



УДК 579.61 + 612.367

ОСОБЕННОСТИ СОСТАВА МИКРОБИОТЫ И МОТОРИКИ КИШЕЧНИКА ПОСЛЕ КОРРЕКЦИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ДИСБИОЗА ПРОБИОТИЧЕСКИМИ И АУТОПРОБИОТИЧЕСКИМИ ЭНТЕРОКОККАМИ

Ермоленко Е. И.^{1,2}, Ерофеев Н. П.¹, Захарова Л. Б.¹, Парийская Е. Н.¹, Котылева М. П.², Крамская Т. А.², Карасева А. Б.², Суворов А. Н.^{1,2}

¹ Санкт-Петербургский государственный университет

² ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»

FEATURES OF MICROBIOTA CONTENT AND INTESTINAL MOTILITY AFTER THE CORRECTION OF EXPERIMENTAL DYSBIOSIS WITH PROBIOTIC AND AUTOPROBIOTIC ENTEROCOCCI

Ermolenko E. I.^{1,2}, Erofeev N. P.¹, Zacharova L. B.¹, Pariyskaya E. N.¹, Kotyleva M. P.¹, Kramskaya T. A.², Karaseva A. B.², Suvorov A. N.^{1,2}

¹ St. Petersburg State University

² FSBIS Institute of Experimental Medicine

Ермоленко Елена Игоревна — д.м.н., заведующий лабораторией биомедицинской микроэкологии, отдел молекулярной микробиологии; профессор кафедры физиологии, медицинский факультета

Ерофеев Николай Павлович — д.м.н., профессор кафедры физиологии, медицинский факультет

Захарова Лидия Борисовна — к.б.н., доцент кафедры физиологии

Парийская Елена Николаевна — к.б.н., доцент кафедры физиологии, медицинский факультет

Котылева Марина Петровна — научный сотрудник, отдел молекулярной микробиологии

Крамская Татьяна Анатольевна — старший научный сотрудник, отдел молекулярной микробиологии

Карасева Алена Борисовна — научный сотрудник, отдел молекулярной микробиологии

Суворов Александр Николаевич — д.м.н., Член-корреспондент Российской Академии наук, заведующий отделом молекулярной микробиологии; заведующий кафедрой фундаментальных проблем медицины и медицинской технологии

Ermolenko Elena, PhD, MD (Medicine), Head, Laboratory of Biomedical Microecology; Professor, Faculty of Medicine

Erofeev Nikolay — PhD, MD (Medicine), Department of Physiology, Faculty of Medicine

Zacharova Lidiya Borisovna — Ph.D., Associate Professor of the Department of Physiology

Pariyskaya Elena — Candidate of Biology Sciences, Assistant Professor, Department of Physiology, Faculty of Medicine

Kotyleva Marina, Research Associate, Department of Molecular Microbiology

Kramskaya Tatiana — senior researcher, Department of Molecular Microbiology

Karaseva Alena, Research Associate, Department of Molecular Microbiology, Research Institute of Experimental Medicine; St. Petersburg, Russian Federation.

Suvorov Alexander, PhD, MD (Medicine), corresponding member of the Russian Academy of Sciences, Chief of Department of Molecular Microbiology; head of the Department of Fundamental medicine and medical technologies

Работа поддержана грантом РФ 16–15–10085.

Ермоленко Елена Игоревна

Ermolenko Elena I.

lermolenko1@yandex.ru

Резюме

После введения аутопробиотика (индигенных *Enterococcus faecium*) и пробиотика (*E. faecium* L-3) для коррекции антибиотико-ассоциированного дисбиоза (ААД) кишечника у крыс Вистар (из групп А и П, соответственно) наблюдалось более быстрое восстановление микробиоты и эвакуаторных функций кишечника, по сравнению с первой контрольной группой животных (К1), которые после введения антимикробных препаратов получали фосфатный буфер (ф.б.). Животные из второй контрольной группы (К2) получали воду и ф.б.

В группе К1 масса слепой кишки была больше, чем у интактных крыс (группа К2) и животных из групп А и П. 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 П. 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 П, коррелировало с увеличением количества продуцирующих бутират фекалибактерий в составе кишечного микробиоценоза.

Ключевые слова: моторика, крысы, аутопробиотики, пробиотики, *Faecalibacterium* sp.

Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология 2017; 143 (7): 89–96

Summary

Faster recovery of the microbiota and evacuatorial functions of the colon was observed after the introduction of autoprobiotics (indigenous strains of *Enterococcus faecium*) and probiotic (*E. faecium* L-3), groups A and P, respectively, for the correction of intestinal antibiotic-associated dysbiosis (AAD) in Wistar rats. First control group of animals (C 1) received phosphate buffer (p.b.) after the introduction of antimicrobial agents. Second control group (C2) take water and p.b.

The weight of the cecum was greater in rats from group C 1, than in group C 2 and in animals from groups A and P. The amplitude of spontaneous contractions of rats colon segment (studied by device for work with isolated organs) of rats from group C 1 was less than that from other animals, but completely recovered only in group P. Direct effect of butyric acid on the colon segment led to the changes similar for the effect of *E. faecium* L-3 *in vivo*. The more rapid recovery of motility in the group of P, correlated with the increased amount of *Faecalibacterium* sp. (which produce butyrate) content in the composition of the intestinal microbiota.

Keywords: motility, rat, autoprobiotic, probiotic, *Faecalibacterium* sp.

Ekspierimental'naya i Klinicheskaya Gastroenterologiya 2017; 143 (7): 89–96

Введение

На сегодняшний день показано, что нет ни одной функции организма, на которую тем или иным образом не влияла бы его микробиота. Известно также, что нарушения нормального микробиоценоза, сопровождаются изменением соотношения короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК) и других метаболитов, активности пищеварительных ферментов, изменениями моторной деятельности желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) человека [1, 2, 3, 4, 5, 6]. Последние регистрируются по косвенным признакам (запоры и поносы, изменение консистенции стула) и при помощи специальных приборов для оценки сократительной активности гладкой мускулатуры кишечника [2, 5]

В настоящее время в отечественной и зарубежной печати появился ряд работ, в которых эвакуаторные функции кишечника, сократительная активность миоцитов его стенки исследуются в экспериментах на животных [2, 5, 7–9] и на изолированных отрезках разных отделов ЖКТ. Доказано изменение сократительной активности кишечника после воздействия живых и убитых пробиотических бактерий и их метаболитов, в том числе такой КЦЖК, как масляная кислота [5].

Механизм, лежащий в основе влияния состава микробиоты, ее отдельных представителей, изменений после воздействия пробиотиков и пребиотиков на сократительную активность стенки кишечника весьма сложен и складывается из нескольких факторов: 1) действия продуктов секретируемых бактериями на метаболические процессы в организме хозяина; 2) активации и блокировки рецепторов и синтеза сигнальных молекул бактерий, регулирующих нейроэндокринные процессы, 3) прямого и опосредованного участия в активации локальных и системных иммунных реакций [4, 5]. Показано, что микробиота, пребиотики и пробиотики прямо и опосредованно могут влиять на функцию и морфологию отдельных специализированных клеток организма: миоцитов (в том числе пейсмекерного пула), различных эндокринных клеток диффузной нейроэндокринной системы [1, 8–10].

При этом вводимые пробиотические бактерии неминуемо вступают в тесное взаимодействие не только с клетками организма хозяина, но и его микробиотой. Именно поэтому использование аутопробиотиков, индигенных бактерий (как правило, лактобацилл, бифидобактерий и энтерококков),

выделенных из организма, и вводящихся повторно для коррекции дисбиотических состояний, являясь перспективным [11–14]. Они рассматриваются, как элемент персонализированной терапии с пролонгированным эффектом [12] благодаря отсутствию конфликта индигенных бактерий с иммунной системой и с другими представителями микробиоты [15, 16].

Однако, влияние аутопробиотиков и пробиотиков на микробиоценоз кишечника изучено недостаточно, еще меньше известно об их влиянии на

морфологию и функции ЖКТ, в частности моторику кишечника, имеющую существенное значение в пищеварении.

Целью работы явилось исследование паттерна спонтанной сократительной активности толстой кишки крыс после коррекции антибиотик-индуцированного ассоциированного дисбиоза (ААД) пробиотическими и индигенными энтерококками с учетом патоморфологических изменений ЖКТ и состава кишечного микробиоценоза, а также прямого воздействия масляной кислоты.

Материал и методы исследования

Дизайн исследования

Исследование проводилось на 48 крысах-самцах линии Вистар (масса тела 200–250 г, возраст 6–7 недель) в полном соответствии с директивой Европейского Совета по соблюдению этических принципов в работе с лабораторными животными (The European Council Directive (86/609/EEC).

ААД моделировали, как это было описано ранее [17], путем введения животным комбинации антимикробных препаратов широкого спектра действия, подавляющих рост большинства представителей нормобиоты кишечника млекопитающих. 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), а затем пробиотик или аутопробиотик.

Животные были разделены на четыре группы (таблица 1). Крысам из первой контрольной группы (K1) в течение первых трех дней вводили

смесь антимикробных препаратов в объеме 0,5 мл, затем в течение 5 дней по 0,5 мл фосфатного буфера. Крысы из экспериментальной группы А, после введения антимикробных препаратов получали аутопробиотик (раствор 0,5 мл суспензии $5,5 \times 10^8$ КФЕ/мл аутопробиотических *Enterococcus faecium* в фосфатном буфере) в течение 5 дней. Штаммы аутопробиотиков на основе *E. faecium* выделяли из фекалий здоровых крыс, селекционировали и выращивали по методу, предложенному для терапии и профилактики синдрома раздраженного кишечника [18]. Животным из группы П в течение 5 дней после введения антимикробных препаратов вводили раствор 0,5 мл суспензии *E. faecium* L-3 ($5,5 \times 10^8$ КФЕ/мл в фосфатном буфере). Контрольные животные из группы K2 в течение трех дней ежедневно получали по 0,5 мл дистиллированной воды, затем фосфатный буфер. Все введения препаратов осуществляли внутрижелудочно при помощи специального металлического зонда.

Группа	1–3 дни	4–8 дни	Количество животных
Контроль 2 (K2)	Дистиллированная вода	Дистиллированная вода	12
Контроль 1 K1	Ампициллин+ метронидазол	Дистиллированная вода	12
Аутопробиотик (А)	Ампициллин+ метронидазол	<i>Enterococcus faecium</i> (индигенные)	12
Пробиотик (П)	Ампициллин+ метронидазол	<i>Enterococcus faecium</i> L-3	12

Таблица 1
Характеристика групп животных

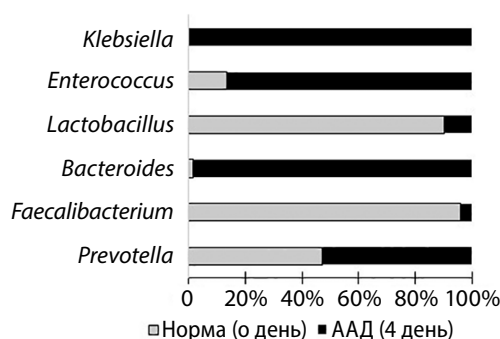
В первый, третий и восьмой дни эксперимента у животных собирали пробы фекалий для исследования микробиоты при помощи полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РТ) и метагеномного анализа. Выделение ДНК из фекалий экспериментальных животных проводилось на приборе MagNA Pure LC 2.0 набором MagNA Pure LC DNA Isolation Kit III (Bacteria, Fungi), Roche. Приготовление библиотеки для секвенирования проводили в соответствии с инструкциями и протоколами для секвенатора GS Junior Roche. Для получения необходимых ПЦР фрагментов использовали двухэтапную ПЦР реакцию со специфичными олигонуклеотидными последовательностями для региона V9-V10 гена 16S rRNA.

После некропии животных на девятый день эксперимента проводилось взвешивание желудочно-кишечного комплекса и его отдельных компонентов и регистрация спонтанной сократительной активности изолированных сегментов толстой кишки.

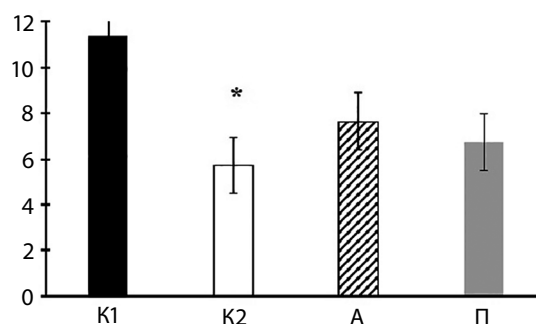
Для регистрации изометрических сокращений кишечника использовали установку для работы с изолированными органами Ugo Basile (Италия). Данная установка позволяет поддерживать стабильную температуру в рабочей камере с изолированным препаратом кишки на уровне $38^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$. В работе использовали оксигенированный раствор Кребса (95 % O_2 и 5 % CO_2) следующего состава в миллимолях (мМ): NaCl – 118,2; KCl – 4,7;

Рисунок 1.

Доля отдельных представителей микробиоты до и после индукции кишечного дисбиоза.

**Рисунок 4.**

Вес слепой кишки (г) у животных различных групп.



Примечание:

* $P > 0,05$ при сравнении с группой K2.

NaHCO_3 – 2,5; KH_2PO_4 – 1,2; MgSO_4 – 0,9; CaCl_2 – 0,2; глюкоза – 11,1).

Под глубоким эфирным наркозом вскрывали брюшную полость животного и выделяли проксимальный сегмент толстой кишки длиной 8 мм, который помещался в заполненную раствором Кребса рабочую камеру объемом 10 мл. Верхний конец сегмента кишки соединялся с тензометрическим датчиком SS 12LA системы «Biopac Systems Inc.», а нижний – фиксировался крючком на дне камеры. После закрепления сегмент кишки выдерживался в течение 60 минут для стабилизации сокращений, после чего осуществлялась запись сократительной активности. Установившийся паттерн сокращений принимался за исходный фоновый уровень.

Масляная кислота (бутановая кислота, $\text{C}_4\text{H}_7\text{COOH}$, Ч, Стандарт: ТУ 6–09–530–75 ОКП: 2634110251, «ТД Кристалл» РФ) применялась в концентрации 5×10^{-6} М/л.

Регистрация и последующий анализ параметров сокращения препарата проводилась с помощью программы AcqKnowledge 4.1. Анализировали амплитуду (силу) сокращения, которую выражали в граммах, и частоту фазных сокращений в минуту.

Статистическая обработка материала проведена с помощью программы Statistica for Windows, v. 10 (StatSoft, США) с применением параметрических и непараметрических критериев с использованием t-критерия Стьюдента (уровень значимости $p < 0,05$).

Результаты исследования

Дисбиоз кишечника был подтвержден клиническими симптомами: снижением аппетита, потерей веса, поносом или запорами. Кроме того при данном варианте ААД, как уже отмечалось ранее [12, 18, 19], снижалось количество *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *E. coli*, *Bacteroides fragilis*, *Faecalibacterium prausnitzii* и наблюдался чрезмерный рост условно-патогенных энтеробактерий (Gammaproteobacteria: *Proteus* spp., *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. и других).

Метагеномный анализ 16 S rRNA на уровне родов бактерий показал, что после воздействия антимикробными препаратами существенно увеличивается количество клебсиелл, энтерококков, бактероидов, в то время как количество лактобацилл и фекалибактерий снижалось. Обращало на себя внимание резкое снижение содержания *Faecalibacterium* sp. впервые подтвержденное при ААД с помощью метагеномного анализа 16SrRNA. (Рис. 1).

Патоморфологическая характеристика ЖКТ животных

При некропии симптомы дисбиоза выявлены только у крыс из группы K1 (ААД без использования пробиотика и аутопробиотика). У этих животных были обнаружены вздутие кишечника (рис. 2А)¹ и нарушение кластеризации пищевого комка (2Б) в отличие от животных других групп (2В).

Только у крыс группы K1, было отмечено существенное увеличение размеров (рис. 3) и массы слепой кишки (рис. 4).

K2 – без индукции ААД и воздействия пробиотика и аутопробиотиков, K1 – ААД без воздействия пробиотика и аутопробиотиков).

Влияние на фазные сокращения стенки толстой кишки пробиотиков и аутопробиотиков, используемых для коррекции экспериментального дисбиоза

Амплитудно-частотные характеристики сократительных ответов стенки толстой кишки также служили оценочными показателями влияния пробиотиков и аутопробиотиков, используемых для коррекции экспериментального дисбиоза. В качестве примера приведены фрагменты оригинальной записи фазной сократительной активности стенки толстой кишки у крыс контрольной группы K2 (норма, без индукции ААД) и K1 (крысы, у которых коррекция ААД не проводилась) (рис. 5). Выявлено,

что у крыс с ААД изменялся паттерн фазной активности стенки толстой кишки. Это проявлялось в снижении силы сокращений и увеличении их частоты.

Амплитудно-частотные различия фазной активности изолированного сегмента толстой кишки животных из экспериментальных и контрольных групп представлены в виде диаграмм на рисунках 6 и 7. Показано, что амплитуда фазных сокращений гладкомышечных клеток стенки толстой кишки

¹ Рисунки 2 и 3 – на цветной вклейке в журнал.

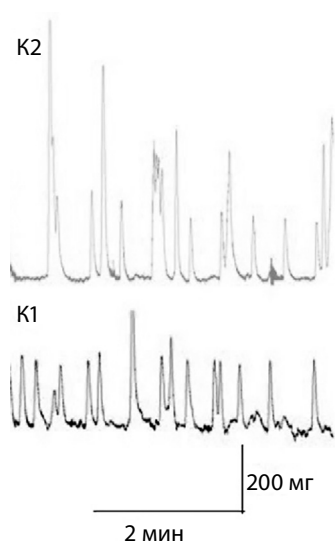


Рисунок 5.
Фрагмент оригинальной записи фазной сократительной активности стенки толстой кишки у крыс контрольных групп K2 и K1.

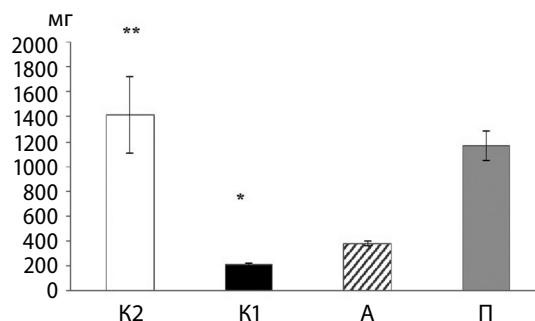


Рисунок 6.
Амплитуда фазных сокращений толстой кишки при коррекции антибиотик-индуцированного дисбиоза аутопробиотическими и пробиотическими энтерококками. Обозначения по оси абсцисс Контроль (K2, без введения антимикробных препаратов и пробиотиков), ААД (K1, без пробиотиков). ** – $p < 0,01$ при сравнении А с группой K1 (ААД), * – $p < 0,05$ при сравнении А с группой K2 (без индукции ААД).

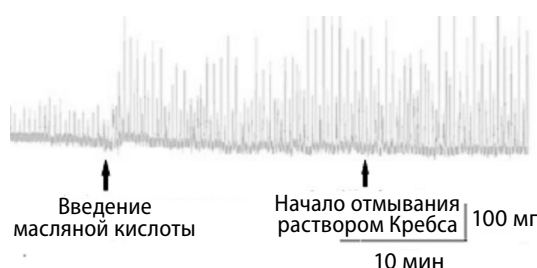
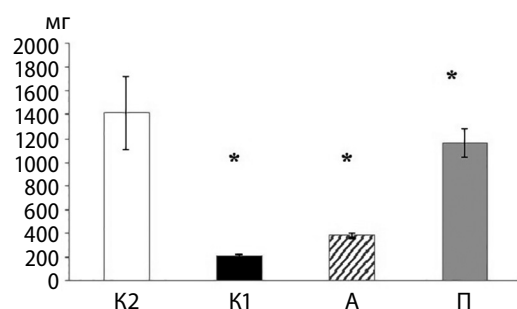


Рисунок 7.
Частота сокращений толстой кишки при коррекции антибиотик-индуцированного дисбиоза аутопробиотическими и пробиотическими энтерококками. Обозначения по оси абсцисс Контроль (K2, без введения антимикробных препаратов и пробиотиков), ААД (K1, без пробиотиков). * – $p < 0,05$ при сравнении с группой K2 (без индукции ААД).

у крыс в группе K1 (ААД без коррекции дисбиоза), достоверно ниже, чем в контрольной группе K2 ($p < 0,05$) (рис. 6). Увеличение амплитуды сокращений по сравнению с группой K2 отмечалось в группах А и П при коррекции ААД аутопробиотическими и пробиотическими энтерококками. При этом сила фазных сокращений стенки изолированной толстой кишки в группе крыс П возросла до таких значений, что достоверно не отличалась от величин в группе K2 ($p > 0,05$). Увеличение силы сокращений стенки сегмента кишки в группе А было не таким существенным: здесь значения амплитуды фазных сокращений были достоверно ниже, чем в группе K2, но и достоверно выше, чем в группе K1 ($p < 0,05$).

Анализ частоты спонтанных сокращений толстой кишки у крыс при коррекции дисбиоза пробиотическими или аутопробиотическими штаммами (рис. 7) показал существенное увеличение частоты сокращения после индукции ААД, не скомпенсированной ни в одной из групп к концу эксперимента. Частота сокращений гладко мышечного комплекса (ГМК) стенки толстой кишки во

всех трех группах (А, П и K1) животных при ААД статистически достоверно не изменялась и была существенно выше ($p < 0,05$), чем у крыс контрольной группы K2.

Полученные данные подтверждают классические представления о хроно-инотропной зависимости. Индукция ААД приводила к снижению амплитуды спонтанных фазных сокращений, что закономерно приводило к увеличению частоты сокращений. По-видимому, это указывает на влияние изменений микробиоты на нейроны подслизистого и межмышечного сплетений энтеральной нервной системы, изменяя пороги их возбудимости. Введение пробиотика приводило к частичной компенсации указанных нарушений, выравнивания инотропный показатель функций ГМК.

В дальнейшем для анализа одного из предполагаемых ранее механизмов влияния на перистальтику кишечника КЦЖК в апробированной нами системе контроля проведено исследование влияния масляной кислоты на моторику стенок сегмента толстого кишечника здоровых крыс (группа K2).

Рисунок 8.
Фрагмент оригинальной записи фазной сократительной активности стенки толстой кишки у крыс при действии масляной кислоты.

Влияние масляной кислоты на фазные сокращения стенки толстой кишки

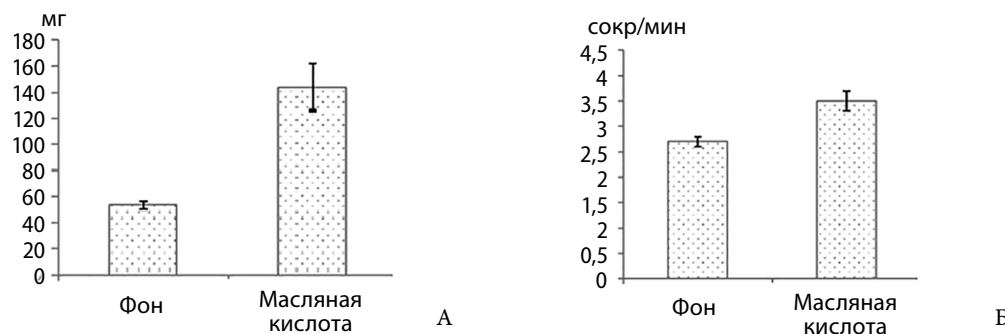
Оригинальная запись сокращений стенки толстой кишки из контрольной группы в ходе эксперимента по выявлению действия масляной кислоты представлена на рисунке 8.

Анализ амплитудно-частотных характеристик фазной сократительной активности стенки толстой

кишки у крыс после введения масляной кислоты в концентрации 5×10^{-6} мМ/л показал, что на фоне ее введения амплитуда и частота фазных сокращений достоверно возросли ($p < 0,05$) в 2.7 раза и в 1.3 раза, соответственно. Эти изменения были стабильны и сохранялись при отмывании препарата

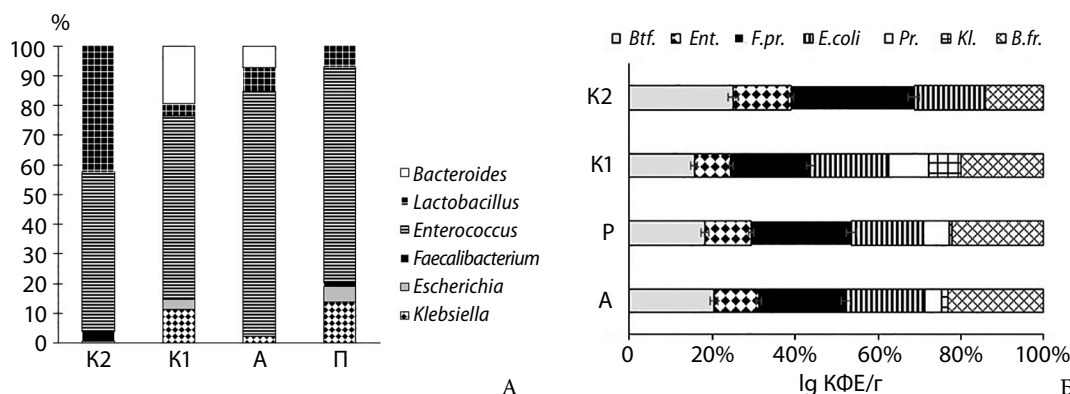
Рисунок 9.

Амплитуда (А) и частота (Б) фазных сокращений толстой кишки при действии масляной кислоты. $P < 0,05$ при сравнении с фоном.

**Рисунок 10.**

Результаты исследования микробиоты кишечника у крыс различных групп на 9 день эксперимента при помощи метагеномного анализа на уровне родов (А) и ПЦР-РВ (Б) бактерий.

* $P < 0,05$ при сравнении с К2.



раствором Кребса. Результаты исследования изменений амплитуды и частоты сокращений представлены на рисунке 9.

Таким образом, масляная кислота оказывала положительный ино- и хронотропные эффекты

такие же, как и введение пробиотического штамма при коррекции ААД. Выраженность инотропного эффекта в случае введения индигенных энтерококков могла рассматриваться только как тенденция.

Изменение микробиоты после воздействия пробиотика и аутопробиотиков

Как и в предыдущих экспериментах [12] индукция дисбиоза приводила к чрезмерному росту условно-патогенных энтеробактерий, при этом количество бутиратпродуцирующих бактерий было восстановлено только на фоне введения пробиотика, а на фоне введения аутопробиотиков без коррекции дисбиоза (группа (К1) не было

восстановлено. Это было продемонстрировано при помощи ПЦР-РВ и в результате метагеномного анализа (рис. 10).

В контексте анализа действия бутиратов обращало на себя внимание большее содержание фекалибактерий в процентном и количественном отношении в группе К2 и П. по сравнению с А и К1.

Обсуждение полученных результатов

Для изучения влияния пробиотических и аутопробиотических (индигенных энтерококков) на микробиоту и моторные функции ЖКТ при дисбиозе была использована разработанная ранее [17] модель ААД. Как и в предыдущих экспериментах [17, 19], дисбиотическое состояние, вызванное введением ампициллина и метронидазола, приводило к чрезмерному росту грамотрицательных условно-патогенных энтеробактерий и анаэробному дисбалансу. В предыдущих исследованиях уже была доказана высокая эффективность в коррекции экспериментального ААД *E. faecium* L-3 и индигенных энтерококков для восстановления микробиоценоза, исчезновения симптомов диспепсии и стабилизации поведенческих реакций [20].

В данном исследовании основное внимание при коррекции ААД уделялось моторике кишечника и эндогенным факторам, которые могли бы оказать

на нее влияние. Решающее значение для восстановления функций кишечника могло иметь восстановление кишечного микробиоценоза и эвакуаторных функций ЖКТ. На фоне введения пробиотика и аутопробиотиков происходило исчезновение клинических и патоморфологических симптомов дисбиоза, в том числе не наблюдались скопления химуса в сесум в отличие от крыс из групп К1 (без коррекции ААД). При этом происходило восстановление моторики кишечника в части усиления амплитуды кишечных сокращений. Данный феномен оказался более сильно выражен на фоне введения пробиотика *E. faecium* L-3 по сравнению с аутопробиотическими бактериями. Эффекты усиления амплитуды кишечных сокращений наблюдались и на фоне введения масляной кислоты.

Для дальнейшего анализа были важны уже имеющиеся данные о влиянии микробиоты на моторику

кишечника. Известно, что деятельность микроорганизмов, населяющих кишечник, приводит к увеличению объема каловых масс, газообразованию, снижению порога чувствительности миоцитов, стимуляции выработки холецистокинина и других биологически активных веществ [5,10, 21]. Многие представители микробиоты продуцируют метаболиты: КЦЖК, нейротрансмиттеры (серотонин, ГАМК), действие которых, подобно естественным нейротрансмиттерам и другим физиологически активным веществам, высвобождаемым в организме хозяина, оказывают существенное влияние на межклеточные контакты, энергетический и электролитный обмен, слизеобразование, местный и системный иммунитет. КЦЖК являются одним из важнейших метаболитов кишечной микробиоты, которые оказывают как местное, так и системное влияние. Количество и спектр данных химических веществ зависит от типа метаболической активности микроорганизмов, в частности маслянокислого, ацетонобутилового или гомоацетатного видов брожения. В результате микробного метаболизма в толстой кишке образуются КЦЖК (уксусная, масляная, валериановая, капроновая и другие) [1, 2, 22, 23]. Концентрация КЦЖК в толстой кишке максимальная в проксимальных отделах, там, где идет наиболее интенсивный их синтез, и снижается к дистальным отделам [24]. В проксимальных отделах толстой кишки короткоцепочечные жирные кислоты стимулируют рецепторы L-клеток, вырабатывающих регуляторный пептид – PYY, который, в свою очередь, замедляет моторику как толстой, так и тонкой кишки [25, 26]. Это явилось причиной выбора для исследования спонтанной двигательной активности кишечника проксимального отдела colon.

С использованием специальной установки для исследования изолированных органов в данной

работе впервые было показано, что масляная кислота оказывала положительный ино- и хронотропные эффекты. Индукция ААД приводила к снижению амплитуды сокращений, величина которой полностью восстанавливалась на фоне введения пробиотического штамма *E. faecium* L-3.

Представляло большой интерес и выявленное увеличение частоты сокращений кишечного сегмента при ААД, которое на фоне введения пробиотика и аутопробиотика не корректировалось. При этом наблюдалось улучшение моторики кишечника, проявляющееся в усилении амплитуды кишечных сокращений. Данный феномен оказался более сильно выражен на фоне введения пробиотика *E. faecium* L-3 по сравнению с аутопробиотическими бактериями. Сходные эффекты усиления амплитуды кишечных сокращений наблюдались и на фоне введения масляной кислоты. Можно предположить, что увеличение доли бактерий *F. prausnitzii*, продуцирующих масляную кислоту, которое наиболее сильно проявлялось после приема пробиотика, обусловило проявление наблюдаемых физиологических эффектов. Помимо восстановления содержания *F. prausnitzii* на фоне приема пробиотиков происходило и нивелирование чрезмерного роста условно-патогенных энтеробактерий (индуцирующих за счет их эндотоксина, ЛПС, «малое воспаление»). Снижение двигательной активности ГМК при чрезмерном росте грамотрицательных бактерий уже было показано на модели на неалкогольного стеатогепатита у крыс [9].

Анализ изученной литературы и результатов данного исследования позволяет высказать мнение о том, что существует некое взаимодействие путей в оси микробиота-сократительная активность толстой кишки по механизму обратной связи.

Заключение

Пробиотические и в меньшей степени аутопробиотические энтерококки способствуют более быстрой коррекции дисбиоза кишечника крыс, что коррелирует с восстановлением двигательной активности кишечника животных.

Предложенный подход может быть рекомендован для изучения влияния состава микробиоты, прямого и опосредованного действий различных лекарственных средств на моторику и эвакуаторные функции ЖКТ.

Литература

1. Ардатская, М. Д., Бельмер, С. В., Добрица, и др. Дисбиоз (дисбактериоз) кишечника: современное состояние проблемы, комплексная диагностика и лечебная коррекция// Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2015, Т. 117, № 5: С. 13–50.
2. Бельмер С. В., Акопян, А. Н., Ардатская, М. Д. и др. Особенности кишечной моторики и кишечной микрофлоры у детей с синдромом раздраженного кишечника с запором// Вопросы детской диетологии. – 2014, Т. 5, № 12: 19–27.
3. Малкоц А. В., Бельмер С. В., Ардатская М. Д. Функциональные нарушения моторики желудочно-кишечного тракта и кишечная микрофлора //Педиатрическая фармакология. – 2009, Т. 6, № . 5:70–75.
4. Barbara, G., Stanghellini, V., Brandi, G. et al. Interactions between commensal bacteria and gut sensorimotor function in health and disease. Am J Gastroenterol. – 2005, Vol. 100, № . 11:2560–2568.
5. Quigley, E. Микробиота и моторика кишечника// Клиническая фармакология и терапия. – 2013,22, № 1: 16–22.
6. Jouët P., Moussata D, Duboc et al. Effect of short-chain fatty acids and acidification on the phasic and tonic motor activity of the human colon// Neurogastroenterol Motil. – 2013; 25(12):943–949.
7. Massi, M., Ioan, P., Budriesi, R., Chiarini, A., Vitali, B., Brigidi, P., Lembo, A. Effects of probiotic bacteria on gastrointestinal motility in guinea-pig isolated tissue// World J Gastroenterol. – 2006, 12, № 37: 5987–5994.
8. Wu, W. C., Zhao, W., & Li, S. Small intestinal bacteria overgrowth decreases small intestinal motility in the NASH rats//World journal of gastroenterology. – 2008, 14, № 2:313. –317.

9. Wu, R. Y., Pasyk, M., Wang, B., Forsythe, P., Bienenstock, J., Mao, Y. K., Kunze, W.A. Spatiotemporal maps reveal regional differences in the effects on gut motility for *Lactobacillus reuteri* and *rhamnosus* strains//Neurogastroenterology & Motility – 2013, 25, № 3:205 – 214.
10. Ерофеев Н. П., Радченко В. Г., Селиверстов П. В. Клиническая физиология толстой кишки. Механизмы действия короткоцепочечных жирных кислот в норме и при патологии //СПб: Форте Принт. – 2012. – с. 56.
11. Дармов И. В., Чичерин, И. Ю., Погорельский, И. П., Лундовских, И. А., Дурнев, Е. А. Выживаемость микроорганизмов пробиотиков в желудочно-кишечном тракте экспериментальных животных// Журн. инфектол. – 2012; Т. 4, № 1: С. 68–74.
12. Ермоленко Е. И., Свиридо Д. А., Котылева М. П., Карасева А. Б., Ермоленко К. Д., Соловьева О. И., Симаненков В. И., Суворов А. Н. Коррекция дисбиоза кишечника крыс индигенными рекомбинантными штаммами энтерококков и длительность их персистенции в составе кишечного микробиоценоза// Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2016, № 12: С. 65–69.
13. Ильин В. К., Суворов А. Н., Кирюхина Н. В., Усанова Н. А., Старкова Л. В., Бояринцев В. В., Карасева А. Б. Аутопробиотики как средство профилактики инфекционно-воспалительных заболеваний у человека в искусственной среде обитания// Вестник Российской академии медицинских наук. – 2013; № 2: С. 56–62.
14. Чичерин И. Ю., Погорельский И. П., Лундовских И. А. и др. Аутопробиотикотерапия// Журнал инфектологии. – 2013; Т. 5, № 4: С. 43–54.
15. Suvorov A., Ermolenko E., Simanenkova V., Gromova L., Kolodjjeva V., Tarasova E., Chernysh A., Solovieva O. Enterococcus as probiotics or autoprobiotics // Prebiotics and probiotics potential for Human Health/ International conference 18.04.2011, Sofia, Университетско Издательство «Паисий Хилендарски»;: 104–111.
16. Suvorov A. Gut Microbiota, Probiotics, and Human Health// Bioscience of Microbiota, Food and Health. – 2013; 32, № 3: 81–91.
17. Ермоленко Е. И., Донец В. Н., Дмитриева Ю. В., Ильясов Ю. Ю., Суворова М. А., Громова Л. В. Влияние пробиотических энтерококков на функциональные характеристики кишечника крыс при дисбиозе, индуцированном антибиотиками // Вестн.С.-Петербург. ун-та. Сер.11, Медицина. – 2009. Вып. 1:157–167.
18. Пат. 2546253 Российская Федерация Способ получения персонифицированного аутопробиотического продукта и способ лечения синдрома раздраженной кишки с использованием этого продукта /Симаненков В.И., Суворов А. Н., Соловьева О.И., Ермоленко Е.И., Цапиева А. Н., Сундукова З. Р. Заявл. 25.04.2013, зарегистрировано в Гос. Реестре изобретений РФ 02.03.2015.
19. Ermolenko E, Gromova L, Borshev Y, Voeikova A, Karaseva A, Ermolenko K, Gruzdkov A, Suvorov A. Influence of different probiotic lactic acid bacteria on microbiota and metabolism of rats with dysbiosis. Bioscience of Microbiota, Food and Health, 2013; 32(2): 41–49.
20. Ермоленко Е. И., Абдурасулова И. Н., Котылева М. П. и др. Влияние индигенных энтерококков на микробиоту кишечника и поведение крыс при коррекции экспериментального дисбиоза// Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2017, № 1: 26–41.
21. Эволюционные и сравнительно-физиологические аспекты микрофлоры. В кн.: А.И. Хавкина). 2006. – С. 18–28.
22. Шульпекова Ю. О. Кисломолочные бактерии: роль в регуляции кишечной перистальтики// Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2010; Т XX, № 3: С 68–73.
23. Fukumoto S., Tatewaki M., Yamada T. et al. Short-chain fatty acids stimulate colonic transit via intraluminal 5-HT release in rats // Am.J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. – 2003. –V. 284, № 5. – P. R1269–R1276.
24. Topping D. I., Clifton P. M. Short-Chain Fatty Acids and Human Colonic Function: Roles of Resistant Starch and Nonstarch Polysaccharides // Physiological Reviews. – 2001. – V. 81, № 3. – P. 1031–1064.
25. Cherbut C., Ferrier L., Roze C. et al. Short-chain fatty acids modify colonic motility through nerves and polypeptide YY release in the rat // Am.J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 1998. –V. 275, № 6. – P. G1415–G1422.
26. Choi C. H., Chang S. K. Alteration of gut microbiota and efficacy of probiotics in functional constipation //Journal of neurogastroenterology and motility. – 2015, T. 21, № 1: 4–14.

К статье

Особенности состава микробиоты и моторики кишечника после коррекции экспериментального дисбиоза пробиотическими и аутопробиотическими энтерококками (стр. 89–96)



Рисунок 2.
Признаки функциональных нарушений пищеварения (9 день исследования, крысы из группы К1).



Рисунок 3.
Слепая кишка у животных из контрольных групп К2 (А) и К1 (Б).