



УДК 612.367 + 579.61

<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-239-7-182-191>

## Изменение моторики кишечника и микробиоты при коррекции экспериментального дисбиоза аутопробиотиками и пробиотиками

Алфёрова Л.С.<sup>1</sup>, Парицкая Е.Н.<sup>2</sup>, Захарова Л.Б.<sup>3</sup>, Новикова Н.С.<sup>1</sup>, Орлова В.В.<sup>1</sup>,  
Дучак А.Р.<sup>3</sup>, Котылева М.П.<sup>1</sup>, Пунченко О.Е.<sup>1,4</sup>, Ермоленко Е.И.<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт Экспериментальной Медицины»  
«Институт Экспериментальной Медицины», (ул. Академика Павлова, д. 126, г. Санкт-Петербург, 197022, Россия)

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования  
«Санкт-Петербургский государственный университет», (Университетская наб., д. 7/9, Санкт-Петербург, 199034, Россия)

<sup>3</sup> Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования  
«Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого» (Политехническая ул., д. 29, Санкт-Петербург, 195251, Россия)

<sup>4</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования  
«Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
(ул. Кирочная, 41, г. Санкт-Петербург, 191015, Россия)

**Для цитирования:** Алфёрова Л.С., Парицкая Е.Н., Захарова Л.Б., Новикова Н.С., Орлова В.В., Дучак А.Р., Котылева М.П., Пунченко О.Е., Ермоленко Е.И. Изменение моторики кишечника и микробиоты при коррекции экспериментального дисбиоза аутопробиотиками и пробиотиками. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2025;(7): 182–191 doi: 10.31146/1682-8658-ecg-239-7-182-191

✉ Для переписки:

**Ермоленко**

**Елена Игоревна**

ermolenko1

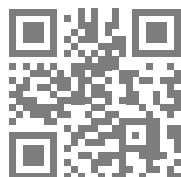
@yandex.ru

**Алфёрова Любовь Сергеевна**, младший научный сотрудник отдела молекулярной микробиологии, лаборант исследователь лаборатории молекулярной генетики патогенных микроорганизмов  
**Парицкая Елена Николаевна**, канд. биологических наук, доцент, зав. кафедрой физиологии  
**Захарова Лидия Борисовна**, канд. биологических наук, доцент, доцент кафедры физиологии  
**Новикова Надежда Сергеевна**, научный сотрудник лаборатории биомедицинской микроэкологии, отдел молекулярной микробиологии им. академика РАН А.А. Тотоляна  
**Орлова Виктория Валентиновна**, младший научный сотрудник лаборатории биомедицинской микроэкологии, отдел молекулярной микробиологии им. академика РАН А.А. Тотоляна  
**Дучак Алёна Романовна**,  
**Котылева Марина Петровна**, лаборант-исследователь лаборатории биомедицинской микроэкологии, отдел молекулярной микробиологии им. академика РАН А.А. Тотоляна  
**Пунченко Ольга Евгеньевна**, к.м.н., доцент, доцент кафедры медицинской микробиологии; старший научный сотрудник лаборатории биомедицинской микроэкологии, отдела молекулярной микробиологии им. академика РАН А.А. Тотоляна  
**Ермоленко Елена Игоревна**, д.м.н., доцент; зав. лабораторией биомедицинской микроэкологии, отдела молекулярной микробиологии им. академика РАН А.А. Тотоляна; профессор кафедры медицинской микробиологии

### Резюме

Изучено влияние пробиотических и аутопробиотических (индигенных непатогенных) эшерихий на моторику кишечника и микробиоту при экспериментальном дисбиозе кишечника у самцов крыс Вистар. Введение ампициллина и метронидазола приводило к снижению аппетита, потере веса и диарее. У животных с дисбиозом кишечника отмечалось снижение амплитуды сокращений стенки кишки и значений величины работы, совершаемой гладкими мышечными клетками кишечной стенки по сравнению с контрольной группой интактных животных (K2), сопровождающееся увеличением популяции клебсиелл и бактерий, относящихся к группе *Bacteroides fragilis*. Введение пробиотических и аутопробиотических эшерихий в отличие от контрольной группы K1, в которой коррекция дисбиоза не осуществлялась, приводило к уменьшению условно-патогенных бактерий и увеличению фекалибактерий (продуцентов бутирата). Изменение микробиоты способствовало восстановлению двигательной активности стенки дистального участка толстой кишки крысы. Применение аутопробиотических штаммов *E. coli* обладало более выраженным воздействием на моторику кишечника по сравнению с пробиотическим штаммом *E. coli* M-17. Механизмы воздействия аутопробиотиков и пробиотиков на основе эшерихий, возможно, частично связаны с действием бутиратов, однако являются предметом дальнейших исследований.

EDN: REXVIK



**Ключевые слова:** клебсиеллезный дисбиоз, амплитуды и частота сокращений стенки кишки, гладкие мышечные клетки, *Bacteroides fragilis* группа, *Faecalibacterium prausnitzii*.

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



## Study of changes in intestinal motility and microbiota during the correction of experimental dysbiosis by autoprobiotic and probiotic *Escherichia*

L.S. Alferova<sup>1</sup>, E.N. Pariyskaya<sup>2</sup>, L.B. Zakharova<sup>2</sup>, N.S. Novikova<sup>1</sup>, V.V. Orlova<sup>1</sup>, A.R. Duchak<sup>3</sup>, M.P. Kotyleva<sup>1</sup>, O.E. Punchenko<sup>1,4</sup>, E.I. Ermolenko<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Institute of Experimental Medicine, (12b, Akademika Pavlova str., Saint Petersburg, 197022, Russia)

<sup>2</sup> Saint Petersburg State University, (7–9, Universitetskaya Embankment, St Petersburg, 199034, Russia)

<sup>3</sup> Peter the Great Polytechnic University, (29, Politechnicheskaya St., St. Petersburg, 195251, Russia)

<sup>4</sup> North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, (41, Kirochnaya str., Saint Petersburg, 191015, Russia)

**For citation:** Alferova L.S., Pariyskaya E.N., Zakharova L.B., Novikova N.S., Orlova V.V., Duchak A.R., Kotyleva M.P., Punchenko O.E., Ermolenko E.I. Study of changes in intestinal motility and microbiota during the correction of experimental dysbiosis by autoprobiotic and probiotic *Escherichia*. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2025;(7): 182–191. (In Russ.) doi: 10.31146/1682-8658-ecg-239-7-182-191

✉ **Corresponding author:**

**Elena I. Ermolenko**  
ermolenko1  
@yandex.ru

**Lyubov S. Alfeyorova**, Junior Researcher of the Department of Molecular Microbiology, Research Assistant of the Laboratory of Molecular Genetics of Pathogenic Microorganisms; ORCID: 0000-0002-0052-0896, Researcher ID: HIZ-7731-2022, Scopus Author ID: 57413565600

**Elena N. Pariyskaya**, PhD in Biology, Associate Professor, Head of the Department of Physiology; ORCID: 0000-0001-9083-6749, Researcher ID: F-9536-2015, Scopus Author ID: 6504348607

**Lidiia B. Zakharova**, PhD in Biology, Associate Professor of the Department of Physiology; ORCID: 0000-0003-1057-4473, Researcher ID: G-6874-2015, Scopus Author ID: 5579-8390

**Nadezhda S. Novikova**, Researcher at the Laboratory of Biomedical Microecology, Department of Molecular Microbiology. Academician of the Russian Academy of Sciences A.A. Totolyan; ORCID: 0000-0002-0030-9548

**Victoria V. Orlova**, Junior Researcher at the Laboratory of Biomedical Microecology, Department of Molecular Microbiology. Academician of the Russian Academy of Sciences A.A. Totolyan

**Alyona R. Duchak**, . . . . . ORCID: 0009-0007-4299-5498, Researcher ID: OVZ-2448-2025

**Maryna P. Kotyleva**, Research assistant at the laboratory of biomedical microecology, department of Molecular Microbiology; ORCID: 0000-0003-1073-6508

**Olga E. Punchenko**, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor at the Department of Medical Microbiology; laboratory of biomedical microecology; ORCID: 0000-0002-1847-3231, Researcher ID: L-9448-2014, Scopus Author ID: 56657489900

**Elena I. Ermolenko**, Doctor of Medical Sciences, Head of Laboratory of Biomedical Microecology, Department of Molecular Microbiology named after Academician of the Russian Academy of Sciences A.A. Totolyan; Professor of the Department of Medical Microbiology; ORCID: 0000-0002-2569-6660, Researcher ID: E-1420-2014, Scopus author ID: 13004322500

### Summary

The effect of probiotic and autoprobiotic (indigenous non-pathogenic) *E. coli* on intestinal motility and microbiota in experimental intestinal dysbiosis in male Wistar rats was studied. The administration of ampicillin and metronidazole led to a decrease in appetite, weight loss, and diarrhea. In animals with intestinal dysbiosis, there was a decrease in the amplitude of intestinal wall contractions and the amount of work performed by the smooth muscle cells of the intestinal wall, compared to the control group of intact animals (K2), accompanied by an increase in the population of *Klebsiella* and *Bacteroides fragilis* group. In contrast to the control group K1, which did not receive any treatment for dysbiosis, the administration of probiotic and autoprobiotic *E. coli* resulted in a decrease in the number of opportunistic pathogens and an increase in the number of fecalibacteria (butyrate producers). Changes in the microbiota contributed to the restoration of motor activity in the distal colon of rats.

**Keywords:** *Klebsiella* dysbiosis, amplitudes and frequency of intestinal wall contractions, smooth muscle cells, *Bacteroides fragilis* group, *Faecalibacterium prausnitzii*

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

### Введение

Кишечная микробиота продуцирует большое количество сигнальных молекул, участвующих в регуляции моторики желудочно-кишечного тракта (ЖКТ).

Метаболиты кишечного микробиома: короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК), вторичные желчные кислоты, триптамин; нейроактивные молекулы:

серотонин (5-НТ), гамма-аминомасляная кислота (ГАМК), катехоламины (норадреналин, дофамин); газы: сероводород (H<sub>2</sub>S), метан (CH<sub>4</sub>), водород (H<sub>2</sub>) и бактериальные структурные компоненты (липолисахариды (ЛПС), пептидогликаны) функционируют как ключевые сигналы, модулирующие двигательную активность ЖКТ в норме и при патологии [1, 2].

Накоплено большое количество экспериментальных данных, о способности представителей кишечной микробиоты улучшать состояние энтеральной среды [3], препятствовать развитию атеросклероза, способствовать снижению веса [4] и уровня холестерина в крови [5].

Моторная функция ЖКТ обеспечивается скоординированной работой различных компонентов оси «Микробиота-Кишка-Мозг»: миогенным, энтеральным механизмами, центральной и вегетативной нервной системой, гормонами. Регуляция моторики – это результат сложной интеграции сигналов на уровне энтеральной нервной системы (ЭНС) («второго мозга»). Микробные метаболиты модулируют нейрональные цепи внутри ЭНС, которая, в свою очередь, координирует двигательную активность кишечника, находясь под контролем центральной нервной системы. Таким образом, микробиота влияет на моторику как напрямую (на гладкие мышцы), так и опосредованно (через ЭНС и ЦНС).

Пробиотики, являясь непатогенными живыми микроорганизмами, способны оказывать благоприятное воздействие на здоровье человека. Их введении в определенных количествах используются для лечения и профилактики заболеваний. Помимо положительных свойств, пробиотикотерапия характеризуется рядом нежелательных последствий. Использование пробиотиков имеет ограничения и недостатки, прежде всего связанные с их быстрым выведением из организма, отсутствием иммунологической толерантности, биологической совместимости с представителями микробиоты и низкой степенью адаптации к условиям существования в организме [6, 7, 8]. Эффект воздействия пробиотиков может быть непродолжительным, так как используемые промышленные

штаммы являются чужеродными агентами для экосистемы кишечника человека, что делает невозможным полностью воспроизвести их терапевтический потенциал из-за их транзитного нахождения в организме. В литературе имеются данные о наличии пробиотической токсичности и способности плохо изученных коммерческих пробиотических штаммов к бактериемии, особенно у лиц в состоянии иммунодефицита [9].

В качестве альтернативы пробиотикам, метабиотикам и пребиотикам предложена методика аутопробиотической терапии. Аутопробиотики – индигенные облигатные представители микробиоты организма (лактобациллы, энтерококки и др.), выделенные из организма человека и повторно введенные в него после накопления биомассы, имеют бесспорные преимущества. Длительная персистенция вследствие высокой адаптации к условиям существования в конкретном организме, наряду с антагонистической активностью к патогенным микроорганизмам, иммуномодулирующие свойства объясняют успехи, достигнутые при использовании аутопробиотиков в терапии синдрома раздраженного кишечника, болезни Паркинсона и коррекции дисбиоза, возникшего после антибиотикотерапии [10–15]. Основное отличие в технологии получения аутопробиотиков заключается в предварительной генетической характеристике индигенных штаммов. Это существенно повышает безопасность данной методики для пациента и носит персонализированный характер.

Можно предположить, что одной из причин положительного терапевтического эффекта при модуляции микробиома аутопробиотиками является изменение моторики стенки кишечника, которая способствует нормальному перемешиванию, продвижению его содержимого и формированию каловых масс.

**Цель данного исследования** – выявить возможные изменения сократительной активности стенки толстой кишки у крыс в условиях экспериментального дисбиоза при его коррекции с использованием аутопробиотических и пробиотических штаммов *Escherichia coli*.

## Материалы и методы

### Животные и их содержание

Исследование было проведено на 56 самцах крыс линии Wistar, не содержащих специфических патогенов (SPF), массой 150–250 г, в возрасте 6–7 недель, полученных из питомника разведения лабораторных животных «Рапполово», в полном соответствии с директивой Европейского Совета по соблюдению этических принципов в работе с лабораторными

животными (The European Council Directive (86/609/ЕЕС). Животных содержали в режиме фиксированного освещения, (12.00:12.00 ч свет/темнота). В клетке находилось не более 5 особей. Доступ к пище и воде – свободный. Температура поддерживалась в пределах 22–25 °С, а относительная влажность – 50–70%.

### Индукция дисбиоза кишечника

Индукцию дисбиоза проводили путем внутривентрального введения ампициллина и метронидазола [16, 17]. Для этого крысам в течение трех дней ежедневно однократно вводили 0,5 мл раствора антимикробных

препаратов в дистиллированной воде, содержащего 15 мг ампициллина (ОАО «Органика», Россия) и 10 мг метронидазола (ОАО «Ирбитский химико-фармацевтический завод», Россия).

**Таблица 1.**  
Характеристика групп животных.

Группа	1–3 день	4–8 день	Количество животных
К2	Дистиллированная вода + фосфатный буфер	Дистиллированная вода + фосфатный буфер	10
К1	Ампициллин + метронидазол	Фосфатный буфер	13
АЭ	Ампициллин + метронидазол	<i>Escherichia coli</i> (индигенные)	16
М-17	Ампициллин + метронидазол	<i>Escherichia coli</i> М-17	17

### Дизайн исследования

Животные были разделены на четыре группы, в трех из которых проводилась индукция дисбиоза с помощью antimicrobных препаратов (табл. 1).

Крысам из первой контрольной группы (К1) в течение первых трех дней вводили смесь antimicrobных препаратов в объеме 0,5 мл, затем в течение 5 дней – по 0,5 мл фосфатного буфера. Крысы из экспериментальной группы АЭ, после индукции дисбиоза получали индигенные непатогенные аутопробиотические штаммы *Escherichia coli* (0,5 мл суспензии, содержащей  $5,5 \times 10^8$  КОЕ/мл *E. coli* в фосфатном буфере, (ФБ)) в течение 5 дней.

Животным из группы М-17 в течение 5 дней после введения antimicrobных препаратов вводили 0,5 мл суспензии, содержащей  $5,5 \times 10^8$  КОЕ/мл *E. coli* М-17 растворенных в ФБ (8,00 г/л NaCl, 0,20 г/л KCl, 1,44 г/л Na2HPO4, 0,24 г/л KH2PO4, pH 7,4). Контрольные животные из группы К2 в течение трех дней ежедневно получали по 0,5 мл фосфатного буфера. Все введения препаратов осуществляли внутривентрикулярно при помощи специального металлического зонда. В первый, третий и восьмой дни эксперимента (рис. 1) у животных собирали пробы фекалий для исследования микробиоты при помощи бактериологического метода и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ).

### Исследование микробиоты

*Исследование бактериологическим методом*

Для этого 1г биологического материала (фекалии крыс) разводили в 1 мл ФБ и выполняли посев на селективные среды – агар Эндо-ГРМ (Оболенск, РФ), агар хромогенный для уropатогенных бактерий (CONDA Pronadisa, Испания), агар MRS (CONDA

Pronadisa, Испания), солевой агар с маннитом (CONDA Pronadisa, Испания), энтерококкагар (Оболенск, РФ). Учет колоний проводили через 24 часа, на среде МРС – через 48 часов.

### Полимеразная цепная реакция

Образцы кала сразу после сбора замораживали и хранили до анализа при температуре –80 °С. В день исследования образцы взвешивали и разбавляли 1:5 (вес/объем) в ФБ, гомогенизировали. Затем одну аликвоту этого разведения использовали для выделения ДНК. Выделение общей ДНК из образцов кала проводили с помощью набора QIAamp DNA stool Mini (Qiagen) в соответствии с инструкциями производителя. ДНК, полученную в образцах, измеряли с помощью

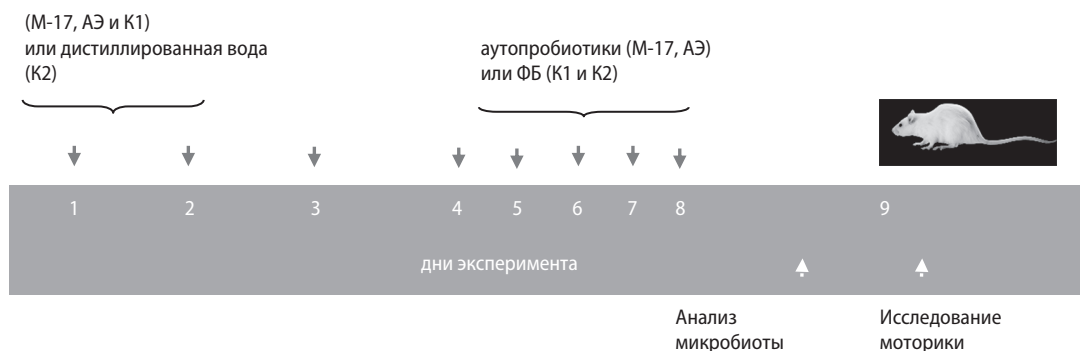
спектрофотометра ND-1000 на основе поглощения при 260 нм (NanoDrop, Wilmington, DE, США). Система «Колонофлор-премиум» для идентификации различных родов бактерий (ООО, АльфаЛаб, Санкт-Петербург, Россия) использовалась для характеристики основных групп бактерий кишечника с помощью количественной ПЦР в реальном времени. ПЦР-амплификация и детекция проводились с помощью аппарата Mini Opticon (MJMini, Biorad, Hercules, CA, США).

### Получение аутопробиотиков

Для выбора штаммов – кандидатов для приготовления аутопробиотической суспензии проводился предварительный бактериологический

посев образцов фекалий крыс из исследуемой группы на плотные питательные среды (агар Эндо-ГРМ, Оболенск, РФ). Далее проводился отбор

**Рисунок 1.**  
Схема эксперимента

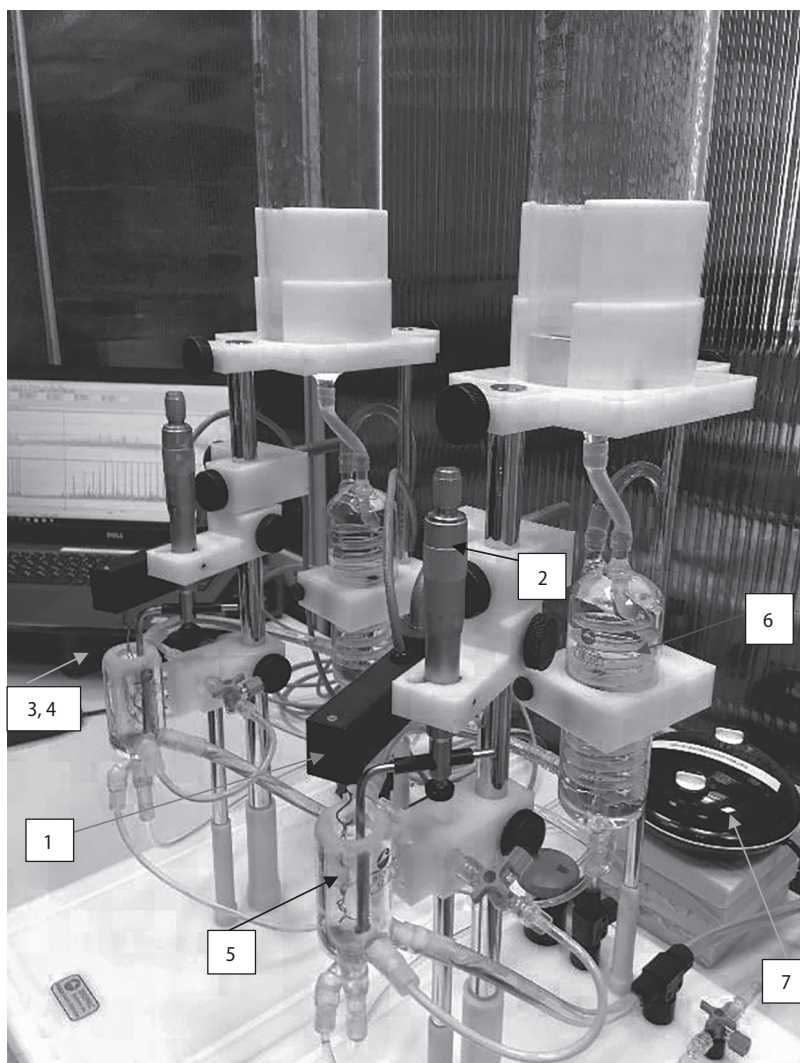


**Рисунок 2.**

Установка, использованная для регистрации амплитуды и частоты мышечных сокращений

**Примечание:**

1 – датчик силы,  
2- регулятор уровня нижнего крючка,  
3- усилитель,  
4- блок приема данных,  
5 – препарат одним концом крепится на нижний крючок, другим к датчику.  
6 – Система для обеспечения рабочего препарата физиологическим раствором,  
7- система аэрации физиологического раствора.



индивидуальных колоний *E. coli* для получения чистой культуры. Анализ на наличие генов патогенности проводили при помощи тест-системы ПЦР-РВ с набором «АмплиСенс Эшерихиозы» – набор реагентов для выявления и дифференциации ДНК различных групп диарогенных эшерихий (EPEC,

EPEC, EIEC, EHEC, EAHEC) в объектах окружающей среды и клиническом материале методом ПЦР с ГФЛ-детекцией.

Отобранные индивидуальные непатогенные штаммы эшерихий использовались для приготовления персонифицированной аутопробиотической суспензии.

### Определение сократительной активности

Сократительную активность изолированных сегментов дистального отдела толстой кишки крысы изучали в изометрических условиях с использованием 2-х канальной системы для поддержания жизнеспособности изолированных органов фирмы Biopac Systems, Inc. (США) (рис. 2). Препарат длиной 10 мм подвешивали вертикально в ванночке объемом 20 мл заполненной раствором Кребса – Хензелейта, следующего состава в миллимолях (мМ) (NaCl – 118,2; KCl – 4,7; NaHCO<sub>3</sub>–2,5; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>–1,2; MgSO<sub>4</sub>–0,9; CaCl<sub>2</sub>–0,2; глюкоза –11,1) при натяжении

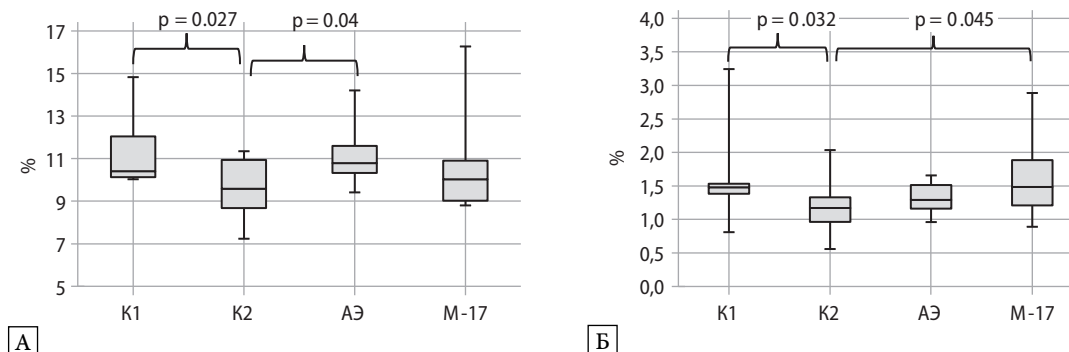
мышцы в 0,5 г в течение ~1 часа до получения стабильных сокращений. Регистрация и последующий анализ параметров сокращения препарата проводилась с помощью программы AcqKnowledge 4.1. (Biopac Systems, Inc., США). Анализировали амплитуду, частоту фазных сокращений стенки дистального отдела толстой кишки, работу гладких мышечных клеток (ГМК) стенки толстой кишки, тоническое напряжение сегментов толстой кишки. Работу мышцы рассчитывали, как площадь под кривой миограммы толстой кишки за 6 минут.

### Статистические методы

Результаты исследования представлены в виде бокс-плотов с отображением медианы и межквартильного размаха (МКР) – значения 25-го и 75-го процентилей. Наличие статистически значимых различий между группами определяли

с использованием непараметрического U-критерия Манна-Уитни, скорректированного для множественных сравнений по методу Бенджамини-Хохберга, различия при  $p < 0,05$  считались значимыми.

**Рисунок 3.** Соотношение массы желудочно-кишечного комплекса (А) и толстой кишки (Б) к массе тела животных различных групп (9 день исследования).



## Результаты исследования и обсуждение

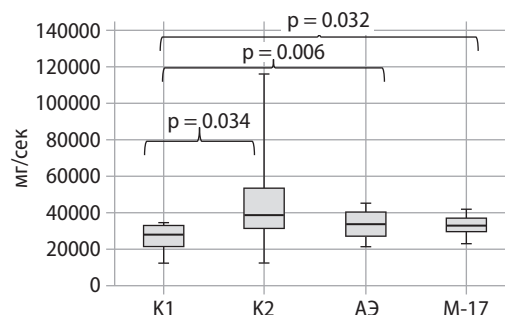
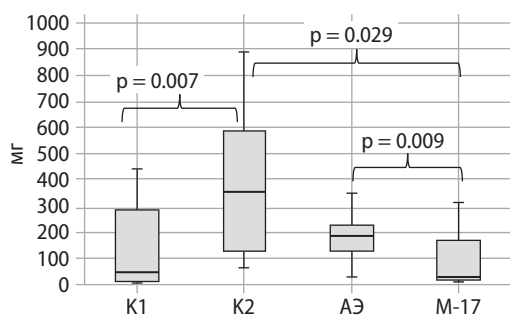
### Оценка клинических проявлений дисбиоза и моторики

Дисбиоз кишечника у крыс с 3 по 6 дни наблюдений в группе K1 характеризовался следующими клиническими симптомами: снижением аппетита, потерей веса, диареей или запорами. Однако к 8-му дню эксперимента указанные изменения нивелировались практически у всех животных. Показано, что на 9 день исследований при некропсии и взвешивании органов у большинства животных из групп, подвергшихся воздействию антимикробных препаратов (группы K1, M-17 и AЭ), желудочно-кишечный комплекс в целом и толстый кишечник, в частности имели большую массу (рис. 3). Исключение составили соотношение массы тела к массе желудочно-кишечного комплекса и массе толстой кишки в группах M-17 и AЭ, соответственно. В этих группах указанные параметры не отличались от контрольной группы K2 (интактные животные).

В то же время были выявлены различия в моторике кишечника. Изолированный препарат дистального отдела толстой кишки крысы проявлял

спонтанную активность, при анализе которой были охарактеризованы такие параметры как: частота, амплитуда и работа мышц. Полученные в ходе эксперимента данные представлены на рис. 4–6.

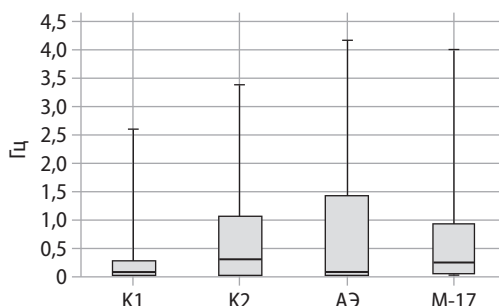
Из приведенных данных видно, что у животных с дисбиозом кишечника (группа K1) величины амплитуды сокращений стенки кишки и значения для работы, совершаемой ГМК кишечной стенки, достоверно ниже, чем в группе, в которой индукция дисбиоза не проводилась (группа K2). В группах, где коррекция дисбиоза проводилась пробиотиками и аутопробиотиками, достоверного различия в величинах амплитуды сокращений стенки кишки не выявлено. Однако, следует отметить, что у животных, получавших аутопробиотические штаммы *E.coli* увеличение значений амплитуды сокращений ГМК стенки кишки более выражено по сравнению с крысами, получавшими промышленный штамм *E.coli* M-17. Прием пробиотических штаммов и индигенных *E.coli* способствуют тому, что работа, совершаемая гладкой



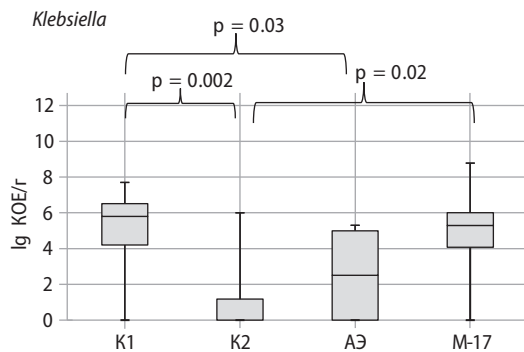
**Рисунок 4.** Амплитуда фазных сокращений стенки дистального отдела прямой кишки у животных различных групп (9 день исследования).

**Рисунок 5.** Работа, проделанная гладкомышечными клетками стенки дистального отдела прямой кишки при сокращении у животных различных групп (9 день исследования).

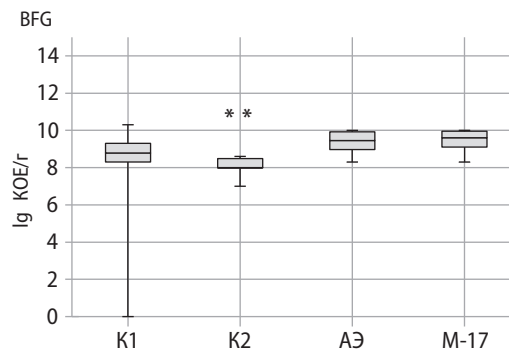
**Рисунок 6.** Частота фазных сокращений стенки дистального отдела прямой кишки у животных различных групп (9 день исследования).



**Рисунок 7.** Количественное содержание клебсиелл в фекальных пробах крыс различных групп на 9 день эксперимента (бактериальный посев).



**Рисунок 8.** Количественное содержание *Bacteroides* spp. (*Bacteroides fragilis* group, BFG) в фекальных пробах крыс различных групп на 9 день эксперимента.



**Примечание:** \*\*  $p < 0,05$  при сравнении со всеми остальными группами.

мышцей, достоверно увеличивается. Можно отметить наличие тенденции к более выраженному воздействию аутопробиотической *E.coli* на работу мышцы по сравнению с *E.coli* M-17. Достоверных изменений частоты фазных сокращений стенки кишки между исследуемыми группами не выявлено, однако в группе K1 она имеет тенденцию к уменьшению.

Моторная функция ЖКТ обеспечивается скоординированной работой различных компонентов: миогенным, энтеральным механизмами, центральной и вегетативной нервной системой, гормонами. В исследуемых нами образцах участка кишки была сохранена ЭНС, которая представлена

подслизистым и межмышечным ганглиозными сплетениями. Межмышечное сплетение располагается между продольными и циркулярными мышцами кишечника и участвует в регуляции двигательной функции кишки. Подслизистые нервные образования контролируют секреторную функцию ЖКТ. ЭНС функционирует автономно, но находится под постоянным контролем со стороны центральной и вегетативной нервной системы. Известно, что метаболиты микробиоты влияют на перистальтику кишечника, целостность кишечного барьера, местные иммунные реакции и нервную регуляцию функций желудочно-кишечного тракта [6, 7].

### Состав микробиоты кишечника на 9 день исследования

При анализе бактериологических посевов было выявлено, что на фоне кишечного дисбиоза количественное содержание клебсиелл остается существенно большим нормы (менее 5 lg KOE/g) в группах K1, M-17. В группе AЭ содержание клебсиелл не отличается от контроля K2 (рис. 7).

Исследование фекальных проб в ПЦР-РВ выявило увеличение бактерий группы *Bacteroides fragilis* (BFG) у всех животных по сравнению с группой K2 (рис. 8). В настоящее время группа *Bacteroides fragilis* включает в себя два семейства (*Bacteroidaceae* и *Tannerellaceae*) с несколькими родами и примерно 20 различными видами. Следует отметить, что виды *Bacteroides*, *Parabacteroides* и *Phocaeicola* являются наиболее распространенными при анаэробных инфекциях человека. Клинически значимые виды включают *B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron*, *Parabacteroides distasonis*, *Phocaeicola vulgatus* (основной вид – *Bacteroides vulgatus*), *B. ovatus* и *B. uniformis*. Хотя виды BFG являются ключевыми обитателями здорового микробиома кишечника и оказывают различные полезные эффекты, их также часто изолируют при анаэробных инфекциях, что усиливает их роль как истинных патобионтов [18]. Увеличение популяции BFG свидетельствует о наличии дисбиотических сдвигов, которые проявляются не только в популяции клебсиелл, но и во всем микробиоценозе кишечника.

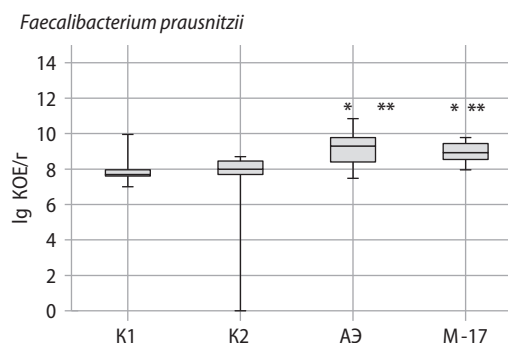
Изменения в составе микробиоты прямо или опосредованно влияют на нейроны подслизистого и межмышечного сплетений энтеральной нервной системы, функцию и морфологию миоцитов (в том числе пейсмейкерного пула), изменяя пороги их возбудимости. Продукты, секретируемые бактериями,

могут также влиять на метаболические процессы или активировать/ингибировать рецепторы ГМК [19]. Таким образом, можно предположить, что измененная микробиота кишечника при моделировании экспериментального дисбиоза влечет за собой и изменения в сократительной активности стенки кишечника.

В результате микробной ферментации полисахаридов в толстом кишечнике образуются короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК), оказывающие важное значение в поддержании здоровья желудочно-кишечного тракта (обеспечивают регенерацию кишечного эпителия, нормальную моторную и барьерную функцию кишечника, регуляцию иммунных реакций, метаболических процессов в организме). Основными представителями КЦЖК являются ацетат, бутират и пропионат. Бутират (масляная кислота) является основным источником энергии для колоноцитов кишечника. Проникая в цитоплазму, ингибируя репликацию ДНК она подавляет системы транспорта питательных веществ бактерий, оказывая антибактериальное действие, снижает системное воспаление, активирует механизмы апоптоза в раковых клетках [20]. Масляная кислота проявляет противораковое и противовоспалительное действие, влияет на аппетит, предупреждает развитие окислительного стресса [21, 22, 23]. Пропионат способствует снижению липогенеза, уровня холестерина и снижению риска онкологических заболеваний. Ацетат влияет на метаболизм хозяина, стимулируя выработку гормонов кишечника, таких как глюкагоноподобный пептид [24]. Также доказана корреляционная связь между дефицитом низкомолекулярных кислот и частотой развития и обострения заболеваний

**Рисунок 9.** Количественное содержание *Faecalibacterium prausnitzii* в фекальных пробах крыс различных групп на 9 день эксперимента (ПЦР-РВ).

**Примечание:** \*  $p < 0,05$  при сравнении с группой К2,  
\*\*  $p < 0,05$  при сравнении со всеми остальными группами.



толстой кишки (язвенный колит, злокачественные новообразования).

В группе К1 масса слепой кишки была больше, чем у интактных крыс (группа К2) и животных из групп, получавших аутопробиотические энтерококки. Исследованная (при помощи установки для работы с изолированными органами) амплитуда спонтанных изометрических сокращений сегмента colon крыс из группы К1 была меньше, чем у остальных животных, но полностью восстанавливалась в группе АЭ. Прямое воздействие масляной кислоты на сегмент colon приводило к изменениям, характерным для действия *E. faecium* L-3 *in vivo*. Более быстрое восстановление моторики кишечника в группе АЭ, коррелировало с увеличением количества продуцирующих бутират фекалий бактерий в составе кишечного микробиоценоза (рис. 9). Ранее аутопробиотические энтерококки были менее эффективными, чем пробиотические.

В ЭНС короткоцепочечные жирные кислоты могут регулировать выживаемость энтеральных нейронов и стимулировать нейрогенез, но конкретный механизм этого процесса не ясен [25]. Различные механизмы нарушения пролиферации нервных клеток, вызванные низкой и высокой концентрацией бутирата, могут объяснить противоречие: с одной стороны, количество бактерий, вырабатывающих бутират в кишечнике, положительно коррелирует с частотой дефекаций; с другой стороны, уровень бутирата в сыворотке крови отрицательно коррелирует с частотой дефекации. Мы предполагаем, что при уменьшении количества бактерий, вырабатывающих масляную кислоту, в кишечнике снижается метаболизм бутирата, что препятствует пролиферации нервных клеток кишечника и замедляет перистальтику. Это может быть одной из причин возникновения и начального развития функциональной кишечной недостаточности. Когда из-за снижения потребления бутирата в кишечнике возникает запор, его концентрация увеличивается и подавляет пролиферацию нервных клеток, что приводит к постоянному нарушению функции кишечника, а всасывание бутирата в кровь соответственно увеличивается. Уменьшение количества бактерий, вырабатывающих масляную кислоту, в кишечнике может привести к дисплазии нервных клеток кишечника и недостаточному энергоснабжению клеток кишечника, что, в свою очередь, приводит

к снижению частоты дефекации и повышению риска возникновения запоров [26].

Терапия пробиотиком и аутопробиотиком способствует восстановлению двигательной активности стенки дистального участка толстой кишки крысы. Применение аутопробиотического штамма *E. coli* обладает более выраженным воздействием на моторику кишечника по сравнению с пробиотическим штаммом *E. coli* М-17. Пробиотический штамм *E. coli* М-17 в нашем исследовании показал менее выраженный эффект по сравнению с аутопробиотиком. Он, вероятно, не смог интегрироваться в микробное сообщество хозяина и обеспечить устойчивое восстановление функции, а лишь временно занял экологическую нишу. Более выраженный эффект аутопробиотика можно объяснить его способностью более точно и устойчиво восстанавливать именно тот спектр сигнальных молекул, к которому адаптирован организм хозяина. В отличие от пробиотического штамма, аутопробиотик может эффективнее восстанавливать продукцию не только КЦЖК, но и других ключевых сигналов (например, специфических желчных кислот или триптамина), комплексно влияя на моторику. Традиционные пробиотики и даже трансплантация фекальной микробиоты (ТФМ) от универсальных доноров демонстрируют высокую вариабельность эффективности у разных пациентов. Это связано с уникальностью микробного «отпечатка» каждого человека, на который влияют генетика, диета, образ жизни и история воздействия антибиотиков. Выделение собственных полезных бактерий пациента, их масштабирование *in vitro* и возвращение обратно – такой подход минимизирует риски отторжения и обеспечивает долгосрочную персистенцию. Аутологичные штаммы минимизируют риски отторжения и обеспечивают лучшую персистенцию, что напрямую объясняет, почему аутопробиотические бактерии могут проявлять более выраженный эффект на моторику по сравнению с коммерческим штаммом.

Исследование вносит вклад в развитие одного из перспективных направлений персонализированной медицины – коррекции дисбиоза путем введения аутопробиотиков. В данной работе были использованы аутопробиотические эшерихии, которые также, как лактобациллы и непатогенные энтерококки, являются облигатными представителями микробиоты кишечника.

## Литература | References

- Ma T., Shen X., Shi X. et al. Targeting gut microbiota and metabolism as the major probiotic mechanism – An evidence-based review. *Trends in Food Science & Technology*. 2023. doi: 10.1016/j.tifs.2023.06.013.
- Frese S.A., Hutkins R.W., Walter J. Comparison of the colonization ability of autochthonous and allochthonous strains of lactobacilli in the human gastrointestinal tract. *Advances in Microbiology*. 2012; 2 (03): 399. doi: 10.4236/aim.2012.23051.
- Jones M.L., Tomaro-Duchesneau C., Martoni C.J., Prakash S. Cholesterol lowering with bile salt hydrolase-active probiotic bacteria, mechanism of action, clinical evidence, and future direction for heart health applications/ *Expert opinion on biological therapy*. 2013; 13(5): 631–642. doi: 10.1517/14712598.2013.758706.
- Gareau M.G., Sherman P.M., Walker W.A. Probiotics and the gut microbiota in intestinal health and disease. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2010; 7(9): 503–514. doi: 10.1038/nrgastro.2010.117.
- Ermolenko E.I., Erofeev N.P., Zakharova L.B. et al. Features of the composition of intestinal microbiota and motility after correction of experimental dysbiosis with probiotic and autoprobiotic enterococci. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2017; 7(143). (In Russ.)  
Ермоленко Е.И., Ерофеев Н.П., Захарова Л.Б., Парийская Е.Н., Котылева М.П., Крамская Т.А., Карасева А.Б., Суворов А.Н. Особенности состава микробиоты и моторики кишечника после коррекции экспериментального дисбиоза пробиотическими и аутопробиотическими энтерококками. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2017; 7(143).
- Ermolenko E.I. Lactic acid bacteria. 2011. LAP Lambert Academic Publishing GmbH & Co. KG. 283 P. (In Russ.)
- Ермоленко Е.И. Молочнокислые бактерии. 2011 LAP Lambert Academic Publishing GmbH & Co. KG. 283 с.
- Baryshnikova N., Ermolenko E., Svarval A. et al. Enterococcus faecium L-3 in eradication of *Helicobacter pylori*: in-vivo and in-vitro. *International Journal of Clinical & Medical Microbiology*. 2017; 2:123–127. doi: 10.15344/2456–4028/2017/123.
- Suvorov A.N., Simanenkov V.I., Sundukova Z.R. et al. Method for producing an autoprobiotic based on Enterococcus faecium, a representative of the indigenous microflora of the host intestine. Patent for invention RUS 2460778, December 30, 2010. (In Russ.)  
Суворов А.Н., Симаненков В.И., Сундукова З.Р. и др. Способ получения аутопробиотика на основе Enterococcus faecium, представителя индигенной микрофлоры кишечника хозяина. Патент на изобретение RUS 2460778 30.12.2010.
- Ermolenko E.I., Zhdan-Pushkina S. Kh., Suvorov A.N. Interaction of *Candida albicans* and *Lactobacillus plantarum* in vitro. *Problems of Medical Mycology*. 2004; 6(2): 49–54. (In Russ.)  
Ермоленко Е.И., Ждан-Пушкина С.Х., Суворов А.Н. Взаимодействие *Candida albicans* и *Lactobacillus plantarum* in vitro. *Проблемы медицинской микологии*. 2004; 6(2): 49–54.
- Kapustina V.V., Zakharova L.B., Pariyskaya E.N. et al. Effect of probiotics on the microbiota and morphofunctional characteristics of the intestine in experimental dysbiosis. *Problems of Medical Mycology*. 2020; 22 (3): 83. (In Russ.)  
Капустина В.В., Захарова Л.Б., Парийская Е.Н. и др. Влияние пробиотиков на микробиоту и морфофункциональные характеристики кишечника при экспериментальном дисбиозе. *Проблемы медицинской микологии*. 2020; 22 (3): 83.
- Milyukhina I.V., Ermolenko E.I., Ivanova A.S., Suvorov A.N. The role of the gastrointestinal tract microbiota in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Neurological journal*. 2017; 22(6): 280–286. (In Russ.)  
Милюхина И.В., Ермоленко Е.И., Иванова А.С., Суворов А.Н. Роль микробиоты желудочно-кишечного тракта в патогенезе болезни Паркинсона. *Неврологический журнал*. 2017; 22(6): 280–286.
- Simanenkov V.I., Suvorov A.N., Solovieva O.I. et al. A method for producing a personalized autoprobiotic product and a method for treating irritable bowel syndrome using this product. Patent for invention RUS 2546253, April 25, 2013 (In Russ.)  
Симаненков В.И., Суворов А.Н., Соловьева О.И. и др. Способ получения персонализированного аутопробиотического продукта и способ лечения синдрома раздраженной кишки с использованием этого продукта. Патент на изобретение RUS 2546253 25.04.2013.
- Suvorov A.N., Ermolenko E.I., Kotyleva M.P., Tsapiyeva A.N. Application No. 2018 147697 dated December 28, 2018 (536 according to the IEM register): Method for preparing an autoprobiotic based on an anaerobic bacterial consortium. Positive decision on issuing a patent dated June 23, 2020. (In Russ.)  
Суворов А.Н., Ермоленко Е.И., Котылева М.П., Цапиева А.Н. Заявка № 2018 147697 от 28.12.2018 (536 по реестру ИЭМ): Способ приготовления аутопробиотика на основе анаэробного консорциума бактерий. Положительное решение о выдаче патента от 23.06.2020.
- Fukuda S., Ohno H. Gut microbiome and metabolic diseases. *Seminars in immunopathology. Berlin/Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg*. 2014; 36 (1): 103–114. doi: 10.1007/s00281–013–0399-z.
- Ermolenko E.I., Donets V.N., Dmitrieva Y.V. et al. Influence of probiotic enterococci on functional characteristics of rat bowel under dysbiosis induced by antibiotics. *Bulletin of St. Petersburg State University*. 2009; 1: 157–167.
- Tarasova E., Ermolenko E., Donets V. et al. The influence of probiotic Enterococcus faecium strain L5 on the microbiota and cytokines expression in rats with dysbiosis induced by antibiotics. *Beneficial microbes*. 2010; 1(3): 265–270.
- Jean S., Wallace M.J., Dantas G. et al. Burnham CD. Time for Some Group Therapy: Update on Identification, Antimicrobial Resistance, Taxonomy, and Clinical Significance of the Bacteroides fragilis Group. *J Clin Microbiol*. 2022; 60: e0236120. doi: 10.1128/jcm.02361–20.
- Suvorov A., Karaseva A., Kotyleva M. et al. Autoprobiotics as an approach for restoration of personalised microbiota. *Frontiers in microbiology*. 2018; 9: 1869. https:// doi.org/10.3389/fmicb.2018.01869.
- Teplova A.S., Demidova T. Yu., Korotkova T.N. Butyric acid and its prospects in obesity management. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2023; 10(218): 88–94. (In Russ.) doi: 10.31146/1682–8658-ecg-218–10–88–94.  
Теплова А.С., Демидова Т.Ю., Короткова Т.Н. Масляная кислота и её перспективы в управлении ожирением. *Экспериментальная и клиниче-*

- ская гастроэнтерология. 2023; 10(218): 88–94. doi: 10.31146/1682-8658-ecg-218-10-88-94.
21. Erofeev N.P., Seliverstov P.V., Radchenko V.G. Clinical physiology of the colon. Mechanisms of action of short-chain fatty acids in normal and pathological conditions. Moscow. «4TE ART» LLC. 2012. (In Russ.)  
Ерофеев Н.П., Селиверстов П.В., Радченко В.Г. Клиническая физиология толстой кишки. Механизмы действия короткоцепочечных жирных кислот в норме и при патологии. М.: ООО «4ТЕ АРТ», 2012. 56 с.
  22. Ermolenko E.I., Zakharova L.B., Pariyskaya E.N. Potential influence of endotoxin and butyric acid on contractile activity of the colon in experimental dysbiosis. *Health is the basis of human potential: problems and solutions*. 2018; 1012–1024. (In Russ.)  
Ермоленко Е.И., Захарова Л.Б., Парийская Е.Н. Потенциальное влияние эндотоксина и масляной кислоты на сократительную активность толстой кишки при экспериментальном дисбиозе. Здоровье – основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения. 2018; 1012–1024.
  23. Ermolenko E.I., Erofeev N.P., Zakharova L.B. et al. Features of the composition of intestinal microbiota and motility after correction of experimental dysbiosis with probiotic and autoprobiotic enterococci. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2017; 7: 143. (In Russ.)  
Ермоленко Е.И., Ерофеев Н.П., Захарова Л.Б. и др. Особенности состава микробиоты и моторики кишечника после коррекции экспериментального дисбиоза пробиотическими и аутопробиотическими энтерококками. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2017; 7: 143.
  24. Ivanov A.A., Troshina I.A., Golubeva T.I. et al. Short-chain fatty acids: metabolism, functions, and diagnostic potential in metabolic disorders. *Perm Medical Journal*. 2024; 41(6): 109–119. (In Russ.) doi: 10.17816/pmj416109-119.  
Иванов А.А., Трошина И.А., Голубева Т.И. и др. Короткоцепочечные жирные кислоты: метаболизм, функции и диагностический потенциал при метаболических нарушениях. Пермский медицинский журнал. 2024; 41(6): 109–119. doi: 10.17816/pmj416109-119.
  25. Vicentini F., Keenan C., Wallace L. et al. Intestinal microbiota shapes gut physiology and regulates enteric neurons and glia. *Microbiome*. 2021; 9: 210. doi: 10.1186/s40168-021-01165-z.
  26. Wang L., Lv W-Q., Yang J-T., et al. Enteric nervous system damage caused by abnormal intestinal butyrate metabolism may lead to functional constipation. *Front. Microbiol*. 2023; 14: 1117905. doi: 10.3389/fmicb.2023.1117905.