверность различия средних величин устанавливали с помощью t-критерия Стьюдента ( $p \leq 0,05$ ).

## Результаты и обсуждение

Исследования, проведенные спустя 10 недель после начала эксперимента, показали, что в результате выпаивания мышей 20% раствором фруктозы с добавлением в корм холестерина (группа 1) или введения P407 (группа 2) относительная масса печени животных увеличивалась по сравнению с таковой в контрольной группе мышей (табл. 1).

Результаты биохимических исследований свидетельствуют о выраженной дислипидемии в опытных группах животных. Полученные данные обнаруживают более глубокие нарушения липидного обмена при внутрибрюшинном введении мышам P407, о чем свидетельствует высокий уровень холестерина, триглицеридов, ЛПНП. По сравнению с контрольной группой (группа 3) у мышей, получавших фруктозу в комплексе с холестерином, в отличие от группы с P407, наблюдается существенный рост уровня глюкозы и снижение печеночного фермента АСТ в сыворотке крови (табл. 1).

Выявлены различия в содержании основных гормонов, регулирующих жировой и углеводный обмен: лептина, адипонектина и инсулина в сыворотке крови и печени мышей опытных групп, а также по сравнению с контролем (табл. 2). Показано, что уровень лептина и адипонектина снижен в печени мышей обеих опытных групп по сравнению с контрольной, при этом – в большей степени в группе с внутрибрюшинным введением P407. Содержание адипонектина в сыворотке крови мышей данной группы выше показателей контроля.

Обращает на себя внимание высокий уровень инсулина в сыворотке крови мышей, получавших фруктозу в комплексе с холестерином (группа 1).

Гистологические исследования ткани печени свидетельствуют, что в группе мышей, получавших фруктозу в комплексе с холестерином, по

сравнению с контролем, отмечается вакуолизация гепатоцитов типа баллонная дистрофия.

В обеих опытных группах в клетках печени животных наблюдаются крупные вакуоли, заполненные предположительно жировыми каплями. В толще паренхимы жировая дистрофия. По периферии порталных сосудов отдельные скопления пенистых клеток (макрофагов). Отмечены воспалительные изменения в виде лимфоцитарных инфильтратов (рис. 1, 2, 3)

Полученные данные обнаруживают нарушения липидного обмена с признаками триглицеридемии и гиперхолестеринемии, выраженные в большей степени при внутрибрюшинном введении P407 (группа 2). При этом в обеих опытных группах отмечены дистрофические, морфологические изменения и развитие признаков воспаления в ткани печени.

Данные, проведенных ранее исследований, свидетельствуют о взаимосвязи развития гиперлипидемии и микробиологических нарушений микрофлоры кишечника [5, 7].

Показано, что в группе животных с выпаиванием 20% раствором фруктозы и добавлением в корм холестерина (группа 1) в содержимом дистального сегмента толстого кишечника наблюдаются количественные и качественные изменения грамположительных представителей кишечной флоры: снижение представленности бактерий рода *Lactobacillus*, *E.coli lac+*, *Staphylococcus epidermidis* и нарастание числа *Enterococcus*, неферментирующих *E.coli lac-* и условно патогенной флоры *Staphylococcus aureus*, грибов рода *Candida* по сравнению с контрольной группой мышей (табл. 3).

Внутрибрюшинное введение P407 (группа 2) сопровождается снижением по сравнению с контролем и описанной группой 1 числа бактерий

Таблица 1.

Масса печени и показатели липидного обмена в сыворотке крови мышей.

Table 1.

Liver mass and indicators of lipid metabolism in the blood serum of mice.

Показатель	Единица измерения	Группы животных		
		Группа 1	Группа 2	Группа 3
Масса печени	г	1,37±0,01 ↑*	1,59±0,06 ↑*	0,73±0,07
Холестерин	ммоль/л	2,41±0,12	11,66±0,69 ↑*/**	2,69±0,14
Триглицериды	ммоль/л	0,61±0,07 ↓*	19,42±0,76 ↑*/**	1,34±0,09
ЛПВП	ммоль/л	1,63±0,03	2,46±0,17 ↑*/**	1,63±0,08
ЛПНП	ммоль/л	0,52±0,07	1,99±0,03 ↑*/**	0,65±0,04
Глюкоза	ммоль/л	6,71±0,16 ↑*/**	3,14±0,11 ↑**	2,72±0,08
АЛТ	Ед/л	50,9±3,1 ↓*	62,6±1,6 ↓*/**	71,50±5,4
АСТ	Ед/л	331,2±9,8 ↓*	388,5±12,94 ↑**	377,20±7,9
Коэффициент атерогенности		-	4	1

## Обозначения:

\*достоверные различия по сравнению с контролем,

\*\*достоверные различия между группами (p≤0,05).

Таблица 2.

Содержание адипокинов и инсулина в сыворотке крови и печени мышей

Table 2.

The content of adipokines and insulin in the blood serum and liver of mice

Показатель	Группы животных					
	Группа 1		Группа 2		Группа 3	
	Сыворотка	Печень	Сыворотка	Печень	Сыворотка	Печень
Адипонектин (нг/мл)	9580,05 ±450,10	131,56 ±16,38	13751,17 ±31,16 ↑*	109,82 ±9,56 ↓*	10096,18 ±245,17	278,16 ±38,98
Лептин (нг/мл)	2,39 ±0,09 ↓*	237,91 ±21,85 ↓*	3,17 ±0,15 ↓*	69,36 ±1,87 ↓*/**	5,41 ±1,14	370,26 ±23,15
Инсулин (Ед/мл)	14,77 ±2,08 ↑*	-	2,63 ±0,02 **	-	2,86 ±0,97	-

## Обозначения:

\*достоверные различия по сравнению с контролем,

\*\*достоверные различия между группами (p≤0,05).

Таблица 3.

Количество бактерий в содержимом дистального сегмента толстого кишечника мышей, Ig (КОЕ/мл).

Table 3.

The number of bacteria in the contents of the distal segment of the large intestine of mice, Ig (CFU / ml).

Бактерии	Группа 1	Группа 2	Группа 3
Общее количество	6,63±0,08	6,56±0,18	6,79±0,31
<i>Lactobacillus</i>	6,02±0,62	5,31±0,2 ↓*	7,0±0,23
<i>E.coli lac+</i>	2,41±0,02 ↓*	2,98±0,11	3,33±0,3
<i>E.coli lac-</i>	2,31±0,23 ↑*	1,65±0,31 ↑*	0,9±0,01
<i>Enterococcus</i>	6,5±0,19	6,57±0,17 ↑*	5,86±0,25
<i>S.epidermidis</i>	3,3±0,29	2,59±0,19 ↓*	4,42±0,28
<i>S.aureus</i>	2,5±0,39 ↑*	2,01±0,19	1,46±0,54
<i>Candida</i>	5,53±0,07 ↑*	4,47±0,26	3,35±0,37

## Обозначения:

\*достоверные различия по сравнению с контролем (p≤0,05).

рода *Lactobacillus* и *S.epidermidis*. Количество *Enterococcus*, неферментирующих *E.coli lac-* и условно патогенной флоры *S.aureus*, грибов рода *Candida* превышает аналогичные показатели контрольной группы (табл. 3).

При определении количественного и популяционного состава микрофлоры в биоматериале фекалий наблюдается увеличение бактерий *Lactobacillus*, *E.coli lac+*, *S.epidermidis*, *S.aureus*, грибов рода *Candida* по сравнению с показателями контрольной группы (группа 3) (табл. 4). Следует отметить, что вышеуказанные изменения выражены в меньшей степени при внутрибрюшинном введении Р407, чем в группе с выпаиванием мышей 20% раствором фруктозы и добавлением в корм холестерина. Одновременно, в группе животных, получавших Р407, количество *Bifidobacterium* снижается по сравнению с контролем (табл. 4).

В совокупности, результаты проведенных исследований на моделях экспериментального МС с различными механизмами развития патологических проявлений, свидетельствуют о нарушении у животных липидного, углеводного обмена и микроэкологии кишечника.

В организме обмен фруктозы происходит исключительно в печени и непосредственно стимулирует липогенез. Поступление больших количеств фруктозы в печень вызывает накопление триглицеридов и холестерина, что впоследствии приводит к развитию резистентности к инсулину и непереносимости глюкозы [20, 21].

Основным механизмом действия Р407 на метаболизм холестерина и триглицеридов служит подавление активности 7альфа-гидроксилазы, окисляющей холестерин до желчных кислот, и сывороточной липопротеинлипазы, расщепляющей

Таблица 4.

Микрофлора биоматериала фекалий мышей, Ig(КОЕ/г).

Table 4.

Microflora of mouse fecal biomaterial, Ig(CFU/g).

Бактерии	Группа 1	Группа 2	Группа 3
<i>Bifidobacterium</i>	9,02±0,02	8,85±0,04 ↓*	9,01±0,03
<i>Lactobacillus</i>	8,16±0,04 ↑*	8,25±0,04 ↑*	7,80±0,01
<i>E.coli lac+</i>	4,88±0,04 ↑*	5,81±0,01 ↑*	4,29±0,05
<i>E.coli lac-</i>	4,52±0,04	4,49±0,04	4,56±0,03
<i>Enterococcus</i>	7,78±0,01	7,77±0,03	7,71±0,02
<i>S.epidermidis</i>	6,68±0,01 ↑*	6,08±0,01 ↑*	5,95±0,02
<i>S.aureus</i>	4,62±0,03 ↑*	4,39±0,01	4,30±0,04
<i>Candida</i>	6,50±0,04 ↑*	5,76±0,02	5,85±0,02

**Обозначения:**

\*достоверные различия по сравнению с контролем (p≤0,05).

триглицериды. Показано также, что при гиперлипидемии, вызванной введением Р407, наблюдается ингибирование АТФ-зависимого кассетного транспортера, осуществляющего перенос внутриклеточного холестерина в ЛПВП [22].

Проведенные нами исследования выявили в толще паренхимы печени очаги жировой дистрофии, отдельные скопления макрофагов по периферии сосудов, свидетельствующие о воспалительных изменениях в виде лимфоцитарных инфильтратов.

Нарушения липидного обмена в большей степени выражены при внутрибрюшинном введении мышам Р407, о чем свидетельствует высокий уровень холестерина, триглицеридов, ЛПВП, ЛПНП, АЛТ, АСТ.

У мышей, получавших фруктозу в комплексе с холестерином, наблюдается существенный рост уровня глюкозы и инсулина в сыворотке крови, свидетельствующий о нарушении углеводного обмена.

В исследованных моделях отмечено изменение уровней пептидных гормонов, регулирующих у мышей углеводно-энергетический обмен, чувство голода и насыщения. У животных, которые получали Р407, наблюдали снижение уровня лептина и повышение содержания адипонектина в сыворотке крови.

Нарушение активности этих гормонов приводит к развитию ожирения, метаболических нарушений и атеросклероза [23,24,25]. Снижение уровней лептина и адипонектина особенно выражено в печени животных, которым вводили Р407.

Полученные в работе данные свидетельствуют о количественных и качественных изменениях микробиоты толстого кишечника в обеих исследованных группах мышей по сравнению с контрольными животными. Изменения выявлены преимущественно среди представителей факультативной флоры *E.coli*, *Enterococcus*, *S.epidermidis* и условно патогенных бактерий *S.aureus*.

Сравнивая количественные и популяционные показатели микрофлоры в опытных группах животных, следует отметить, что в группе с выпайванием мышей 20% раствором фруктозы и добавлением в корм холестерина в большей степени проявляется снижение количества бактерий *E.coli lac+*, увеличение *Enterococcus*, условно патогенной флоры *S.aureus* и грибов рода *Candida*.

В биоматериале фекалий изменения в составе микрофлоры связаны с представленностью облигатной флоры кишечника – *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*, бактерий семейства *Enterobacteriaceae* (*E.coli lac+*), транзитной флоры – *S.epidermidis* и условно патогенной – *S.aureus*.

В совокупности, полученные результаты свидетельствуют, что обе примененные схемы индукции МС и гиперлипидемии вызывают изменения микробиоты кишечника лабораторных животных, которые на основании имеющихся в современной научной периодике данных можно рассматривать как проявления метаболического дисбиоза, в частности – увеличение в биоматериале фекалий количества бактерий популяции *Firmicutes* (лактобактерий, стафилококков, энтерококков) [7].

Обнаруживаемые различия состава микрофлоры содержимого сегмента толстого кишечника и биоматериала фекалий, возможно, связаны с количественными вариациями мукозной (пристеночной) микрофлоры толстой кишки, имеющей тесную рецепторную связь с эпителиальными клетками, и ее содержанием в выделениях кишечника (фекалиях).

Как известно, нормальная микрофлора кишечника поддерживает биохимическое и метаболическое равновесие, участвует в углеводном и жировом обмене, презентации антигенов и активации лимфоидных клеток кишечной стенки и препятствует ее колонизации чужеродными микроорганизмами [4, 26].

В целом, использованные в работе экспериментальные модели, различающиеся механизмами индукции клиничко-лабораторных проявлений МС, обуславливают развитие принципиально сходных изменений состояния и состава микробиоты желудочно-кишечного тракта лабораторных животных. С учетом многофакторности влияний, которые испытывает в организме слизистая оболочка кишечника с локализующимися здесь симбиотическими, комменсальными и условно патогенными микроорганизмами, сказанное означает, что с точки зрения коррекции метаболических нарушений состояние пристеночной микрофлоры и совокупной микробиоты кишечника может служить наиболее чувствительным показателем и прогностическим критерием нормализации метаболических функций, нарушаемых в динамике развития МС.

## Литература | References

- Tajima R., Kimura T., Enomoto A., et al. No association between fruits or vegetables and non-alcoholic fatty liver disease in middle-aged men and women. *Nutrition*. 2019;(61):119–124. doi: 10.1016/j.nut.2018.10.016
- Vona R., Gambardella L., Cittadini C., Straface E., Pietraforte D. Biomarkers of Oxidative Stress in Metabolic Syndrome and Associated Diseases. *Oxid Med Cell Longev*. 2019 May 5;2019:8267234. doi: 10.1155/2019/8267234
- Zverev V. V., Maksimova O. V., Gervazieva V. B. Intestinal microbiota and its relationship with obesity. *Infectious diseases*. 2014;12(3):69–79. (in Russ.)  
Зверев В. В., Максимова О. В., Гервазиева В. Б. «Микробиота кишечника и ее связь с ожирением». *Инфекционные болезни*. 2014; 12(3):69–79
- Chernin V. V., Parfenov A. I., Bondarenko V. M., Rybalchenko O. V., Chervinec V. M. Symbiotic human digestion. Physiology. Clinic, diagnosis and treatment of its disorders. Tver. "Triada" 2013; 232. (in Russ.)  
Чернин В. В., Парфенов А. И., Бондаренко В. М., Рыбальченко О. В., Червинец В. М. Симбиотное пищеварение человека. Физиология. Клиника, диагностика и лечение его нарушений. Тверь «Триада» 2013; 232.,
- Santacruz A., Collado M. C., Garcia-Valdes L., et al. Gut microbiota composition is associated with body weight, weight gain and biochemical parameters in pregnant women. *Br. J. Nutr.* 2010;104(1):83–92. doi:10.1017/S0007114510000176
- Duerkop B. A., Vaishanava S., Hooper L. V. Immune responses to the intestinal mucosa surface. *Immunity*. 2009; 31(18):368–376. doi:10.1016/j.immuni.2009.08.009.
- Santos-Marcos J. A., Perez-Jimenez F., Camargo A. The role of diet and intestinal microbiota in the development of metabolic syndrome. *J Nutr Biochem*. 2019 Aug;70:1–27. doi: 10.1016/j.jnutbio.2019.03.017
- Salikhova A. F., Farkhutdinova L. M. Immunological shifting in obesity and their relationship with disorders of carbohydrate metabolism. *Medical Immunology*. 2013.15 (5):465–470. (in Russ.)
- Dov B Ballak, Rinke Stienstra, et al. IL-1 family members in the pathogenesis and treatment of metabolic disease: Focus on adipose tissue inflammation and insulin resistance. *Cytokine*. 2015. October; 75(2): 280–290. doi:10.1016/j.cyt.2015.05.005
- Silvia de Barros-Mazon S., D. M. Marin, C. P. de Carvalho, S. M. Alegre. Inflammatory and Metabolic Markers in Pre- and Post- Treatment of Obesity. *Anti-Obesity Drug Discovery and Development*. 2011; 1: 49–66 49. doi:10.2174/978160805163211101010049
- Apryatin S. A., Mzhel'skaya K. V., Trusov N. V., et al. Comparative characteristics of in vivo models of hyperlipidemia in Wistar rats and c57bl/6 mice. *Voprosy. pitaniya*. 2016; (6): 14–23. (in Russ.)  
Апратин С. А., Мжелская К. В., Трусов Н. В., Балакина А. С., Кулакова С. Н., Сото Х. С., Макаренко М. А., Ригер Н. А., Тутельян В. А. Сравнительная характеристика in vivo моделей гиперлипидемии у крыс линии Вистар и мышей линии c57bl/6. *Вопросы. питания*. 2016; (6): 14–23.
- Reshetnyak M. V., Hirmanov V. N., Zybina N. N., Frolova M. YU., Sakuta G. A., Kudryavcev B. N. Model of metabolic syndrome caused by fructose feeding: pathogenetic relationships of metabolic disorders. *Medicinskij akademicheskij zhurnal*. 2011;11(3):23–27. (in Russ.)  
Решетняк М. В., Хирманов В. Н., Зыбина Н. Н., Фролова М. Ю., Сакута Г. А., Кудрявцев Б. Н. Модель метаболического синдрома, вызванного кормлением фруктозой: патогенетические взаимосвязи обменных нарушений. *Медицинский академический журнал*. 2011;11(3):23–27
- Mai B. H., Yan L. J. The negative and detrimental effects of high fructose on the liver, with special reference to metabolic disorders. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2019 May 27;12:821–826. doi: 10.2147/DMSO.S198968
- Todoric J., Di Caro G., Karin M. Fructose stimulated de novo lipogenesis is promoted by inflammation. *Nature Metabolism*. 2020; (2):1034–1045. doi: 10.1038/s42255-020-0261-2
- Johnston T. P. The P-407-induced murine model of dose-controlled hyperlipidemia and atherosclerosis: a review of findings to date. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2004 Apr;43(4):595–606. doi: 10.1097/00005344-200404000-00016
- Wout Z. G., Pec E. A., Maggiore J. A., Williams R. H., Palicharla P., Johnston T. P. Poloxamer 407-mediated changes in plasma cholesterol and triglycerides following intraperitoneal injection to rats. *J. Parenter. Sci. Technol.* 1992;46(6):192–200. PMID: 1474430.
- Palmer W. K., Emeson E. E., Johnston T. P. Poloxamer 407-induced atherogenesis in the C57BL/6 mouse. *Atherosclerosis*. 1998 Jan;136(1):115–23. doi: 10.1016/s0021-9150(97)00193-7
- Leon C., et al. Acute P-407 administration to mice causes hypercholesterolemia by inducing cholesterolgenesis and down-regulating low-density lipoprotein receptor expression. *Pharm Res*. 2006;23(7):1597–1607. doi:10.1007/s11095-006-0276-8
- Loginova V. M., Tuzikov F. V., Tuzikova N. A., et al. Effect of poloxamer 407 on the fractional and subfractional composition of lipoproteins in the blood serum of mice. *Byulleten' SORAMN*. 2010;30(5):70–75. (in Russ.)  
Логинова В. М., Тузиков Ф. В., Тузикова Н. А., Филюшина Е. Е., Савченко Н. Г., Ясакова Н. Т., Гончарова И. А., Короленко Т. А. Влияние поллоксамера 407 на фракционный и субфракционный состав липопротеинов сыворотки крови мышей Бюллетень СОРАМН. 2010;30(5):70–75
- Aijala M., Malo E., Ukkola O., et al. Long-term fructose feeding changes the expression of leptin receptors and autophagy genes in the adipose tissue and liver of male rats: a possible link to elevated triglycerides. *Genes Nutr*. 2013;8(6):623–635. doi: 10.1007/s12263-013-0357-3
- Tajima R., Kimura T., Enomoto A., et al. No association between fruits or vegetables and non-alcoholic fatty liver disease in middle-aged men and women. *Nutrition*. 2019; 61: 119–124. doi: 10.1016/j.nut.2018.10.016
- Johnston T. P., Jaye M., Webb C. L., Krawiec J. A., Alom-Ruiz S. P., Sachs-Barrable K., Wasan K. M. Poloxamer 407 (P-407)-mediated reduction in the gene expression of ATP-binding-cassette transporter A1 may contribute to increased cholesterol in peripheral tissues of P-407-treated rats. *Eur. J. Pharmacol.* 2006;536(3):232–240. doi: 10.1016/j.ejphar.2006.03.019
- Sakar Y., Nazaret C., Letteron P., et al. Positive regulatory control loop between gut leptin and intestinal GLUT2/GLUT5 transporters links to hepatic metabolic functions in rodents. *PLoS One*. 2009; 4(11): e7935. doi: 10.1371/journal.pone.0007935
- Murdolo G., Smith U. The dysregulated adipose tissue: A connecting link between insulin resistance type 2 diabetes mellitus and atherosclerosis. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*. 2006; 16: 35–8. doi: 10.1016/j.numecd.2005.10.016
- Yao H., Fan C., Lu Y, Fan X., X.L., Li P, Wang R., Tang T., Wang Y., Qi K. Alteration of gut microbiota affects expression of adiponectin and resistin through modifying DNA methylation in high-fat diet-induced obese mice. *Genes & Nutrition*. 2020 Jun 26;15(1):12. doi: 10.1186/s12263-020-00671-3
- Nikolaeva T. N., Zorina V. V., Bondarenko V. M. Immunostimulating and anticarcinogenic activity of the normal intestinal lactoflora. *Exp Clin Gastroenterol*. 2004;(4):39–43, 109. Russian. PMID: 15568667.  
Николаева Т. Н., Зорина В. М., Бондаренко В. М. «Иммуностимулирующая и антиканцерогенная активность нормальной микрофлоры кишечника» *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2004;(2):39–43.

## К статье

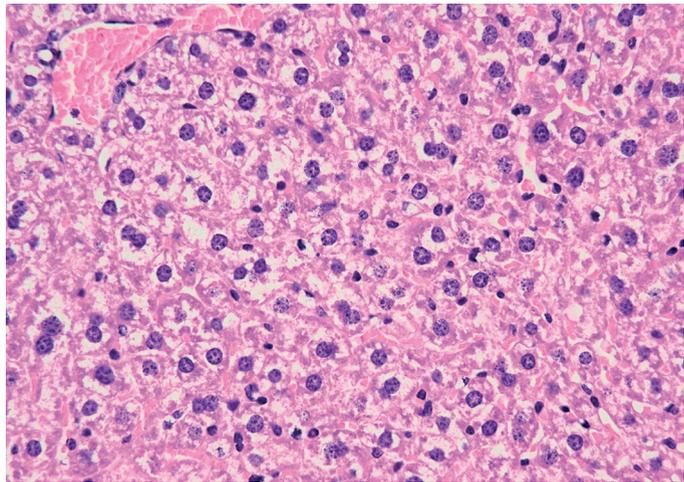
Сравнительная оценка состояния микробиоты кишечника, показателей липидного обмена и морфологических изменений печени на экспериментальных моделях метаболического синдрома (стр. 158–164)

## To article

Comparative assessment of the intestinal microbiota, lipid metabolism and morphological changes of the liver in experimental models of metabolic syndrome (p. 158–164)

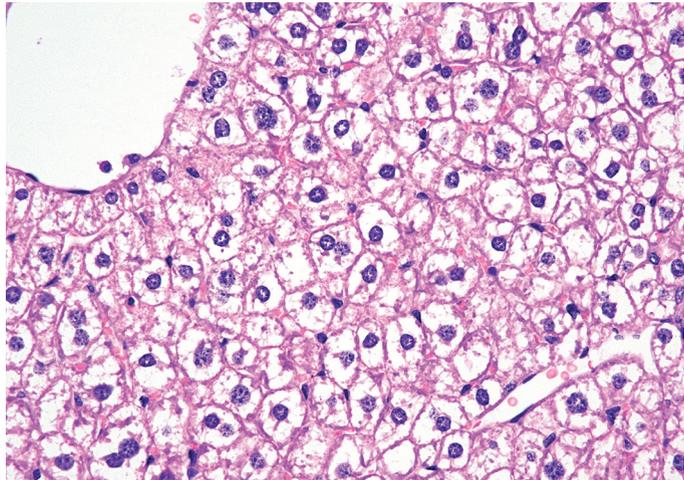
**Рисунок 1.** Морфологические изменения ткани печени в группе контроля (увелич. 1x40). Окраска гематоксилин-эозином

**Figure 1.** Morphological changes in liver tissue in the control group (magnification 1x40). 5 µm sections for liver tissues were deparaffinized and stained with haematoxylin/eosin.



**Рисунок 2.** Морфологические изменения ткани печени при выпаивании мышей 20% раствором фруктозы с добавлением в корм холестерина (увелич. 1x40). Окраска гематоксилин-эозином

**Figure 2.** Morphological changes in liver tissue of mice that were given 20% fructose solution with the addition of cholesterol to the feed (magnification 1x40)



**Рисунок 3.** Морфологические изменения ткани печени при внутрибрюшинном введении P407 (увелич. 1x40) Окраска гематоксилин-эозином.

**Figure 3.** Morphological changes in liver tissue of mice following intraperitoneal administration of P407 (magnification 1x40)

