



## Состояние микробиоты желудочно-кишечного тракта лабораторных животных с проявлениями метаболического дисбиоза в ходе применения экспериментального лекарственного средства

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

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

**Для цитирования:** Николаева Т. Н., Чекнёв С. Б., Кожевникова Т. Н., Вострова Е. И., Сосновская О. Ю., Сарычева М. А., Козлов В. В., Григорьева Е. А., Востров А. В., Санин А. В., Наровлянский А. Н., Пронин А. В. Состояние микробиоты желудочно-кишечного тракта лабораторных животных с проявлениями метаболического дисбиоза в ходе применения экспериментального лекарственного средства. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2023;217(9): 117–124. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-217-9-117-124

### ✉ Для переписки:

**Кожевникова  
Татьяна  
Николаевна**  
tatiana140663  
@gmail.com

**Николаева Татьяна Николаевна**, вед. н.с., д.м.н., зав. лаборатории естественного иммунитета  
**Чекнёв Сергей Борисович** д.м.н., зам.дир. по научной работе, зав. лаборатории межклеточных взаимодействий  
**Кожевникова Татьяна Николаевна**, к.м.н., н.с. лаборатории клеточного иммунитета  
**Вострова Елена Ивановна**, н.с. лаборатории межклеточных взаимодействий  
**Сосновская Ольга Юрьевна**, к.б.н., с.н.с., лаборатории клеточного иммунитета  
**Сарычева Мария Андреевна**, н.с. лаборатории межклеточных взаимодействий  
**Козлов Вячеслав Владимирович**, н.с. лаборатории естественного иммунитета  
**Григорьева Екатерина Анатольевна**, н.с.к.б.н. лаборатории естественного иммунитета  
**Востров Алексей Васильевич**, вед. инженер лаборатории межклеточных взаимодействий  
**Санин Александр Владимирович**, д.б.н., проф., зав. лаборатории клеточного иммунитета  
**Наровлянский Александр Наумович**, д.б.н., проф., зав. лаборатории цитокинов  
**Пронин Александр Васильевич**, зам. дир. по научной работе, д.б.н., профессор

## Резюме

**Цель работы** — оценка состояния микробиоты желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) мышей C57Bl/6 с проявлениями метаболического дисбиоза (МД), индуцированного потреблением фруктозы или введением полосамера 407 (Р 407), в условиях применения комбинации полипиренилфосфата натрия (ППФ) и бета-ситостерина (БСС).

**Материалы и методы.** Модель МД получали выпаиванием животных 20%-ным водным раствором фруктозы или внутрибрюшинным введением Р 407 производства Sigma (США) два раза в неделю в разовой дозе 500 мг/кг в течение 10 недель. Лечебное средство (ЛС – комбинация ППФ+БСС, 0,2 мл суспензии на мышь) вводили интрагастрально с помощью зонда. Количество жизнеспособных бактерий в получаемом биоматериале определяли методом прямого посева биоматериала на элективные и селективные питательные среды с последующим подсчётом выросших колоний.

**Результаты.** У мышей групп сравнения выявлены выраженные изменения состава микробиоты ЖКТ, трактуемые как проявления МД. Лечебное действие комбинации препаратов БСС и ППФ реализуется в достоверных сдвигах в сторону восстановления нормального состояния микробиоты ЖКТ.

**Заключение.** Комбинация препаратов БСС и ППФ эффективна в разработке подходов к коррекции состояния микробиоты ЖКТ, нарушаемого в патогенезе МД, рассматриваемого в качестве одного из первичных проявлений метаболического синдрома.

**Ключевые слова:** кишечная микробиота, метаболический дисбиоз, лечебное средство.

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

<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-217-9-117-124>

## Microbiota state of the gastro-intestinal tract of laboratory animals with signs of metabolic dysbiosis during treatment with experimental medical drug

T.N. Nikolaeva, S.B. Cheknev, T.N. Kozhevnikova, E.I. Vostrova, O.Yu. Sosnovskaya,

M.A. Sarycheva, V.V. Kozlov, E.A. Grigorieva, A.V. Vostrov, A.V. Sanin, A.N. Narovlyansky, A.V. Pronin

National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, (18, Gamaleya str., Moscow 123098, Russia)

**For citation:** T.N. Nikolaeva, S.B. Cheknev, T.N. Kozhevnikova, E.I. Vostrova, O.Yu. Sosnovskaya, M.A. Sarycheva, V.V. Kozlov, E.A. Grigorieva, A.V. Vostrov, A.V. Sanin, A.N. Narovlyansky, A.V. Pronin Microbiota state of the gastro-intestinal tract of laboratory animals with signs of metabolic dysbiosis during treatment with experimental medical drug. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2023;217(9): 117–124. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-217-9-117-124

✉ *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

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

**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

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

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

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

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

**Aleksandr N. Narovlyansky**, D. Sci (Biol), professor, Head Laboratory of Cytokines; ORCID: 0000-0003-0601-7148

**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

**Objective.** The work was performed with the purpose to study microbiota state of the gastro-intestinal tract (GIT) of C57Bl/6 mice with signs of metabolic dysbiosis (MD) induced with the use of fructose solution or with poloxamer 407 (P 407), during treatment with combination of sodium polyphosphat (PPP) and beta-sitosterol (BSS).

**Materials and Methods.** MD was induced in mice with drinking 20 per cent water fructose solution. MD was also induced in mice by intraperitoneal use of P 407 at the dose of 500 mg/kg two times per week during ten weeks. The mice of experimental groups received intragastrically combination of PPP and BSS preparations (0,2 ml of the suspension per mouse). Medical scheme consisted in use of preparations five times per week starting after one month from the first day of fructose drinking or of P 407 use and prolonging for one month else. The quantity of viable bacteria in the probes obtained was measured by the direct passage of the material tested on elective or selective nutritional media with following count of colonies grown.

**Results.** The drink of fructose solution or use of P 407 caused the changes of GIT microbiota state that confirmed development of signs of MD in mice. Treatment with PPP and BSS combination was shown to cause actual tendencies to restore the normal GIT microbiota state.

**Conclusion.** Combination of PPP and BSS preparations seemed to be efficient as a novel approach to correction of GIT microbiota state perturbed due to pathogenesis of MD considered as one of the primary signs of metabolic syndrome in mice.

**Keywords:** intestinal microbiota, metabolic dysbiosis, treatment

**Conflict of interests.** The authors declare no conflict of interest.

### Введение

В работах последнего времени всё большее внимание уделяют роли кишечной микробиоты в развитии метаболических расстройств [1–4], в формировании резистентности к инсулину (ИР) и хронического системного воспаления (ХСВ) как ведущих звеньев патогенеза метаболического синдрома (МС) [1, 5, 6].

Согласно современным представлениям, основную роль в поддержании нормального физиологического состояния микрофлоры желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) играют бактерии семейств *Lactobacillaceae* и *Bifidobacteriaceae*, не обладающие патогенными свойствами [7–9].

Установлено, что в кишечнике человека с избыточной массой тела и ожирением увеличивается количество условно патогенных микроорганизмов. Особого внимания заслуживают отдельные виды протеобактерий – *Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, стафилококков и энтерококков, в значительном количестве определяющиеся в условиях развития тех или иных проявлений МС [10].

Поскольку одним из важных факторов, способствующих развитию ожирения и метаболических расстройств, служит высококалорийная диета [1, 11], экспериментальные исследования у лабораторных животных, направленные на определение причин возникновения и прогрессирования МС, а также на поиск возможных методов профилактики и лечения заболевания, предполагают использование алиментарных моделей патогенеза [12]. Одна из принятых моделей основана на выпаивании животных на фоне потребления обычного корма водным раствором фруктозы. Высокое содержание в питье фруктозы повышает риск развития ИР, стеатоза печени, увеличивает содержание триглицеридов в крови и массу тела животных [13–15].

Учитывая значительную роль микробиоты ЖКТ в развитии проявлений МС, ведётся поиск средств, способных поддерживать и нормализовать количественный и качественный состав микрофлоры кишечника. В числе таких факторов рассматривают пробиотики [16], которые, однако, в ряде случаев оказываются неэффективными [17]. Часть пробиотических бактерий погибает

в кислой среде желудка, а достигшие просвета кишечника микроорганизмы не всегда могут быть способными к колонизации слизистой оболочки, нередко вступают в антагонизм с микробиотой хозяина и, поэтому, подлежат быстрой элиминации из организма [17].

В последнее время неуклонно возрастает интерес к соединениям, полученным из растительного сырья. Активно исследуются полипrenoлы – группа биологически активных веществ, содержащихся в хвое пихты и других растениях [18]. Они являются необходимым компонентом клеточных мембран животных, участвуют в процессах обмена белков и углеводов. Фосфорилированные полипrenoлы проявляют метаболическую активность, обладают противовоспалительным и иммуномодулирующим действием, проявляют антиоксидантные свойства [19, 20]. Изучают также бета-ситостерин (БСС) – растительный стерол, широко распространённый в природе. Как и другие фитостеролы, он обладает способностью снижать уровень холестерина, конкурентно блокируя его всасывание (что способствует профилактике атеросклероза), предотвращает развитие раковых клеток, оказывает антибактериальное, противовирусное и противогрибковое действие [21].

**Целью работы** явилась оценка состояния микробиоты ЖКТ лабораторных мышей с индуцированными потреблением фруктозы или введением полуксамера 407 (Р 407) проявлениями метаболического дисбиоза (МД) в условиях применения комбинации полипренилфосфата натрия (ППФ) и препарата БСС.

## Материалы и методы

Эксперименты выполнены на мышах линии С57Bl/6, самцах, массой 18–20 г, полученных из Центрального питомника лабораторных животных «Андреевка». Основные правила содержания и ухода соответствовали нормативным документам. Животных содержали при свободном доступе к воде и корму. Все процедуры по рутинному уходу за животными и манипуляции с ними выполнялись в соответствии с приказом Минздрава России № 199н от 1 апреля 2016 г. «Об утверждении Правил лабораторной практики».

Исследования проводили на моделях МС и гиперлипидемии (ГЛ).

Модель МС получали выпаиванием животных 20%-ным водным раствором фруктозы с добавлением в корм холестерина (0,5% на 100 г сухого корма) в течение 10 недель.

Модель ГЛ получали внутрибрюшинным введением мышам Р 407 производства Sigma (США) два раза в неделю в разовой дозе 500 мг/кг в течение 10 недель.

В качестве лекарственного средства (ЛС) использована новая оригинальная фармацевтическая композиция (комбинация полиизопреноидов) на основе ППФ и БСС в виде суспензии, в 10 мл которой содержится 80 мг ППФ и 100 мг БСС, разведённых в 30 г глицерина (из расчёта 10 мл 0,4% ППФ + 50 мг БСС).

Введение ЛС проводили в течение 2-х месяцев 5 раз в неделю, интрагастрально через зонд по 0,2 мл суспензии на мышь.

Суспензия была аликвотирована и хранилась при температуре –20°C.

Для изучения действия ЛС, исследуемого по схеме лечебного введения, были сформированы следующие группы мышей.

Группа 1. Контрольная группа – получала стандартный полусинтетический корм и воду *ad libitum*.

Группа 2. Животные получали в качестве питья 20%-ный водный раствор фруктозы с добавлением в корм холестерина (0,5% на 100 г сухого корма). Соответствует модели гипергликемии (МС).

Группа 3. Животные получали в качестве питья 20%-ный водный раствор фруктозы с добавлением в корм холестерина (0,5% на 100 г сухого корма), спустя 10 недель мышам в течение 2-х месяцев интрагастрально 5 раз в неделю вводили ЛС (ППФ+БСС).

Группа 4. Животным внутрибрюшинно вводили Р 407 производства Sigma (США) два раза в неделю в разовой дозе 500 мг/кг. Соответствует модели гиперлипидемии (ГЛ).

Группа 5. Животным внутрибрюшинно вводили Р 407 производства Sigma (США) два раза в неделю в разовой дозе 500 мг/кг. Спустя два месяца мыши интрагастрально в течение 2-х месяцев 5 раз в неделю получали ЛС (ППФ+БСС).

Каждая группа животных включала 5–8 мышей. Эксперименты проводили в двух-трёх повторях.

Исследовали материал сегмента 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 свежeweделенные фекалии лабораторных животных.

Количество жизнеспособных бактерий определяли методом прямого посева биоматериала (последовательные десятикратные разведения полученных суспензий) на элективные и селективные питательные среды и подсчёта выросших колоний по истечении сроков инкубирования от одних до семи суток в различных режимах термостатирования.

## Результаты

Исследование родовых, популяционных и количественных характеристик микробных популяций в биоматериале ЖКТ спустя 4 месяца выпаивания мышей 20%-ным раствором фруктозы с добавлением в корм холестерина (группа 2) выявило изменения биоценоза кишечника по сравнению с контрольной группой животных (группа 1, см. табл. 1).

В опытной группе 2 наблюдается увеличение количества Грам+ бактерий родов *Lactobacillus* и *Enterococcus*, *Staphylococcus spp.*, в том числе условно патогенных *Staphylococcus aureus*, грибов рода *Candida* ( $p < 0,05$ ). Отмечен рост числа неферментирующих *E. coli lac-* на фоне снижения облигатных представителей микробиоты ЖКТ *E. coli lac+* и представителей колиформ ( $p < 0,05$ ).

При введении лекарственного препарата (ППФ+БСС) мышам данной группы (группа 3) отмечен количественный рост представителей облигатной флоры кишечника – *Bifidobacterium* и ферментирующих *E. coli lac+* ( $p < 0,05$ ) на фоне снижения *E. coli lac-* ( $p < 0,05$ ), а также непатогенных *Staphylococcus epidermidis*. Выявлено количественное снижение бактерий *Enterococcus* семейства *Micrococcus*, относящихся к отряду *Firmicutes*

Для оценки популяционного и количественного состава микробиоты ЖКТ использовали следующие питательные среды и агары: Brilliance *E. coli*/Coliform Selection Medium, Eosin Methylene Blue Agar (Levine), MacConkey Agar, Rogosa Agar (все – OXOID, Англия), Blood Agar Base, *Streptococcus* Selection Agar, Mannitol Salt Agar Base (все – HiMedia, Индия), энтерококкагар, бифидум-среда, стафилококкагар (все – ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск, Россия). Количество бактерий в биоматериале пересчитывали на 1 г или на 1 мл и выражали в единицах lg(KOE/г) или lg(KOE/мл), соответственно.

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

( $p < 0,05$ ). Количественные показатели бактерий рода *Lactobacillus* и *Staphylococcus spp.*, в том числе *S. aureus*, грибов рода *Candida*, соответствуют таковым контрольной группы.

У животных, получавших для индукции ГЛ соединение Р 407 (группа 4 в табл. 1), по истечении четырёх месяцев наблюдения характерным является повышенное содержание *E. coli lac-* ( $p < 0,05$ ), Грам+ бактерий родов *Lactobacillus* и *Enterococcus*, *S. aureus*, грибов рода *Candida*. При этом выявлено снижение количества *S. epidermidis*, Грам- бактерий рода *Enterobacter*, облигатных представителей микробиоты ЖКТ *Bifidobacterium*.

Введение ЛС мышам данной группы (группа 5 в табл. 1) обуславливает коррекцию состояния микробиоты ЖКТ, что проявляется в нормализации качественных и количественных показателей облигатной, транзитной и условно патогенной флоры: Грам- (*E. coli lac+*, *Bifidobacterium*, бактерий рода *Enterobacter*) и Грам+ (*Lactobacillus*, *Enterococcus*, *S. epidermidis* и *S. aureus*) по сравнению с контрольной группой мышей (табл. 1).

При введении ЛС (ППФ+БСС) мышам данной группы отмечено снижение количества неферментирующих *E. coli lac-* ( $p < 0,05$ ), *Enterococcus* ( $p < 0,05$ ),

Таблица 1.

Примечание:

Микрофлора биоматериала фекалий мышей (lg(KOE/г),  $M \pm m$ ).

Группа 1 – контроль, группа 2 – выпаивание мышей 20%-ным раствором фруктозы с добавлением в корм холестерина, группа 3 – выпаивание мышей 20%-ным раствором фруктозы с добавлением в корм холестерина + ЛС, группа 4 – внутрибрюшинное введение Р 407, группа 5 – внутрибрюшинное введение Р 407 + ЛС.

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

Table 1.

Microflora of mouse fecal biomaterial (lg(CFU/g),  $M \pm m$ ).

| Бактерии                   | Группа 1  | Группа 2   | Группа 3   | Группа 4   | Группа 5   |
|----------------------------|-----------|------------|------------|------------|------------|
| <i>E. coli lac+</i>        | 5,55±0,05 | 4,88±0,04* | 6,01±0,05* | 4,08±0,01* | 4,74±0,22  |
| <i>E. coli lac-</i>        | 3,56±0,06 | 5,92±0,06* | 2,73±0,11* | 4,92±0,04* | 3,54±0,15* |
| <i>Bifidobacterium</i>     | 8,36±0,21 | 8,72±0,01  | 9,04±0,11* | 7,89±0,04* | 8,94±0,02  |
| <i>Lactobacterium</i>      | 7,96±0,02 | 8,16±0,04* | 7,80±0,06  | 8,25±0,04* | 8,59±0,15* |
| <i>Enterococcus</i>        | 7,46±0,06 | 7,88±0,01* | 6,91±0,07* | 7,97±0,03* | 6,94±0,01  |
| <i>Staphylococcus spp.</i> | 7,46±0,06 | 7,91±0,35  | 7,85±0,09  | 7,47±0,02  | 5,72±0,01* |
| <i>S. epidermidis</i>      | 6,39±0,02 | 6,68±0,01  | 7,57±0,03* | 5,19±0,01* | 6,11±0,12  |
| <i>S. aureus</i>           | 1,88±0,04 | 4,62±0,03* | 2,38±0,02  | 3,94±0,11* | 2,46±0,32  |
| Колиформы                  | 5,12±0,07 | 4,49±0,33* | 4,81±0,05  | 3,84±0,12* | 4,89±0,05  |
| <i>Candida</i>             | 3,36±0,02 | 4,58±0,04* | 3,76±0,07  | 4,98±0,02* | 6,25±0,02* |

Таблица 2.

Количество бактерий в содержимом дистального сегмента толстого кишечника мышей (lg(KOE/мл),  $M \pm m$ ).  
Группа 1 – контроль, группа 2 – выпаивание мышей 20%-ным раствором фруктозы с добавлением в корм холестерина, группа 3 – выпаивание мышей 20%-ным раствором фруктозы с добавлением в корм холестерина + ЛС, группа 4 – внутрибрюшинное введение Р 407, группа 5 – внутрибрюшинное введение Р 407 + ЛС.  
\* достоверные различия по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ).  
The number of bacteria in the contents of the distal segment of the large intestine of mice (lg(CFU/ml),  $M \pm m$ ).

Table 2.

| Бактерии             | Группа 1  | Группа 2   | Группа 3  | Группа 4   | Группа 5  |
|----------------------|-----------|------------|-----------|------------|-----------|
| Общее количество     | 6,79±0,23 | 6,63±0,08  | 6,67±0,26 | 6,82±0,18  | 6,78±0,14 |
| <i>Lactobacillus</i> | 5,56±0,23 | 6,02±0,62  | 6,87±0,23 | 5,31±0,2   | 6,68±0,26 |
| <i>E.coli lac+</i>   | 3,52±0,3  | 2,41±0,02* | 3,68±0,32 | 2,98±0,11  | 3,68±0,42 |
| <i>E.coli lac-</i>   | 2,69±0,33 | 3,31±0,23* | 0,52±0,35 | 3,01±0,31* | 1,92±0,23 |
| <i>Enterococcus</i>  | 5,86±0,25 | 6,51±0,19  | 5,66±0,19 | 6,57±0,17* | 4,92±0,31 |
| <i>S.epidermidis</i> | 4,42±0,28 | 3,51±0,29  | 4,43±0,11 | 2,59±0,19* | 3,74±0,38 |
| <i>S.aureus</i>      | 1,46±0,34 | 2,52±0,26* | 1,98±0,28 | 2,01±0,19  | 1,88±0,22 |
| <i>Candida</i>       | 3,35±0,37 | 5,53±0,07* | 4,58±0,23 | 4,47±0,26  | 5,37±0,21 |

*S. aureus* ( $p < 0,05$ ) по сравнению с группой животных, не получавших ЛС.  
В работе также определен популяционный и количественный состав микрофлоры в содержимом дистального сегмента толстого кишечника. Показано, что в группе животных с выпаиванием 20%-ным раствором фруктозы и добавлением в корм холестерина (группа 1) наблюдается снижение количества бактерий рода *Enterobacter*, *E. coli lac+*, *S. epidermidis* и нарастание числа неферментирующих *E. coli lac-*, Грам+ *Enterococcus* и условно патогенной флоры *S. aureus*, грибов рода *Candida* по сравнению с контрольной группой мышей (табл. 2).  
Как видно из представленных данных, введение животным ЛС приводит к нормализации качественного и количественного состава микробиоты по сравнению с контрольной группой мышей. Восстанавливаются представительство и количественный состав Грам+ и Грам- облигатной флоры, транзитной флоры и условно патогенных бактерий. Количественные показатели *E. coli lac+*, *E. coli lac-*, *Enterococcus*, *S. epidermidis* и *S. aureus* соответствуют наблюдаемым в контрольной группе животных (табл. 2).  
Изменения микробиотического пейзажа толстого кишечника мышей выявлены при моделировании ГЛ путём введения соединения Р 407 (группа

4), что сопровождается снижением числа бактерий *E. coli lac+* и *S. epidermidis*. Количество *Enterococcus*, неферментирующих *E. coli lac-*, условно патогенных *S. aureus*, грибов рода *Candida* превышает соответствующие показатели контрольной группы (табл. 2).  
На этом фоне введение ЛС обуславливает нормализацию состояния микробиоты толстого кишечника, в том числе восстанавливается количество облигатных бактерий *E. coli lac+* и рода *Lactobacillus*, при этом количество последних превышает показатели контрольной группы ( $p < 0,05$ ).  
Таким образом, результаты проведенных экспериментов свидетельствуют о развитии в патогенезе МС у экспериментальных животных дисбиоза ЖКТ, проявляющегося увеличением количества бактерий группы *Firmicutes* – Грам+ бактерий, участвующих в расщеплении углеводной пищи (*Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*), и снижением представительства облигатной Грам- флоры, необходимой для утилизации белковой и растительной пищи.  
Введение ЛС приводит к нормализации микробного пейзажа толстого кишечника мышей. Полученные данные свидетельствуют об эффективной реализации лечебной схемы применения исследуемого экспериментального ЛС.

Обсуждение

Поскольку современная клиническая практика не располагает эффективными средствами лечения проявлений МС, а метаболическая болезнь не всегда поддается терапии с точки зрения купирования ведущих нарушений гомеостаза, поиск и нахождение алгоритмов рационального воздействия, которые могли бы предотвращать реализацию основных и ведущих звеньев патогенеза заболевания, остаются в высокой степени востребованными в перспективе развития арсенала высокотехнологичных медицинских подходов [1, 8, 16].

Совокупность результатов, проведенных до настоящего времени многочисленных исследований не позволяет, однако, предложить практической медицине методологию лечения, на основе которой появлялась бы возможность ограничивать возникновение и углубление в динамике наблюдения метаболических расстройств, формирующих принятую клиническую картину болезни, стадийность и тяжесть процесса, развитие системных проявлений. Такая методология должна была бы определять принципиальные возможности контроля течения патологического процесса

и прогнозирования состояния организма больного на ближайшую и отдалённую перспективу.

Попытка подойти к коррекции метаболических нарушений через нормализацию состояния микробиоты организма человека, с которой, по мнению многих исследователей, в непосредственных причинно-следственных отношениях состоит вся нейроиммунноэндокринная регуляция метаболического гомеостаза, сигнальная трансдукция, поддерживающая баланс про- и противовоспалительных эффектов и влияний, основывается на результатах хорошо известных исследований, свидетельствующих о роли кишечной микробиоты в патогенезе метаболических расстройств, в формировании ИР и ХСВ как ведущих звеньев патогенеза МС [1, 5, 10].

В соответствии с полученными нами данными, изменённое состояние микрофлоры ЖКТ могло бы служить первичным диагностическим признаком возникновения и развития симптомокомплекса МС и веским аргументом в оценке эффективности или неэффективности используемых для лечения болезни лекарственных средств, поскольку обнаруженные нами в хронических опытах проявления МД регистрировались во времени раньше, нежели реализовались нарушения гомеостатической регуляции, обуславливающие выраженные изменения биохимических и иммунологических показателей.

Если бы логика авторов настоящего исследования оказалась верной, можно было бы обоснованно полагать, что овладение технологией восстановления нормального состава и функционирования кишечной микробиоты, в том числе – коррекции нарушенного в ходе развития первичных проявлений метаболических расстройств состояния микробиоценоза кишечника человека, служило бы принципиально значимым шагом к нахождению научных подходов к лечению проявлений МД, рассматриваемого в качестве одного из ключевых событий начальных этапов развития МС.

С целью разработки нового средства лечения МД, нормализации обменных процессов и купирования ХСВ авторами работы на экспериментальных

моделях у мышей впервые использованы производные полиизопреноидов – биорегуляторы растительного происхождения БСС и ППФ, представляющие собой естественные, ареактогенные, не проявляющие токсических свойств метаболиты, не обладающие способностью индуцировать в качестве антигенов нейтрализующие ответы организма, ранее не исследовавшиеся и не применявшиеся в плане коррекции состояния микробиоты ЖКТ [18–21].

Анализ полученных данных, отмеченные тенденции в динамике качественных и количественных показателей микробиоценоза ЖКТ вне всякого сомнения свидетельствуют о перспективности предпринимаемых попыток использования комбинации препаратов БСС и ППФ с целью восстановления нормального, физиологического состава и функционального состояния кишечной микробиоты, нарушаемого в инициальной фазе развития патогенетических проявлений МС.

Лечение проявлений МД вызывает изменения количества микроорганизмов в полученном биоматериале в сторону нормализации состояния микрофлоры кишечника лабораторных животных. Лечение МД применением исследованного в работе экспериментального ЛС обнаруживает ранее не известное и не описанное в научной периодике явление, связанное с результатами комбинирования препаратов БСС и ППФ. Оно состоит в образовании в условиях комбинирования известных составляющих нового комплексного соединения, которое оказывается, как показано выше, эффективным по воздействию на отдельные компоненты микробиоты. Описание этого комплекса требует специальных углублённых исследований и дальнейшего всестороннего изучения, поскольку возможности комбинирования растительных стеролов с производными полиизопреноидов даже в экспериментальном плане в более ранних работах не рассматривались, а полученные нами результаты, свидетельствующие о формировании комплекса с новыми свойствами, не вызывают сомнений.

## Заключение

Комбинирование препаратов растительного происхождения БСС и ППФ позволяет получить новое комплексное биологически активное соединение, перспективное в плане дальнейших исследований в качестве средства для коррекции состояния микробиоты ЖКТ, нарушаемого в патогенезе первичных проявлений МС.

### Благодарность

Авторы выражают признательность лаборанту-исследователю В.С. Бутаевой за помощь в оформлении перечня цитируемой литературы.

### Acknowledgements

The authors express their gratitude to the laboratory assistant-researcher V.S. Butaeva for her help in drawing up the list of references.

### Финансирование

Исследование выполнено в рамках Государственного задания Минздрава России. № 056–00093–22–00 «Разработка средства для лечения метаболического синдрома и коррекции нормофлоры на основе производных полиизопреноидов».

## Financing

This work was supported by the Ministry of Health of Russia, State task 056–00093–22–00 “Development of a drug based on polyisoprenoid derivatives for the treatment of metabolic syndrome and correction of normoflora”.

## Соответствие принципам этики

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, протокол № 3 от 18.03.2021.

## Compliance with the principles of ethics

The study was approved by the local ethics committee of the National Research Center of Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N. F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, Protocol No. 3 of 18.03.2021.

## Литература | References

1. Drapkina O. M., Korneeva O. N. Gut microbiota and obesity: Pathogenetic relationships and ways to normalize the intestinal microflora. *Terapevt. Arkhiv.* 2016; 88(9): 135–42. (in Russ.) doi: 10.17116/terarkh 2016889135–142.  
Драпкина О. М., Корнеева О. Н. Кишечная микробиота и ожирение. Патогенетические взаимосвязи и пути нормализации кишечной микрофлоры. *Терапевт. архив.* 2016; 88(9): 135–42. doi: 10.17116/terarkh 2016889135–142.
2. Kuznetsova E. E., Gorokhova V. G., Bogorodskaya S. L. The microbiota of intestine. The role in development of various pathologies. *Klin. Lab. Diagnostika.* 2016; 61(10): 723–6. (in Russ.) doi: 10.18821/0869–2084–2016–61–10–723–726.  
Кузнецова Э. Э., Горохова В. Г., Богородская С. Л. Микробиота кишечника. Роль в развитии различных патологий. *Клин. лаб. диагностика.* 2016; 61(10): 723–6. doi: 10.18821/0869–2084–2016–61–10–723–726.
3. Oynotkinova O. Sh., Nikonov E. L., Gioeva I. A. The role of microbiota in pathogenesis of dyslipidemia and associated metabolic disorders. *Evidence-Based Gastroenterology.* 2017; 6(2): 29–34. (in Russ.) doi: 10.17116/dokgastro 20176229–34.  
Ойноткинова О. Ш., Никонов Е. Л., Гюева И. А. Роль микробиоты кишечника в патогенезе дислипидемии и ассоциированных метаболических нарушений. *Доказат. гастроэнтерология.* 2017; 6(2): 29–34. doi: 10.17116/dokgastro 20176229–34.
4. Thursby E., Juge N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochem. J.* 2017; 474(11): 1823–36. doi: 10.1042/BCJ 20160510.
5. Grinevich V. N., Tkacheva O. N., Egshatyan L. V., Sas E. I., Efimov O. I. Contribution of the gut microbiota to the pathogenesis of insulin resistance. *Profilakt Meditsina.* 2015; 18(1): 54–8. (in Russ.) doi: 10.17116/profmed 201518154–58.  
Гриневич В. Б., Ткачёва О. Н., Егшатын Л. В., Сас Е. И., Ефимов О. И. Вклад кишечной микробиоты в патогенез инсулинорезистентности. *Профилактик. медицина.* 2015; 18(1): 54–8. doi: 10.17116/profmed 201518154–58.
6. Ussar S., Fujisaka S., Kahn C. R. Interaction between host genetics and gut microbiome in diabetes and metabolic syndrome. *Molec. Metabolism.* 2016; 5(9): 795–803. doi: 10.1016/j.molmet. 2016.07.004.
7. Bukharin O. V., Ivanova E. V., Perunova N. B., Chai-nikova I. N. The role of bifidobacteria in formation of human immune homeostasis. *Zh. Microbiol. (Moscow).* 2015; 6: 98–104. (in Russ.)  
Бухарин О. В., Иванова Е. В., Перунова Н. Б., Чайникова И. Н. Роль бифидобактерий в формировании иммунного гомеостаза человека. *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиологии.* 2015; 6: 98–104.
8. Kashukh Y. A., Ivashkin V. T. Probiotics, metabolism and the functional condition of cardio-vascular system. *Russ. J. Gastroenterol., Hepatol., Coloproctology.* 2016; 26(1): 8–14. (in Russ.) doi: 10.22416/1382–4376–2016–26–1–8–14.  
Кашух Е. Е., Ивашкин В. Т. Пробиотики, метаболизм и функциональное состояние сердечно-сосудистой системы. *Росс. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктологии.* 2016; 26(1): 8–14. doi: 10.22416/1382–4376–2016–26–1–8–14.
9. Mischke M., Plösch T. The gut microbiota and their metabolites: potential implications for the host epigenome. *Adv. Exp. Med. and Biology.* 2016; 902: 33–4. doi: 10.1007/978–3–319–31248–4\_3.
10. Kotrova A. D., Shishkin A. N., Semienova O. I., Slep-ykh L. A. The role of gut microbiota in the develop-ment of metabolic syndrome. *Experimental and Clinical Gastroenterology.* 2019; 172(12): 101–8. (in Russ.) doi: 10.31146/1682–8658-ecg-172–12–101–108.  
Котрова А. Д., Шишкин А. Н., Семёнова О. И., Слепых А. А. Роль кишечной микробиоты в развитии метаболического синдрома. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.* 2019; 172(12): 101–8. doi: 10.31146/1682–8658-ecg-172–12–101–108.
11. Brown K., Decoffe D., Molcan E., Gibson D. L. Diet-induced dysbiosis of the intestinal microbiota and the effects on immunity and disease. *Nutrients.* 2012; 4: 1095–119. doi: 10.3390/nu4081095.
12. Leshchenko D. V., Kostiuk N. V., Belyakova M. B., Egorova E. N., Miniaev M. V., Petrova M. B. Diet-induced animal models of metabolic syndrome. *Upper Volga Med. J.* 2015; 2: 34–9. (in Russ.)  
Лещенко Д. В., Костюк Н. В., Белякова М. Б., Егорова Е. Н., Миняев М. В., Петрова М. Б. Диетически индуцированные животные модели метаболического синдрома. *Верхневолжский медиц. журнал.* 2015; 14(2): 34–9.
13. Kavanagh K., Wylie A. T., Tucker K. L., Hamp T. J., Gharaibeh R. Z., Fodor A. A., Cullen J. M.. Dietary fructose induces endotoxemia and hepatic injury in calorically controlled primates. *Amer. J. Clin. Nutrition.* 2013; 98(2): 349–57. doi: 10.3945/ajcn.112.057331.
14. Mamikutty N., Thent Z. C., Sapri S. R., Sahrudin N. N., Mohd Yusof M. R., Haji Suhaimi F. The establishment of metabolic syndrome model by induction of fructose drinking water in male Wistar rats. *Biomed Res Int.* 2014; 2014:263897. doi: 10.1155/2014/263897.
15. Reshetnyak M. V., Khirmanov V. N., Zybyna N. N., Frolova M. Y., Sakuta G. A., Kudryavtsev B. N. Fructose-fed model of the metabolic syndrome: Pathogenetic relationships between metabolic disorders. *Med. Acad. J.* 2011; 11(3): 23–7. (in Russ.) doi: 10.17816/MAI 11323–27.

- Решетняк М. В., Хирманов В. Н., Зыбина Н. Н., Фролова М. Ю., Сакута Г. А., Кудрявцев В. Н. Модель метаболического синдрома, вызванного кормлением фруктозой: патогенетические взаимосвязи обменных нарушений. *Медиц. академ. журнал*. 2011; 11(3): 23–7. doi: 10.17816/MAI 11323–27.
16. Afineevskaya A. Yu., Mal'kov O. A., Govorukhina A. A. The role of intestinal microbiota in the pathogenesis of atherosclerosis and promising preventive measures. *Zh. Med. Biol. Issledovaniy*. 2020; 8(2): 184–93. (in Russ.) doi: 10.37482/2542–1298-Z009.  
Афинеевская А. Ю., Мальков О. А., Говорукина А. А. Роль кишечной микробиоты в патогенезе атеросклероза и перспективные меры профилактики. *Журн. медико-биол. исследований*. 2020; 8(2): 184–93. doi: 10.37482/2542–1298-Z009.
  17. Kaibysheva V. O., Nikonov E. L. Probiotics from the standpoint of evidence-based medicine. *Evidence-Based Gastroenterology*. 2019; 8(3): 45–54. (in Russ.) doi: 10.17116/dokgastro 2019803145.  
Кайбышева В. О., Никонов Е. Л. Пробиотики с позиции доказательной медицины. *Доказат. гастроэнтерология*. 2019; 8(3): 45–54. doi: 10.17116/dokgastro 2019803145.
  18. Tursunova N. V., Klinnikova M. G., Tornuev Y. V., Lushnikova E. L. Plant polyproenols as a prospective class of compounds stimulating the regenerative processes. *Modern Probl. Sci. Education*. 2019; 4: 141–52. (in Russ.) doi: 10.17513/spno.28977.
  - Турсунова Н. В., Клиникова М. Г., Торнueв Ю. В., Лушников Е. Л. Растительные полипроенолы как перспективный класс соединений, стимулирующих регенераторные процессы. *Соврем. пробл. науки и образования*. 2019; 4: 141–52. doi: 10.17513/spno.28977.
  19. Sanin A. V., Ganshina I. V., Sudiyna G. F. et al. Phosphorilated polyproenols – a novel class of compounds with anti-inflammatory and bronchial spasmolytic activity. *Infect. Immunity*. 2011; 1(4): 355–60. (in Russ.)  
Санин А. В., Ганшина И. В., Судына Г. Ф. и др. Фосфорилированные полипроенолы – новый класс соединений с противовоспалительной и бронхолитической активностью. *Инфекция и иммунитет*. 2011; 1(4): 355–360.
  20. Narovlyansky A. N., Pronin A. V., Sanin A. V. et al. Isoprenoids: Polyproenols and Polyproenyl Phosphates as Physiologically Important Metabolic Regulators. *Nova Science Publishers, Inc, NY, USA*, 2018. – 183 p.
  21. Khuchieva M. A., Perova N. V., Akhmedzhanov N. M. Plant sterols and stanols as dietary factors reducing hypercholesterolemia by inhibiting intestinal cholesterol absorption. *Cardiovasc. Ther. Prevention*. 2011; 10(6): 124–32. (in Russ.) doi: 10.15829/1728–8800–2011–6–124–132.  
Хучиева М. А., Перова Н. В., Ахмеджанов Н. М. Растительные стерины и станолы как пищевые факторы, снижающие гиперхолестеринемию путём ингибирования всасывания холестерина в кишечнике. *Кардиоваск. терапия и профилактика*. 2011; 10(6): 124–32. doi: 10.15829/1728–8800–2011–6–124–132.