

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Пермская государственная медицинская академия имени академика Е.А.Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Кузнецов Степан Валерьянович

Значение метаболитов симбионтного пищеварения при стрессе

14.03.03 - патологическая физиология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук
профессор В.Ф.Кузнецов

Пермь - 2013

ОГЛАВЛЕНИЕ

ОГЛАВЛЕНИЕ.....	2
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	5
ВВЕДЕНИЕ.....	6
Глава 1. Стресс и метаболиты симбионтного пищеварения.....	12
1.1. Определение понятия «стресс», морфологическая.....	12
триада, стадии	
1.2. Стресс- реализующие системы.....	13
1.3. Принцип «обратной связи» и модуляция стресса при.....	16
участии стресс-лимитирующих систем	
1.3.1. Значение регуляции выработки стрессорных гормонов.....	16
по принципу «обратной связи»	
1.3.2. ГАМК-эргическая система.....	18
1.3.3. Эндогенные опиоиды.....	19
1.3.4. Простагландины.....	19
1.3.5. Антиоксидантная система.....	20
1.3.6. Серотонинэргическая система.....	20
1.3.7. Система белков теплового шока.....	21
1.3.8. Мелатонин.....	22
1.4. Метаболиты симбионтного пищеварения и адаптация.....	22
1.4.1. Регуляция состава микрофлоры.....	25
1.4.2. Рост и пролиферация эпителия желудочно-кишечного тракта.....	25
1.4.3. Противовоспалительные эффекты короткоцепочечных жирных.....	27
кислот	
1.4.4. Влияние метаболитов симбионтного пищеварения на	28
различные компоненты иммунной системы	
1.4.5. Короткоцепочечные жирные кислоты и проницаемость	33
гематоинтестинального барьера	

1.4.6. Короткоцепочечные жирные кислоты и процессы всасывания.....	36
в кишечнике	
1.4.7. Короткоцепочечные жирные кислоты и оксидативный стресс.....	37
1.4.8. Короткоцепочечные жирные кислоты и регуляция моторики.....	37
кишечника	
Заключение.....	39
Глава 2. Материалы и методы исследования.....	41
2.1. Экспериментальные методы исследования.....	41
2.1.1. Экспериментальные животные.....	41
2.1.2. Характеристика особенностей моделирования стресса у	41
животных различных возрастных групп	
2.1.3. Экспериментальная модель для изучения влияния.....	44
продуктов симбионтного пищеварения на процессы	
жизнедеятельности белых беспородных крыс	
2.1.4. Экспериментальная модель острого холодового стресса.....	46
2.2. Гематологические, гистохимические, морфометрические,	48
химические методы исследования	
2.2.1. Гематологические методы исследования.....	48
2.2.2. Исследование спектра короткоцепочечных жирных кислот.....	49
крови	
2.2.3. Морфометрическое исследование внутренних органов.....	50
2.3. Исследование эмоционального стресса в условиях открытого.....	52
поля	
2.4. Статистические методы исследования	55
Глава 3. Соотношение содержания серотонина в крови и	57
относительной ширины пучковой зоны коры надпочечников	
при стрессе	
Глава 4. Влияние продуктов симбионтного пищеварения на.....	66
реакцию органов «мишеней» у старых и молодых животных	
при стрессе	

4.1. Влияние продуктов симбионтного пищеварения на реакцию.....	68
лимфоидной ткани селезенки при комбинированном стрессе	
4.1.1. Исследование влияния функционального питания на вес.....	68
селезенки	
4.1.2. Возрастные аспекты и корреляционные связи объема белой	68
пульпы селезенки с шириной пучковой зоны коры надпочечников	
и количеством гранул серотонина в тромбоцитах крови	
4.2. Возрастные и корреляционные аспекты объема светлых.....	76
центров Пейеровых бляшек и ширины пучковой зоны коры	
надпочечников	
4.3. Влияние комплекса ферментированных пищевых волокон и	79
короткоцепочечных жирных кислот на показатели общего количества	
лейкоцитов и лейкоформулы у при стрессе	
4.4. Возрастные особенности модулирующих эффектов натуральных.....	84
комплексов ферментированных пищевых волокон и	
короткоцепочечных жирных кислот на соотношение регенерации	
и повреждения печеночной ткани при стрессе	
4.5. Исследование корреляционных связей между содержанием	92
короткоцепочечных жирных кислот крови, морфометрическими	
и гематологическими показателями при стрессе	
Глава 5. Влияние натуральных комплексов ферментированных.....	97
пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот	
на уровень устойчивости к стрессу у старых крыс в тесте открытого	
поля	
Заключение	103
Выводы.....	130
Список литературы.....	131-163

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АКТГ – адренкортикотропный гормон
- АТФ – аденозинтрифосфат
- БТШ (HSP) – белки теплового шока
- ГАМК– гамма-аминомасляная кислота
- ГМ – головной мозг
- ИЛ (IL) – интерлейкин
- КРФ – кортикотропин-рилизинг-фактор
- КЦЖК – короткоцепочечные жирные кислоты
- ОАС – общий адаптационный синдром
- ПВ – пищевые волокна
- ПГ – простагландины
- РФ – рилизинг-факторы
- СТГ – соматотропный гормон
- ТМФ – точный метод Фишера
- ТТГ– тиреотропный гормон
- ФОС – фруктоолигосахариды
- ФП – функциональное питание
- ФПВ – ферментированные пищевые волокна
- ФНО альфа (TNF- α) – фактор некроза опухоли альфа
- GPCRs – рецепторы, сопряженные с G-белком
- GULT – лимфоидная ткань, ассоциированная с желудком и кишечником
- Me – медиана
- NF- κ B – нуклеарный фактор каппа-B
- n– численность группы
- P – достоверность статистического показателя

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность. В связи с последними научными достижениями все большее значение придается симбионтному пищеварению (Бондаренко В.М., и др., 2005; Ардатская М.Д., Минушкин О.Н., 2006; С. В. Бельмер., 2006), которое происходит под влиянием ферментов микроорганизмов толстой кишки и приводит к образованию вторичных нутриентов (Уголев А.М., 1988), таких как короткоцепочечные жирные кислоты. К ним относятся уксусная (С2), пропионовая (С3), масляная (С4), валериановая (С5) и капроновая (С6) кислоты, образующиеся при ферментации нормофлорой пищевых волокон (Hamer H.M., 2009; Komiyama Y., et al., 2011; Souza da Silva C., et al., 2013).

В пище современного человека содержание пищевых волокон составляет менее 30% от нормы, что является фактором риска формирования ряда патологических процессов (Покровский В.И. и др., 2002). Таким образом, пищевые волокна являются важнейшим компонентом функционального питания, обеспечивающего потребности организма в нутриентах как в норме, так и при патологии.

Короткоцепочечные жирные кислоты обладают широким спектром адаптивных эффектов (противовоспалительный, иммуностропный, детоксикационный, антиканцерогенный и др.) (Andoh A., et al., 2003; Bindels L.V., et al., 2012; Ulven T., 2012; Wang H., et al., 2012). Недостаточно изучены в эксперименте на животных возрастные особенности соотношения короткоцепочечных жирных кислот и серотонина, повреждения и регенерации гепатоцитов, а также выраженность других маркеров стресса. Остается открытым вопрос и о принципах патогенетической коррекции последствий стресса в возрастном аспекте.

Установлены возможности уменьшения выраженности постстрессорной бактериемии, а также провоспалительной гиперцитокинемии при использовании диеты, обогащенной натуральными комплексами ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот

(Косарева П.В., 2010; Кузнецов В.Ф., и др., 2006; 2009). Представляется актуальным – с учетом указанных данных – использование этих комплексов для коррекции других постстрессорных сдвигов.

Цель работы – исследование механизмов влияния метаболитов симбионтного пищеварения на морфофункциональные проявления стресса в возрастном аспекте в эксперименте.

Задачи исследования

1. Изучить возрастные аспекты соотношения эндокринных и нейромедиаторных сдвигов на фоне комбинированного стресса при использовании типовой диеты и диеты, обогащенной натуральными комплексами ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот.

2. Исследовать возрастные особенности реакции лимфоидной ткани и крови, а также изменения маркеров регенерации и повреждения гепатоцитов при комбинированном стрессе в зависимости от диеты.

3. Оценить взаимосвязи уровней короткоцепочечных жирных кислот крови с морфологическими и гематологическими показателями при стрессе в зависимости от наличия или отсутствия в диете натурального комплекса ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот.

4. Изучить влияние функционального питания, включающего натуральные комплексы ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот, на поведение старых животных при их тестировании в условиях открытого поля.

Научная новизна. Впервые при стрессе в возрастном аспекте изучено значение короткоцепочечных жирных кислот, заключающееся в уменьшении морфофункциональных проявлений стресса. Исследование проведено при добавлении в рацион животных (группа старых животных и группа молодых животных) натуральных комплексов трудно ферментируемых пищевых

волокон – предшественников короткоцепочечных жирных кислот – и короткоцепочечных жирных кислот.

При типовой диете у старых животных, в отличие от молодых, отмечается снижение содержания серотонина в тромбоцитах, объема белой пульпы селезенки, регенеративной активности гепатоцитов, а также увеличение в крови лейкоцитов за счет палочкоядерных нейтрофилов. Кроме того, отмечены проявления стресса, соизмеримые с аналогичными показателями у молодых животных, такие как увеличение ширины пучковой зоны коры надпочечников, количества гепатоцитов с признаками повреждения и уменьшение объема светлых центров Пейеровых бляшек.

Использование натурального комплекса ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот (биологически активная добавка к пище «Рекицен-РД») привело к следующим сдвигам. Произошло устранение различий клеточного состава крови. Серотонин в тромбоцитах возрос в обеих группах. Отсутствовала гиперплазия пучковой зоны коры надпочечников. Объем белой пульпы селезенки увеличился, а количество гепатоцитов с признаками повреждения снизилось в обеих возрастных группах. Регенераторный потенциал гепатоцитов возрос у старых животных (последние данные отражены в положительном решении по заявке на изобретение №2012113449/15 от 06.04.2012 «Способ профилактики возрастных изменений печеночной ткани в эксперименте»). При изучении поведения старых животных в открытом поле было обнаружено, что функциональное питание приводит к уменьшению времени выхода их из центрального квадрата, увеличению времени груминга, снижению количества актов уринации и дефекации, уменьшению вариабельности результатов внутри групп. Это свидетельствует об уменьшении степени тревоги и страха в новых условиях.

Патогенетической основой протективных эффектов натуральных комплексов ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот является оптимизация активности стресслимитирующих систем.

Теоретическое и практическое значение работы. Результаты исследования расширяют представление о роли симбионтного пищеварения при стрессорном повреждении и позволят повысить эффективность и безопасность лекарственной терапии при стрессорной патологии. Гепатопротекторные эффекты использованного функционального питания обеспечивают возможности профилактики заболеваний печени у пациентов со сниженной репарацией гепатоцитов.

Полученные результаты используются в практической работе Кировского НИИ гематологии и переливания крови (г. Киров), центра гепатопанкреатобилиарной хирургии ГБУЗ КМСЧ №1 (г. Пермь). Они также внедрены в учебный процесс кафедры хирургии с курсом анестезиологии и реаниматологии ИПО в ГБОУ ВПО «Кировская государственная медицинская академия» МЗ РФ (г. Киров), кафедры хирургических болезней медико-профилактического факультета с курсом гематологии и трансфузиологии ФПК и ППС ГБОУ ВПО «ПГМА им. ак. Е.А. Вагнера» МЗ РФ. Получено положительное решение по заявке на изобретение №2012113449/15 (Кузнецов С. В., с соавторами «Способ профилактики возрастных изменений печеночной ткани в эксперименте» от 06.04.12).

Апробация работы. Основные положения диссертации доложены на XXI съезде физиологического общества имени И.П. Павлова, 19–25 сентября 2010 г. (Калуга, 2010); на научной сессии ГБОУ ВПО «ПГМА им.ак. Е.А. Вагнера» МЗ РФ (Пермь, 2011); на Всероссийской конференции с международным участием, ГОУ ВПО КГМА, 18 февраля 2011 (Киров, 2011); на X международной научно-практической конференции «Лекарство и здоровье человека», 13–14 октября (Астрахань, 2011); на VI Межрегиональной научно-практической конференции гастроэнтерологов Приволжского федерального округа 4–5 апреля 2012 года (Н. Новгород, 2012); на Всероссийской научно-практической конференции «Современные геронтологические технологии: нарушения обмена веществ и патология опорно-двигательного аппарата» 28

ноября 2012 года (Пермь, 2012) и отражены в тезисах докладов и в материалах конференций.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 19 печатных работ, из которых 7 публикаций в рецензируемых изданиях, рекомендуемых ВАК РФ, и одна монография. Имеется положительное решение по заявке на изобретение.

Личный вклад автора. Весь материал, представленный в диссертации, получен, статистически обработан и проанализирован лично автором. Выполнение морфометрических исследований проведено при участии старшего научного сотрудника отдела морфологических и патофизиологических исследований ЦНИЛ ГБОУ ВПО «ПГМА им. ак. Е.А. Вагнера» Минздрава РФ к.м.н. В. П. Хоринко (зав. д.м.н. П.В. Косарева); изучение концентрации короткоцепочечных жирных кислот в крови проведено при участии преподавателя кафедры нормальной физиологии ГБОУ ВПО «ПГМА им. ак. Е.А. Вагнера» Минздрава РФ С.Г. Езова.

Положения, выносимые на защиту

1. У старых животных, в сравнении с молодыми, при остром холодовом стрессе отмечено снижение активности серотонинэргических структур, объема белой пульпы селезенки и регенеративной активности гепатоцитов, наблюдается увеличение лейкоцитов крови за счет палочкоядерных нейтрофилов. У старых и молодых животных отмечены также общие проявления стресса: увеличение ширины пучковой зоны коры надпочечников и количества поврежденных гепатоцитов, уменьшение объема светлых центров Пейеровых бляшек.

2. Использование натуральных комплексов ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот при комбинированном стрессе приводит к устранению возрастных различий клеточного состава крови и содержания серотонина в тромбоцитах, отсутствию гиперплазии пучковой зоны коры надпочечников, увеличению объема белой пульпы селезенки,

снижению количества гепатоцитов с признаками повреждения и увеличению регенераторного потенциала гепатоцитов у старых животных.

3. Особенности корреляционных взаимосвязей концентрации короткоцепочечных жирных кислот в крови с морфофункциональными показателями зависят от наличия или отсутствия в диете натурального комплекса ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот.

4. Функциональное питание, использованное в работе с экспериментальными животными, приводит к уменьшению уровня страха и тревоги, что проявляется в уменьшении времени выхода из центрального квадрата, увеличению времени груминга, снижению количества актов уринации и дефекации у старых крыс, отмеченных при изучении их поведения в открытом поле.

Объем и структура диссертации. Работа изложена на 163 страницах, состоит из введения, 5 глав (обзор литературы, материалы и методы исследований, собственные исследования), обсуждения, выводов. Работа включает 14 таблиц, 3 схемы и 8 рисунков. Список литературы включает 94 отечественных и 188 иностранных источников.

Глава 1. Стресс и метаболиты симбионтного пищеварения

1.1. Определение понятия «стресс», морфологическая триада, стадии.

Г.Селье в 1936 г. в журнале Nature описал синдром, вызываемый различными повреждающими агентами, который назвал общим адаптационным синдромом (ОАС) или стрессом.

ОАС – это неспецифическая нейроэндокринная реакция, возникающая при воздействии внешних и внутренних факторов, которая, в зависимости от интенсивности, может приводить к защите и адаптации либо к явлениям вторичного повреждения.

Стресс, проявляющийся в виде адаптации и защиты, называют хорошим стрессом или эустрессом. Если же при стрессе формируются процессы нарушения адаптации, то говорят о дистрессе («плохом» стрессе), который может приводить к «болезням адаптации».

При воздействии сильных стрессорных факторов формируется триада морфологических симптомов, которые характерны для дистресса. Морфологическая триада при стрессе включает гиперплазию коры надпочечников, инволюцию тимуса и лимфоидной системы, кровоточащие язвы по ходу желудочно-кишечного тракта (Селье Г., 1960; Szabo S., 1998).

Морфологические особенности стресса, которые стали классическими, Г.Селье впервые выявил при введении экспериментальным животным экстракта плаценты (Селье Г., 1987). Предполагалось, что ее вызывают ранее неизвестные гормоны плаценты. Однако при очистке экстракта проявления триады становились слабее и слабее. Наконец, когда признаки, характерные для триады исчезли, стало понятно, что формирующаяся триада возникает не на гормон, содержащийся в экстракте, а на повреждение, вызываемое этим экстрактом.

Далее было установлено, что данная морфологическая триада возникает и на введение формалина, и при моделировании травматического шока, то есть на

любой сильный раздражитель (Горизонтов П. Д., и др., 1983; Фролькис В.В., 1991; Тодоров И.Н., Тодоров Г.И., 2003; Imamura T., et al., 2013).

Представленными выше морфологическими изменениями не исчерпываются варианты морфологических маркеров стресса. Так, при стрессе «кровооточащие язвы по ходу желудочно-кишечного тракта» по Г. Селье могут и не возникать, но, как правило, формируется увеличение проницаемости гемато-интестинального барьера из-за активизации процессов апоптоза (Долгушин И.И., и др., 1989; Косарева П.В., 2010; Кузнецов В.Ф., и др., 2006; 2007; 2009). Далее нарастает эндотоксинемия и постстрессорная бактериемия (Долгушин И.И., и др., 1989; Черешнев В.А., и др., 2008; Кузнецов В.Ф., и др., 2009). Эндотоксинемия приводит к провоспалительной гиперцитокинемии, являющейся важнейшим фактором патогенеза формирования гепатита, кардиосклероза и отложения соединительной ткани в других паренхиматозных органах (Тодоров И.Н., Тодоров Г.И., 2003; Козлова С.Н., и др., 2009). Постстрессорная бактериемия является причиной формирования воспалительных процессов в отдаленных органах (Долгушин И.И., и др., 1989), в том числе в почках (Косарева П.В., 2010; Кузнецов В.Ф., и др., 2010). Таким образом, список морфологических «маркеров» стресса постоянно пополняется. Последнее свидетельствует о том, что необходимо создание технологий, обеспечивающих профилактику формирования постстрессорных повреждений внутренних органов.

1.2. Стресс-реализующие системы

В механизме стресса ведущую роль выполняют гипофиз и надпочечники, что было установлено Г.Селье при удалении этих органов. Введение экстракта гипофиза при не удаленных надпочечниках сопровождается восстановлением ответа на стрессор и восстановление резистентности. Кроме гипофиза и надпочечников в механизме стресса важнейшую функцию выполняют также кора головного мозга, гипоталамус, симпатическая нервная система и другие нервные, эндокринные образования и внутренние органы (например, печень).

Вовлечение нервных и эндокринных образований в механизмы стресса происходит через ниже следующие механизмы (Флейшман Е.В., 1967; Горизонтов П.Д., и др., 1983; Семенков В.Ф., 2011).

Во-первых, раздражители внешней и внутренней среды (стрессоры) воздействуют на рецепторы (экстеро-, интеро-, баро-, волюмо- и др.), по афферентным путям информация поступает в гипоталамус и запускает его участие в ОАС.

Во-вторых, информация о действии стрессора может поступать в гипоталамус от коры головного мозга. В этой ситуации формируется эмоциональный стресс.

В-третьих, после активации симпатических образований информация поступает по чревному нерву в мозговое вещество надпочечников, что способствует выбросу адреналина и норадреналина с последующей активацией гипоталамуса.

В-четвертых, среди индукторов стресса называют и избыточный синтез провоспалительных цитокинов, таких как ИЛ1бета и ФНО альфа (Симбирцев А.С., и др., 2009).

В гипоталамусе усиливается выработка релизинг-факторов (РФ): кортико-, тирео-, сомато-, которые соответственно активируют выработку АКТГ, ТТГ, СТГ. АКТГ воздействует на кору надпочечников и активирует выработку глюкокортикоидов, а ТТГ – гормонов щитовидной железы. СТГ воздействует на ткани через синтез соматомединов, вырабатываемых в печени (Меерсон Ф.З., Пшенникова М.Г., 1988).

Через представленные оси стресса происходит вовлечение в механизмы и реализация эффектов адаптивного действия гормонов стресса. Поскольку в данной работе постстрессорные изменения соотносились с размерами пучковой зоны коры надпочечников, ниже мы рассмотрим адаптивные механизмы в первую очередь глюкокортикоидов.

Так, глюкокортикоиды оказывают адаптивное действие через представленные ниже гематологические, биохимические и нейро-эндокринные сдвиги.

Гематологические проявления стресса (Горизонтов П.Д., 1976; Горизонтов П.Д., и др., 1983) – это лимфоцитопения, нейтрофилез, эозинопения. Уменьшается содержание лимфоцитов (лежит в основе инволюции лимфоидного аппарата и тимуса) в сосудистом русле, что связано с возможным лизисом клеток лимфоидной ткани, а также обусловлено перераспределением лимфоидных клеток из крови в ткани. Хотя, следует отметить, что на начальных этапах развивается лимфоцитоз, связанный с мобилизацией лимфоцитов, находящихся в различных депо. Лимфоциты в тканях обеспечивают антигенный гомеостаз. В органах кроветворения они стимулируют гемопоэз, посредством выработки ИЛ-3 (Горизонтов П.Д., 1976; Кадагидзе З.Г., 2003), что сопровождается увеличением количества эритроцитов, тромбоцитов, нейтрофилов. Это повышает резистентность к гипоксии, обеспечивает гемостаз и процессы фагоцитоза. Происходит использование освобождающегося белка для функций других органов. Также отмечается снижение количества эозинофилов в связи с их перераспределением в ткани. Гематологические проявления стресса, также как и компоненты морфологической триады, являются своеобразными «маркерами» стресса при его моделировании (Горизонтов П.Д., 1976; Овсянников В.Г., и др., 2008; Шилова Ю.А., 2011; Rehm К.Е., et al., 2013). Вместе с тем, следует отметить, что сдвиги представленных гематологических изменений будут различными при разных вариантах моделирования, будут зависеть от силы стрессора и длительности его действия, а также от функционального состояния экспериментального животного. Это, в конечном итоге, может проявляться в виде формирования других соотношений различных видов клеток в периферической крови. Так, при умеренном по силе раздражителе гематологическая картина проявляется в виде увеличения количества нейтрофилов, моноцитов. При чрезмерно сильном стрессовом воздействии

развивается абсолютная лимфопения, абсолютная моноцитопения, абсолютный нейтрофилез (Горизонтов П.Д., 1976; Шилова Ю.А., 2011; Mühl H., et.al., 1999).

Мобилизация энергетических ресурсов реализуется через активацию липолиза, гликогенолиза, активации глюконеогенеза. Это сопровождается увеличением в крови концентрации жирных кислот и глюкозы и их использования в процессах обмена.

Торможение процессов белкового синтеза и активация процессов распада белка, сочетается с уменьшением размера органов. В крови возрастает концентрация аминокислот. Печень – единственный орган, где в условиях стресса отмечается активация синтеза белка. Происходит усиление мощности систем ферментов, обеспечивающих в условиях стресса детоксикацию ядов, токсинов, обеспечивающих синтез альбумина (Тодоров И.Н., Тодоров Г.И., 2003; Семенков В.Ф., и др., 2011).

Усиливаются процессы возбуждения в коре ГМ и подкорковых образованиях. Это обеспечивает запоминание, ускоряет формирование условных рефлексов, стрессорная ситуация запоминается и легче происходит ее избегание. Возбуждение жизненно важных подкорковых центров обеспечивает сохранение жизненно-важных констант на уровне, совместимом с жизнью (Горизонтов П.Д., 1976).

1.3. Принцип «обратной связи» и модуляция стресса при участии стресс-лимитирующих систем.

1.3.1. Значение регуляции выработки стрессорных гормонов по принципу «обратной связи».

Как было отмечено ранее, гормоны стресса – обоюдоострый нож адаптации. Так, в ситуациях, когда выработка гормонов стресса избыточна в количественном отношении, то вместо адаптации к действующему стрессору, отмечают явления дезадаптации, которые характеризуются формированием повреждения внутренних органов. В связи с этим, важнейшим механизмом регуляции интенсивности выработки гормонов стресса, а значит и фактором

профилактики формирования постстрессорных повреждений, является регуляция выработки стрессорных гормонов по принципу обратной связи (Меерсон Ф.З., Пшенникова М.Г., 1988; Дильман В.М., 1982, 1987; Viltart O., et al., 2006).

Представленный механизм, обычно, возникает в ситуациях, когда концентрации глюкокортикоидов достигают чрезмерной концентрации. По принципу отрицательной обратной связи происходит торможение выработки АКТГ в передней доле гипофиза, что приводит к нормализации уровня глюкокортикоидов. При воздействии на организм избыточного по силе стрессора, а также при формировании хронического стресса принцип обратной связи может нарушаться, что приводит к формированию дистресса на фоне избыточного выделения стрессорных гормонов.

Нарушение принципа обратной связи при регуляции выработки стрессорных гормонов наиболее ярко выявляется при старении. Так, с возрастом отмечаются нарушения стресс-ответа (неадекватный адаптивный ответ) (Дильман В.М., 1982,1987; Тодоров И.Н., Тодоров Г.И., 2003). Гипоталамус теряет способность отвечать отрицательной обратной связью на избыток кортикостероидов, ключевых гормонов стресса, наиболее важным из которых является кортизол. У некоторых пожилых людей даже при отсутствии воздействия стрессоров отмечаются повышенные количества глюкокортикоидов в крови, что свидетельствует о хроническом стрессе и является патогенетической основой многих возрастных болезней. Так, по Дильману В.М. (1987) комплекс: гиперинсулинизм, снижение толерантности к углеводам и несбалансированный стресс – это патогенетическая основа старения и дегенеративных болезней.

У пожилых людей на стрессогенные факторы выделяется большее количество стероидов стресса (Дильман В.М., 1987). Стресс ускоряет старение, а старение увеличивает реакцию организма на стрессогенные факторы (Дильман В.М., 1983; Тодоров И.Н., Тодоров Г.И., 2003; Семенков В.Ф., 2011). Так, старые животные (собаки), по сравнению с молодыми, характеризуются

выделением большего количества АКТГ и кортизола при стрессе. Это увеличение отмечается в течение более длительного времени. В отсутствие стрессоров также отмечаются более высокие уровни этих гормонов (Rothuizen J., et al., 1991). По мнению Тодорова И.Н., Тодорова Г.И., (2003) и Дильмана В.М. (1982;1987) это отмечают и у людей, то есть пожилые люди испытывают чрезмерно сильный стресс-ответ. Они находятся в состоянии стресса даже тогда, когда стрессор не действует. Фролькис В.В. (1991) назвал этот феномен – возрастной стресс-синдром.

Активность стресс-лимитирующих систем представлена на уровне нервной, эндокринной, а также на уровне других физиологических систем (Меерсон Ф.З., Пшенникова М.Г., 1988). При активации центральных механизмов стресс-лимитирующих систем происходит торможение избыточного выделения рилизинг-факторов и, как следствие, избыточного выделения гормонов надпочечников и щитовидной железы.

Аналогичным образом на периферии действуют не менее важные регуляторные системы адениннуклеотидов, простагландинов, антиоксидантные системы. Они, выступая в роли модуляторов, могут ограничивать чрезмерные эффекты катехоламинов и других факторов. Эти модуляторы становятся основой десенситизации и предупреждают стрессорные повреждения (Меерсон Ф.З., 1988; Пшенникова М.Г., и др., 1992; Karaki S.-H., Kuwahara A., 2010).

1.3.2. ГАМК-эргическая система.

ГАМК (гамма-аминомасляная кислота) - медиатор тормозных синапсов. К ГАМК-эргической системе относятся интернейроны коры, нервные волокна, идущие от полосатого тела к бледному шару и черной субстанции, а также к клеткам Пуркинье мозжечка. С ГАМК-эргической системой связано и тормозящее влияние глицина, локализация которого ограничена нейронами ствола мозга и спинного мозга. Развитие торможения активности нейронов опосредовано открытием ионных хлорных каналов, что позволяет ионам Cl⁻ проникать в нейрон, вызывая их гиперполяризацию. В результате этого они

становятся менее чувствительными к внешним стимулам (Мейерсон Ф.З., Пшенникова М.Г., 1988).

1.3.3. Эндогенные опиоиды.

При воздействии стрессора в гипофизе возрастает продукция бета-липотропина, из которого образуются: энкефалины, эндорфины, динорфины (Harbach H., et al., 2008; Li X.H. et al., 2012; Barfield E.T., et al., 2013). Эти вещества вызывают эйфорию, снижают болевую чувствительность (как компоненты антиноцицептивной системы), повышают работоспособность, снижают чувство тревоги.

Общеизвестна высокая стресс-лимитирующая (Carey A. N., et al., 2009; Van't Veer A., et al., 2012), кардиопротекторная (Меерсон Ф.З., 1984; Лишманов Ю.Б., и др., 1999; 2007; Wong G.T., et al., 2012) и антиаритмическая (Маслов Л.Н., 2004; Shi Q.X., et al., 2012) активность опиоидов. Так, энкефалины и эндорфины могут модулировать синтез и секрецию гормонов стресса (Fazio E., et al., 2008). Существует тесное взаимодействие опиоидных пептидов с вегетативной нервной системой (Fechir M., et al., 2012), роль которой в механизмах стресса общеизвестна.

В экспериментальных исследованиях удалось выяснить, что даларгин, смешанный агонист μ - и δ -опиатных рецепторов, снижал выработку кортизола при холодовом стрессе (Мохаммед Т. Джабер Маяхи, 2012). Кроме того, установлены гастропротекторные эффекты даларгина в условиях стрессового воздействия (Животова Е. Ю., 2007; Оксюзян А.В., 2011). В слизистой оболочке желудка применение даларгина способствовало увеличению буферной емкости антирадикальной и антиоксидантной систем.

1.3.4. Простагландины.

В снижении побочных эффектов стресса принимают участие, главным образом, простагландины группы E (ПГЕ). Их продукция при стресс-реакции возрастает, так как глюкокортикоиды вызывают активацию перекисного

окисления липидов и выход лизосомальных ферментов, в том числе фосфолипазы А₂, которая участвует в образовании предшественника ПГ - арахидоновой кислоты. ПГЕ снижают чувствительность тканей к действию катехоламинов (за счет уменьшения концентрации свободных адренорецепторов и уменьшения эффективности их активации). Особенно это выражено в отношении чувствительности нейронов ЦНС к норадреналину. Кроме того, в условиях стресса ПГЕ стимулирует активность межнейронной передачи, что способствует активации ЦНС. Таким образом, простагландины снижают выраженность стресс-реакции (Белобородова Н.В., Белобородов С.М., 2000; Furuyashiki T., Narumiya S., 2011).

1.3.5. Антиоксидантная система.

При действии глюкокортикоидов активируется перекисное окисление липидов, образуются свободные радикалы, являющиеся важнейшими эффекторами «повреждения» в клетке. Антиоксиданты препятствуют этим процессам. В исследованиях Ranganna K. et al. (2003) установлена возможность эпигенетического воздействия КЦЖК на функции генов, обеспечивающих синтез компонентов антиоксидантных систем организма. Установлена активация генов, связанных со стрессом, которые обеспечивают синтез некоторых членов из семейства белков теплового шока (HSP), глутатион-S-трансферазы (GST), глутатион пероксидазы (GSH-PXs) и цитохрома P 450 (CYP).

1.3.6. Серотонинергическая система.

Нейроны серотонинергической системы находятся главным образом в переднем (ростральном) и заднем (каудальном) ядрах шва мозгового ствола. Отростки этих клеток разветвлены и проецируются на области коры переднего мозга, его желудочковую поверхность, мозжечок, спинной мозг и образования лимбической системы.

Серотонин производится и запасается в энтерохромоаффинных клетках, являющихся энтеро-эндокринными клетками желудочно-кишечного тракта.

Около 90% всего синтезируемого в теле человека серотонина образуется в энтерохромаффинных клетках (Амелин А.В., и др., 2000).

Тромбоциты поглощают серотонин из окружающей среды и накапливают его в значительном количестве при прохождении через сосуды желудочно-кишечного тракта и печени (Иззати-Заде К.Ф., 2007; Tseng Y.L., et al., 2013). Локализуется серотонин в тромбоцитах в виде сферических органелл, или, как их называют, аминовых гранул диаметром 1000—2000 А. В гранулах серотонин депонируется вместе с АТФ. На 1 моль АТФ приходится 2—3 моля серотонина. Тромбоциты играют роль циркулирующих резервуаров этого вещества.

Серотонинергическая система ствола мозга имеет афферентные и эфферентные связи со всеми отделами ЦНС. Стимуляция данной системы тормозит нейроны сенсорных путей спинного мозга, ствола и таламуса. При этом наиболее сильно угнетаются нейроны, передающие болевую информацию. Вовлекаются энкефалинергические вставочные нейроны, которые включают дополнительные механизмы пост- и пресинаптического торможения (Reikvam F.G., 2010).

1.3.7. Система белков теплового шока.

Белки теплового шока (БТШ) – это белки, экспрессия которых усиливается при стрессе. БТШ обнаружены в клетках практически всех живых организмов. БТШ действуют как внутриклеточные шапероны в отношении других белков. Шапероны - белки, восстанавливающие третичную структуру поврежденных белков. Соответственно, БТШ играют важную роль при фолдинге (спонтанном образовании третичной структуры белка) и сборке сложных белков, препятствуют нежелательной агрегации белков. БТШ стабилизируют частично свернутые белки и облегчают их транспорт через мембраны внутри клетки. У млекопитающих БТШ были подразделены на пять семейств в зависимости от их молекулярного размера: HSP100, HSP90, HSP70, HSP60 и малые БТШ. Наиболее изученными являются БТШ HSP90, HSP70 и

малые белки теплового шока HSP27 (Бобкова И.Н., и др., 2011; McNulty S., et al., 2013).

Итак, БТШ являются внутренним резервом, препятствующим повреждению клетки при стрессорном воздействии.

1.3.8. Мелатонин.

Мелатонин синтезируется в шишковидной железе и в периферических органах и тканях. Процесс, синтеза начинается с преобразования триптофана в серотонин. Серотонин переходит в N-ацетилсеротонин, а затем превращается в мелатонин (Klein D.C., 2007, Klein D.C., et al., 2010). После образования мелатонин не хранится в шишковидной железе, а диффундирует в капиллярную кровь и спинномозговую жидкость (Leston J., et al., 2010). Концентрация мелатонина в ликворе почти в 30 раз выше, чем в крови.

Мелатонин регулирует различные физиологические процессы, такие как, режим сна и бодрствования, функционирование иммунной системы, антиоксидантной системы, защиту от пролиферативных процессов (Парахонский А.П., 2007; Дмитрук В.С., Стрига Л.В., 2009; Srinivasan et al., 2005; Blask D.E., 2009).

Благодаря своей структуре, мелатонин способен «собирать» токсичные свободные радикалы, при этом уменьшая повреждение тканей. Мелатонин препятствует перемещению NF- κ B в ядро, тем самым, снижая выработку целого ряда провоспалительных цитокинов. Наконец, существуют косвенные доказательства того, что мелатонин подавляет производство молекул адгезии, которые способствуют прилипанию лейкоцитов к эндотелиальным клеткам (Guerrero J.M., et al., 2005).

1.4. Метаболиты симбионтного пищеварения и адаптация.

Симбионтное пищеварение происходит под влиянием ферментов, синтезированных микроорганизмами толстой кишки. Данный вид пищеварения приводит к образованию «вторичных нутриентов» (Уголев А.М., 1988).

Важнейшими вторичными нутриентами или метаболитами симбионтного пищеварения являются короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК), такие как уксусная (C2), пропионовая (C3), масляная (C4), валериановая и капроновая (C5 и C6) кислоты, образующиеся при ферментации нормофлорой пищевых волокон, обладающих широким спектром адаптивных функций, за счет активирования других стресс-лимитирующих систем (Ильина Н.О., др., 2006; Кузнецов В.Ф., и др., 2007, 2010).

КЦЖК - монокарбоновые кислоты с длиной цепи до 6 атомов углерода, поэтому их называют короткоцепочечными жирными кислотами. Они вырабатываются главным образом при ферментации анаэробными бактериями пищевых волокон. Образование КЦЖК может происходить из белков пищи и эндогенных белков, а также из отторгнутых эпителиальных клеток. Однако этот механизм носит сугубо заместительный характер из-за своей энергетической неэффективности (Шендеров Б.А., 1998; Namer H.M., 2009).

Неразветвленные КЦЖК образуются при условно анаэробном брожении пищевых волокон, а метаболизация белков ведет к образованию разветвленных кислот - изомасляной (из валина) и изовалериановой (из лейцина) (Шендеров Б.А., 1998; Белобородова Н.В., Белобородов С.М., 2000).

Основное место производства КЦЖК - кишечник, где ежедневно образуется 200-1000 ммоль КЦЖК (Шендеров Б.А., 1998). В меньших количествах КЦЖК образуются микроорганизмами ротовой полости и влагалища.

Содержание КЦЖК варьирует в разных отделах толстого кишечника. Так, в аутопсийном материале, полученном от людей, умерших от внезапной смерти, общая концентрация КЦЖК в химусе слепой кишки варьировала от 137 до 197 моль/кг сухого вещества, в химусе нисходящей ободочной кишки от 86 до 97 моль/кг сухого вещества (Macfarlane G.T., et al., 1992; Cummings J.H., et al., 1987). Эти авторы оценивали концентрацию КЦЖК у пациентов, имевших в анамнезе наложение колостомы на ободочную или сигмовидную кишки. У пациентов с колостомой на ободочной кишке концентрация КЦЖК в химусе

была значительно выше, чем в контрольной группе (1400 моль/кг сухого вещества). Концентрация же КЦЖК у лиц с колостомой, наложенной на сигмовидную кишку, была значительно ниже (550 моль/кг сухого вещества). Соответственно можно сделать вывод, что в ободочной кишке происходят основные процессы образования и всасывания КЦЖК. В соответствии с разностью концентраций КЦЖК меняется и рН. Так, рН является самой низкой в проксимальных отделах толстой кишки (рН \approx 5,6) и увеличивается в дистальном направлении толстой кишки (рН \approx 6,3).

Всасывание КЦЖК обеспечивается действием двух основных транспортных факторов: монокарбоксилатный транспортер изоформа 1 (MCT1), связанный с трансмембранным градиентом водорода (Cuff M, Dyer J, Jones M, Shirazi-Beechey S., 2005) и SLC5A8, связанный с градиентом Na⁺, также обозначаемый как натрий-зависимый монокарбоксилатный транспортер (SMCT1) (Gupta N., et al., 2006).

Следует отметить, что всасывание КЦЖК, а особенно бутирата, стимулирует всасывание натрия и воды, поэтому масляная кислота может рассматриваться как антидиарейный фактор (Hamer H.M., 2009).

С фекалиями экскретируется только около 5% КЦЖК (Topping D.L., Clifton P.M., 2001). Часть кислот в качестве энергетического субстрата утилизируется эпителиальными клетками кишечника, а основная доля кислот всасывается из нижнего отдела тонкого и из толстого кишечника, попадает в портальную вену, где концентрация КЦЖК достигает максимальных величин (до 800 ммоль/л) (Шендеров Б.А., 1998).

Достигнув печени, значительная часть КЦЖК сжигается в пероксисомах гепатоцитов. В крови, оттекающей от печени, концентрация КЦЖК существенно меньше и окончательной метаболизации кислоты подвергаются в клетках периферических тканей (Hamer H.M., 2009).

Общеизвестен широкий спектр адаптивных эффектов короткоцепочечных жирных кислот. В последние 15 лет эти вещества привлекают все большее

внимание исследователей человека, в результате чего была установлена их роль в ряде физиологических и патологических процессов.

1.4.1. Регуляция состава микрофлоры.

КЦЖК в физиологических концентрациях способны тормозить рост патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Ацетат по данным молекулярно-генетических исследований способен индуцировать активность не менее 100 генов симбиотических бактерий различных таксономических групп. Масляная кислота, наоборот, снижает регуляцию генов геномных «островов» патогенности, в частности, SPI -1, у *Salmonella enterica*. Благодаря этому они могут служить важным фактором в поддержании баланса микробной экосистемы. Как уже отмечено выше, они как препятствуют колонизации кишечника патогенными микроорганизмами, например, шигеллами и сальмонеллами, так и могут служить промоторами роста «полезных» анаэробных бактерий (Wolfe A.J., 2005).

1.4.2. Рост и пролиферация эпителия желудочно-кишечного тракта.

Общеизвестно, что одним из проявлений стресса является нарушение процессов апоптоза эпителия желудочно-кишечного тракта (Konturek P.C., et al., 1999). Масляная кислота, являющаяся основным источником питания колоноцитов, обеспечивает их энергией почти на 70%. Короткоцепочечные жирные кислоты через обеспечение энергетического обмена стимулируют пролиферацию кишечного эпителия (Karakı S.-H., Kuwahara A., 2010).

Масляная кислота действует на многие клеточные регуляторы, участвующие в дифференцировке эпителия толстого кишечника. Данное действие имеет дозозависимый эффект. При нормальном составе микрофлоры кишечника и достаточном количестве пищевых волокон нормализуются процессы выработки и утилизации КЦЖК. В физиологических концентрациях бутират нормализует процессы дифференцировки клеток эпителия толстого кишечника, препятствуя развитию полипов кишечника. Кроме того, в

физиологических концентрациях, КЦЖК препятствуют развитию рака молочных и предстательной желез (Lupton J.R., 2004).

Следует отметить важный факт, что в физиологических концентрациях КЦЖК стимулируют рост и пролиферацию нормальных клонов эпителиальных клеток, при этом, подавляя рост патологических клонов через апоптоз (Chirakkal H., et al., 2006; Hamer H.M., 2009).

Предпосылкой для подробного изучения влияния КЦЖК на пролиферацию эпителия явился тот факт, что в атипичных эпителиальных клетках толстого кишечника снижена активность основных транспортных переносчиков КЦЖК (MCT1 и SMCT1), а активность транспортера SMCT1 прямо пропорционально связана с выживаемостью пациентов с раком толстого кишечника (Paroder V., et al., 2006).

Механизмы антиканцерогенного действия КЦЖК, в частности бутирата, до сих пор четко не выявлены, но, по-видимому, они связаны с ингибированием гистондеацетилазы, что приводит к гиперацетилированию гистонов и повышению доступности транскрипторных факторов для нуклеосомной ДНК. Действие бутирата может осуществляться и через другие механизмы, такие как гиперацетилирование негистоновых белков, изменение метилирования ДНК, селективное ингибирование фосфорилирования гистонов и изменение внутриклеточной активности киназ. Эта множественность эффектов может лежать в основе способности бутирата модулировать экспрессию генов и воздействие на ключевые регуляторы апоптоза и клеточного цикла, такие как ингибитор p21^{Waf1/Cip1} и проапоптотический белок BAK (Davie J.R., 2003; Chirakkal H., et al., 2006; Hamer H.M., 2009). В исследованиях Dashwood R.H. et al., (2006) отмечено, что раковые клетки проявляют большую чувствительность к ингибированию гистондеацетилазы, чем нормальные клетки, но механизм селективного подавления бутиратом раковых клеток слабо изучен.

Интересным является и действие бутирата на систему активации плазминогена. Так, повышение активности активатора плазминогена коррелирует с более высоким инвазивным ростом раковой опухоли и является

фактором, ухудшающим прогноз у пациентов с раком толстой кишки (Berger D.H., 2002). В исследованиях *in vitro* и *in vivo* было показано, что бутират может изменять баланс различных компонентов PPS таким образом, что снижается активность активатора плазминогена (Gibson P.R., et al., 1994).

Другие механизмы антиканцерогенного эффекта бутирата связаны с повышением активности ферментов семейства глутатион-S-трансферазы (Ebert M.N., et al., 2003). Кроме того, бутират, возможно, оказывает тормозящее действие на развитие опухолевых клеток путем ингибирования экспрессии фактора ускоряющего инактивацию комплемента (Andoh A., et al., 2002) и про-метастатических металлопротеиназ (Rodriguez-Salvador J., et al., 2005, Zeng H., et al., 2005). Далее было высказано предположение, что бутират подавляет опухоль-индуцированный ангиогенез путем модуляции активности фактора роста эндотелия сосудов и гипоксия – индуцируемого фактора 1 α (HIF-1 α) (Zgouras D., et al., 2003).

Кроме того, выражен противовоспалительный эффект данных кислот, что в свою очередь снижает повреждение клеток эпителия желудочно-кишечного тракта. В купе всего выше сказанного, нормализация процесса выработки и утилизации КЦЖК обладает антиканцерогенным действием.

1.4.3. Противовоспалительные эффекты короткоцепочечных жирных кислот.

Наиболее изученным механизмом противовоспалительного действия короткоцепочечных жирных кислот является супрессия нуклеарного фактора каппа В (NF- κ B). NF- κ B – транскрипционный фактор, который контролирует экспрессию генов, кодирующих выработку провоспалительных цитокинов, хемокинов, провоспалительных ферментов, таких как индуцибельная NO-синтетаза и циклооксигеназа-2, молекулы адгезии, факторы роста, некоторых белков острой фазы. В исследованиях, проведенных на пациентах с язвенным колитом, было установлено, что бутират ингибировал чрезмерно активированный NF- κ B в эпителиальных клетках толстого кишечника, что

проявлялось в снижении индекса активности заболевания и инфильтрации тканей нейтрофилами и лимфоцитами. Многими исследованиями подтвержден тот факт, что ингибирование NF- κ B сочеталось с уменьшением концентрации миелопероксидазы, циклооксигеназы-2, молекул адгезии и провоспалительных цитокинов. Кроме того, ингибирование активации NF- κ B приводит к снижению выработки или действия интерферона гамма. КЦЖК оказывают противовоспалительное действие и через G-протеин связывающие рецепторы (GPCRs), которые экспрессированы на поверхности полиморфонуклеарных лейкоцитов и на клетках толстого кишечника (Andoh A., et al., 2003; Place R.F., et al., 2005; Karaki S.-H., Kuwahara A., 2010; Hamer H.M., 2009).

1.4.4. Влияние метаболитов симбионтного пищеварения на различные компоненты иммунной системы.

Важнейшим проявлением стресса является развитие инволюции органов лимфоидной ткани и увеличение проницаемости гематоинтестинального барьера. Следует отметить, что действие КЦЖК на функциональную активность иммунной системы имеет дозозависимый эффект.

В экспериментах *in vitro* установлено, что бутират, в зависимости от дозы и времени воздействия, способен подавлять жизнедеятельность Т-клеток. Так, масляная кислота вызывает апоптоз в тимоцитах после 6 часовой инкубации в концентрации 1,25 мМ, а в Т-клетках селезенки человека апоптоз наблюдался после 16 часов инкубации в 2,5 мМ растворе бутирата. Инкубация в 5 мМ масляной кислоты более 21 часа приводила к выраженным структурным изменениям ядра - конденсации хроматина и гипоплоидии ядра. Отмечается, что фрагментация ДНК наблюдалась преимущественно в CD⁴⁺ клетках, т.е. Т-хелперах (Kurita-Ochiai T., et al., 1997; Kurita-Ochiai T., et al., 1998).

Эти же исследователи описали влияние масляной кислоты на В-лимфоциты. Установлено, что фильтрат из культуры комменсалов полости рта (*P.gingivalis*, *P.loescheii* и *F.nucleatum*), содержащий высокие концентрации масляной кислоты, вызывал фрагментацию ДНК у клеток В-лимфомы.

Инкубация в течение 6 часов в среде с 1,25 мМ масляной кислоты приводила к апоптозу клеток. Инкубация более 16 часов сопровождалась такими явными апоптозными изменениями, как конденсация хроматина и гипоплоидия ядра. Апоптоз В-клеток, полученных из селезенки, также начинался с концентрации масляной кислоты 1,25 мМ. В культуре клеток В-лимфомы апоптоз наблюдался при концентрации 2,5 мМ. Кроме того, имеются данные, что бутират может вызывать апоптоз моноцитов, вызывая значительные повреждения в структуре мембраны клетки (Segal I., 1998).

Bohmig G.A. и др., (1997) в экспериментах *in vitro* показали, что масляная кислота подавляет способность Т-лимфоцитов отвечать на стимуляцию аутоантигенами.

Итак, в ранних исследованиях *in vitro* установлены дозозависимые эффекты КЦЖК на морфофункциональные характеристики Т- и В- лимфоциты.

У пациентов с воспалительными процессами различной локализации обогащение диеты натуральными комплексами ферментированных пищевых волокон и КЦЖК нормализует такие показатели неспецифического иммунитета как количество моноцитов, показатели фагоцитоза, концентрация IgA и IgM (Кузнецов В.Ф. и др., 2009).

В обзоре Schley P. D., Field C. J. (2002) приведены сведения о влиянии рациона, обогащенного трудно ферментируемыми пищевыми волокнами, на различные морфофункциональные параметры иммунной системы у различных видов животных (собаки, крысы, мыши). Представленные материалы свидетельствуют о благотворном влиянии энтерального использования пищевых волокон на различные компоненты иммунной системы.

В исследовании Milo L.A. et al., (2002) изучено влияние парентерального введения КЦЖК на состояние GALT-ассоциированной ткани у животных, находящихся на тотальном заместительном парентеральном питании. Следует отметить, что развитие инволюции лимфоидной ткани, ассоциированной с кишечником, у пациентов на полном парентеральном питании это закономерное явление, сопровождающееся риском развития различных

инфекционных осложнений, вследствие нарушения барьерной функции кишечной стенки. В данной работе установлено, что у животных на полном парентеральном питании инволюция GALT-ассоциированной ткани выражается в снижении уровня провоспалительных цитокинов в стенке кишечника (IL1, IL-6, TNF). У группы животных, получавших в дополнение к парентеральной терапии КЦЖК, уровень цитокинов в тканях кишечника возрастал, а в плазме крови различий по концентрации в этих двух группах выявлено не было.

В исследовании, проведенном Кузнецовым В.Ф. и соавт., (2009) установлено, что *in vivo* у пациентов с рецидивирующими воспалительными процессами различной локализации добавление в диету комплекса ферментированных пищевых волокон и КЦЖК способствовало нормализации концентрации IL-1 β .

Особого внимания заслуживает влияние КЦЖК на иммунокомпетентные клетки в просвете толстого кишечника.

Короткоцепочечные жирные кислоты в высоких концентрациях – являются активными иммуносупрессивными молекулами. КЦЖК в просвете толстого кишечника достигают достаточных концентраций для подавления активности местных тканевых макрофагов, лимфоцитов и других иммунокомпетентных клеток, поэтому не наблюдается постоянного процесса активации воспаления в месте контакта микрофлоры с внутренней средой организма (Белобородова Н.В., Белобородов С.М., 2002).

Следует упомянуть и о феномене транзиторной транслокации бактерий из просвета кишечника во внутренние среды организма. Данный процесс транслокации бактерий, более или менее выраженный, наблюдается постоянно в силу не абсолютной «герметичности» эпителиальных барьеров, и является физиологичным. Усиление этого процесса закономерно при стрессовых воздействиях. Бактерии или их частички постоянно поступают в кровоток и быстро элиминируются. При этом процесс активации фагоцитов сдерживается какими-то факторами торможения. Если бы не такой сдерживающий фактор,

постоянно наблюдалась бы картина активного септического процесса. В этом мало изученном механизме торможения воспалительных реакций, по-видимому, немалая роль принадлежит КЦЖК (по крайней мере - масляной кислоте), которые вводят клетки иммунной системы в состояние полудремы и тормозят их реактивность в этих ситуациях. В макрофагах, находящихся в сосудах микро-циркуляторного русла кишечника, процесс фагоцитоза полностью не завершается. Далее в условиях более низкой концентрации КЦЖК данный процесс завершается. Торможение фагоцитарной активности является одним из механизмов, препятствующим развитию септического процесса при бактериальной транслокации (Miragliotta G., et al., 1993; Hamer H.M., 2009).

Как уже было отмечено, кишечный эпителий использует КЦЖК как субстрат для питания и как фактор роста. Короткоцепочечные жирные кислоты способствуют укреплению барьера между микрофлорой и внутренней средой, снижая транслокацию микроорганизмов (Косарева П.В., 2010; Willemsen L.E, et al., 2003; Hamer H.M., 2009).

Далее следует отметить, что для развития нормального локального иммунного ответа необходимо наличие в кишечнике бактерий-комменсалов, при этом иммунная система распознает их постоянно, обеспечивая толерантность и контролируя воспаление (Broad A. et. al., 2006). Кишечный эпителий определяет присутствие бактерий-комменсалов через паттерн-распознающие рецепторы, к которым относятся Toll-подобные (ТПР) и внутриклеточные NOD-подобные рецепторы. Паттерн-распознающие рецепторы идентифицируют структуру бактерий и вирусов и запускают провоспалительные механизмы путем NF-kB (Macdonald T.T., Monteleone G., 2005). В норме активация ТПР сопровождается усилением естественной резистентности, обеспечивающей гомеостаз желудочно-кишечного тракта и дает возможность избежать проникновения патогенных бактерий и повреждения эпителия. Нарушение регуляции взаимодействия ТПР и NF-kB

является одним из механизмов развития таких воспалительных заболеваний как язвенный колит и болезнь Крона (Hamer H.M., 2009).

Интересным является влияние КЦЖК на антимикробные пептиды, к которым относятся дефенсины и кателицидин.

Дефенсины - богатые цистеином полипептиды, впервые обнаруженные в нейтрофилах. Их механизм действия на микроорганизмы выражается в нарушении проницаемости их мембран. Они синтезируются только нейтрофилами, что позволяет считать их специфическими клеточными маркерами этих клеток. Активация нейтрофилов при инфекционных и воспалительных процессах приводит к быстрому высвобождению дефенсинов, которые затем обнаруживаются в плазме и других жидкостях организма (Будихина А.С., Пинегин Б.В., 2008; Schaubert J., et al., 2003). По данным Sumako Y., et al. (2007) в норме в плазме содержится низкий уровень дефенсинов (от неопределяемых величин до 50-100 нг/мл), но в условиях септического процесса содержание этих молекул может возрасти до 10 мг/мл и выше. В дополнение к микробицидному действию дефенсины проявляют также хемотаксическую, иммуномодулирующую и цитотоксическую активность (Ильяшенко М.Г., и др., 2012).

Кателицидины – семейство антимикробных белков, которые присутствуют в пероксидаза-отрицательных гранулах нейтрофилов. Человеческий катионный антимикробный белок является к настоящему времени единственным идентифицированным человеческим кателицидином (Будихина А.С., Пинегин Б.В., 2010; Ильяшенко М.Г., и др., 2012). Помимо нейтрофилов, данный белок выявлен в лимфоцитах и моноцитах, в сквамозном эпителии (рта, языка, пищевода, шейки матки), эпителии легочной ткани, кератиноцитах, при воспалительных заболеваниях (Будихина А.С., Пинегин Б.В., 2010). Установлено, что КЦЖК в толще слизистой кишечника вызывают торможение функции фагоцитов и нормализацию выработки дефенсинов и кателицидинов (Schaubert J., et al., 2003).

Как уже было отмечено выше, КЦЖК в физиологических концентрациях нормализуют активность NF-kB и активируют активность нормофлоры толстого кишечника (Andoh A., et al., 2003; Place R.F., et al., 2005; Wolfe A.J., 2005).

Таким образом, КЦЖК - противовоспалительный фактор, в норме выполняющий физиологическую противовоспалительную роль в поддержании гомеостаза малых молекул микробного происхождения в организме хозяина, препятствуя развитию чрезмерного воспалительного процесса в различных органах и системах.

1.4.5. Короткоцепочечные жирные кислоты и проницаемость гематоинтестинального барьера.

Общеизвестно, что нарушение барьерной функции кишечника является одним из проявлений дистресса (Селье Г., 1960; Долгушин И.И., и др., 1989; Косарева П.В., 2010; Vortolin L., et al., 2011). Диета, обогащенная натуральными комплексами ферментированных пищевых волокон с КЦЖК, нормализует процессы апоптоза клеток стенки толстого кишечника, усиливающиеся при стрессе (Косарева П.В., 2010). Следует отметить, что это не единственный механизм, с помощью которого восстанавливается гематоинтестинальный барьер.

КЦЖК, образуемые при ферментации пищевых волокон, обладают противовоспалительным эффектом, уменьшают оксидативный стресс, влияют на лимфоидные компоненты толстой кишки, усиливая ее барьерную функцию (Hamer M.H., 2009).

Одним из важнейших факторов, определяющих барьерную функцию, является покрывающая эпителий выстилка, состоящая в основном из муцина. Муцин – это смесь гликопротеинов, включающая сульфомуцин и сиаломуцин (Vukobrat-Bijedic Z., et al., 2006).

Выработка муцина детерминирована генами выработки муцина (MUC). MUC наиболее сильно экспрессирован в клетках толстого кишечника

(Hatayama H., et al., (2007). Изменения в составе муцина характерны для воспалительных заболеваний толстого кишечника. Например, толщина слизи и выраженность экспрессии MUC снижается у пациентов с язвенным колитом.

Далее установлено, что КЦЖК, в частности бутират, способен увеличивать выраженность экспрессии MUC в клетках толстого кишечника. В эксперименте на животных было показано, что бутират в концентрации 5 ммоль/л способен увеличивать секрецию муцина колоноцитами (Willemsen L.E., et al., 2003; Augenlicht L., et al., 2003, Gaudier E., et al., 2004, Hatayama H., et al., 2007).

Существует взаимосвязь между видом пищевого волокна и его действием на секрецию муцина. Так, в эксперименте на крысах назначение клетчатки приводило к увеличению секреции муцина, но не влияло на количество бокаловидных клеток, а энтеральное использование олигофруктозы приводило к увеличению количества этих клеток у свиней (Milo L.F., et al., 2002; Hamer M.H., 2009).

Очень интересно влияние КЦЖК на так называемый фактор трилистника (англ. Trefoil factors) (TFF). TFF – это муцин-связанный пептид, определяющий такие свойства слизистого слоя как вязкость и упругость (Hamer M.H., 2009).

Кишечный фактор трилистника (TFF3), являющийся одним из подтипов TFF, экспрессируется только на поверхности бокаловидных клеток. В экспериментальной модели TNBS колита (при введении тринитробензенсульфоната) у крыс было выявлено выраженное снижение экспрессии TFF3 в активной фазе болезни. Использование бутирата увеличивало экспрессию TFF3 на поверхности нормальных колоноцитов, но ингибировало в клетках рака толстой кишки у крыс (Loncar MB., et al., 2003).

Другими компонентами, обеспечивающими поддержание барьерной функции толстого кишечника, на которые действуют КЦЖК, являются транскламиназа, антимикробные пептиды и уже упомянутые белки теплового шока (БТШ) (Hamer M.H., 2009).

Так же в экспериментах *in vivo* у крыс бутират в физиологических концентрациях способен нормализовать активность трансглутаминазы в экспериментальной модели колита. Трансглутаминаза – энзим, способствующий восстановлению мукозного слоя, путем «склеивания» структурных белков. Активность энзима компенсаторно повышается при воспалительных процессах в толстом кишечнике (D'Argenio G., et al., 1994).

Изучено влияние КЦЖК на активность БТШ, которые обеспечивают защиту от воспаления путем подавления выработки провоспалительных медиаторов. В исследованиях влияния КЦЖК на экспрессию БТШ отмечается неоднозначность конечных эффектов. В некоторых исследованиях отмечается способность КЦЖК индуцировать экспрессию БТШ на поверхности эпителиальных клеток толстого кишечника у крыс (Arvans D.L., et al., 2005). В исследованиях с моделью индуцированного DSS колита (колита, индуцированного введением декстран натрия сульфата) у крыс, бутират ингибировал экспрессию БТШ. Это рассматривается как возможный механизм «защиты от выживания» поврежденных клеток, либо как механизм, препятствующий увеличению проницаемости слизистой и инфильтрации ее нейтрофилами (Namer H.M., 2009). Итак, КЦЖК индуцируют БТШ до повреждения, увеличивая резистентность клеток, а после травмы, способствуют снижению экспрессии БТШ, что снижает выживаемость поврежденных клеток.

Кроме того, имеются данные о том, что *in vivo* в исследованиях с линиями человеческих клеток рака толстой кишки, бутират участвует в заживлении слизистой оболочки после повреждения за счет увеличения скорости миграции клеток. Эффективность данного процесса при поверхностных повреждениях слизистой оболочки и при развитии язвенной патологии является важным фактором для сохранения и восстановления эпителиального барьера (Wilson A.J., Gibson P.R., 1997).

Таким образом, КЦЖК нормализуют барьерную функцию ЖКТ путем метаболической поддержки клеток стенки толстой кишки (1), регуляции процессов апоптоза (2), за счет воздействия на секрецию муцина (3) и влияния

на клеточную эпителиальную миграцию (4), а также на выработку белков теплового шока (5).

1.4.6. Короткоцепочечные жирные кислоты и процессы всасывания в кишечнике.

Способность всасывать вещества, находящиеся в просвете ЖКТ, является важнейшим фактором обеспечения жизнедеятельности макроорганизма. При нормальных условиях эпителий обладает высокой селективной проницаемостью и препятствует прохождению токсичных и провоспалительных молекул из внешней среды в подслизистый слой и кровотока (Walsh S.V., et al., 2000). Повышенная проницаемость, указывающая на нарушение функции эпителиального барьера, играет большую роль в развитии желудочно-кишечных воспалительных заболеваний.

Изучены эффекты КЦЖК в отношении кишечной проницаемости в различных экспериментальных моделях. В низких концентрациях бутират (до 2 ммоль/л) уменьшает проницаемость эпителиальной выстилки толстого кишечника человека (Bordin M., et al., 2004; Ohata A., et al., 2005 Peng L., et al., 2007). В более высоких концентрациях (8 ммоль/л) бутират способствовал увеличению проницаемости эпителиальной выстилки толстого кишечника (Peng L., et al. 2007). Подобные данные были получены в эксперименте на крысах, получавших диету содержащие быстроферментируемые пищевые волокна - фруктоолигосахариды (ФОС). Быстрая бактериальная ферментация ФОС привела к накоплению высоких концентраций бутирата, что привело к увеличению кишечной проницаемости (Hamer M.H., 2009).

Проведено клиническое исследование у пациентов с пиелонефритом, в котором установлено, что добавление в питание комплекса трудно ферментируемых пищевых волокон и ФОС, позволило ускорить процесс санации органов мочевыделительной системы (Косарева П.В., 2010). Данные лабораторных исследований на крысах позволяют сделать заключение, что данный комплекс способствовал укреплению барьерной функции толстого

кишечника и позволял нормализовать процессы всасывания (Косарева П.В., 2010).

Все выше перечисленное, позволяет сделать вывод, что влияние КЦЖК на кишечную всасываемость зависит от их концентрации. Эти эффекты КЦЖК в клинической практике практически не изучены.

1.4.7. Короткоцепочечные жирные кислоты и оксидативный стресс.

Как уже было сказано, КЦЖК обладают антиканцерогенным и противовоспалительным действием. В обоих этих процессах оксидативный стресс играет большую роль. Окислительный стресс является результатом дисбаланса между генерацией активных форм кислорода и азота и антиоксидантными защитными механизмами, приводящего к развитию каскада реакций, в которых могут повреждаться липиды, белки и ДНК (Шапошников А.В., Рядинская Л.А., 2010).

В исследованиях, проведенных на колоноцитах крыс и человека, установлено, что под влиянием бутирата снижалось H_2O_2 -индуцированное повреждение ДНК (Stein K., et al., 2010).

Установлено, что КЦЖК способствуют восстановлению структуры ДНК и увеличению активности антиоксидантных систем (Hamer H.M., 2009). Так, например, ферментация пищевых волокон с образованием КЦЖК приводит к снижению активности миелопероксидазы и восстановлению концентрации глутатиона при TNBS-индуцированном колите в эксперименте у крыс (Rodriguez-Cabezas M.E., et al., 2002).

1.4.8. Короткоцепочечные жирные кислоты и регуляция моторики кишечника.

Различные вещества, введенные в толстый кишечник, способны влиять на его моторику. В качестве первого уровня восприятия информации служат энтероэндокринные клетки или специализированные эпителиальные клетки.

Несмотря на огромное физиологическое значение, механизмы изменения активности толстого кишечника его содержимым остаются мало изученными.

На поверхности слизистой оболочки кишечника выделены рецепторы, сопряженные с G белком (GPCRs) (Karakı S.-H.; Kuwahara A., 2010; Tazoe H., et al., 2010). Среди них выявлены рецепторы для короткоцепочечных жирных кислот. К семейству рецепторов GPCR, аффинных к КЦЖК, относятся FFA2 (синоним GPCR43) и FFA3 (синоним GPCR41) (Karakı S.-H., Kuwahara A., 2010; Schmidt J., et al., 2010).

С 2009 года в литературе появляются упоминания о наличии рецепторов для КЦЖК на поверхности энтерохромаффинных клеток, вырабатывающих серотонин. Установлено, что пропионат активируют выработку серотонина и гистамина энтероэндокринными клетками. Эти нейромедиаторы действуют на рецепторы афферентных волокон блуждающего нерва и инициируют рефлекторное изменение моторики кишечника (Karakı S.-H., Kuwahara A., 2010).

С другой стороны, на гладкой мускулатуре толстого кишечника выявлены рецепторы к КЦЖК. Так, на поверхности циркулярной мускулатуры толстого кишечника, ответственной за ритмичное и спонтанное сокращение кишечника, выявлены рецепторы к КЦЖК, которые возбуждаются под действием пропионовой кислоты, что выражается в снижении частоты ритмических сокращений, но в увеличении их амплитуды. Однако ацетат и бутират не оказывали подобного действия (Tazoe H., et al., 2010). Кроме того, пропионат увеличивает частоту спонтанных сокращений кишечника в условиях их блокады атропином. Вероятно, подобное действие пропионата опосредовано через активацию холинэргических мотонейронов. Крайне интересным представляется влияние КЦЖК на спонтанное сокращение продольной мускулатуры кишечника. Так, уксусная кислота снижет частоту сокращения продольной мускулатуры в дистальных отделах толстого кишечника, а пропионат, как в ситуации с циркулярными мышечными волокнами, увеличивает частоту спонтанных сокращений. Такой выраженный эффект

пропионата связан с тем, что под его действием увеличивается высвобождение серотонина из энтерохромаффинных клеток. С другой стороны, КЦЖК снижают моторику ЖКТ через увеличение высвобождения из энтерохромаффинных клеток пептида YY (Freeland K.R., Wolever T.M., 2010), функцией которого является снижение желудочной, желчной и панкреатической секреции, и уменьшение моторной активности желудочно-кишечного тракта (Маев И.В., Самсонов А. А., 2005).

Однако следует отметить, что данные эффекты имеют выраженный дозозависимый эффект, в связи, с чем крайне важным являются физиологические концентрации и соотношения различных видов КЦЖК в просвете кишечника.

Этим двойным механизмом объясняется тот факт, что КЦЖК нормализуют моторику толстого кишечника, как при его гипокинезии, так и при гиперкинезии.

Заключение.

Исходя из всего выше изложенного материала, можно сделать следующие выводы:

В настоящее время огромное внимание уделяется адаптации организма к стрессовым воздействиям. В рамках данного вопроса особо интересно функционирование стресс-лимитирующих систем и принципов регуляции стрессорных гормонов не только в молодом и зрелом возрасте, но и при старении. В последние два десятилетия наибольший интерес представляют работы, посвященные адаптивным свойствам метаболитов симбионтного пищеварения и мелатонину. Сейчас известно, что стресс-лимитирующие системы функционируют в тесной интеграции (1). Резистентность организма к стрессовым воздействиям повышается как за счет нормализации, так и активации деятельности адаптационных систем (2). Метаболиты симбионтного пищеварения в моделях *in vitro* и *in vivo* обладают широким спектром адаптивных возможностей (3). Адаптивные эффекты КЦЖК связаны со

стимуляцией работы других адаптационных систем (серотонин- эргическая система, система белков теплового шока, система простагландинов, антиоксидантная система и др.) (4).

Отсутствует информация о комплексной реализации адаптивных эффектов КЦЖК на уровне макроорганизма в моделях *in vivo* при стрессе (1). Отсутствует информация о влиянии экзогенно введенных КЦЖК и ПВ, из которых они образуются, на метаболизм эндогенного серотонина в норме и при стрессе (2). Не достаточно изучены патоморфологические особенности проявления дистресса в пожилом возрасте (3). Не достаточно изучены возрастные особенности коррекции стресса при использовании продуктов симбионтного пищеварения (4).

Глава 2. Материалы и методы исследования.

В работе использован комплекс экспериментальных, гематологических, морфометрических, физико-химических и статистических методов исследования.

2.1. Экспериментальные методы исследования.

2.1.1. Экспериментальные животные.

В работе использованы самцы белых беспородных крыс в возрасте 6 месяцев и старше 1,5 лет. Масса молодых животных составила 231 (224-258) г. Масса старых животных составила 268 (228-318) г. Различий между группами в весе не выявлено ($p_U=0,0714$). Животных содержали в стандартных условиях экспериментально-биологической клиники – вивария (свободный доступ к пище и воде и 12-14 часовой световой день).

2.1.2. Характеристика особенностей моделирования стресса у животных различных возрастных групп.

Содержание самцов совместно с самками способствует реализации полового и социального поведения, что выражается во внутригрупповой агрессии. Это приводит к увеличению кортикостероидов в периферической крови, а также веса надпочечников в сравнении с колониями, состоящими только из самцов (Taylor G.T., et al., 1986; Clougherty J.E., et al., 2010). Совместное содержание животных разных по социальному уровню также является значительным стрессом для «не доминантных» самцов (Engler H., et al., 2003).

В ходе исследования экспериментальные животные в возрасте 6 месяцев (молодые животные) были разделены на следующие группы:

1-я группа (стресс-контроль) – возраст 6 месяцев; содержалась на типовом рационе, подвергалась голодовому воздействию ($n=7$);

2-я группа (стресс-воздействие) – возраст 6 месяцев; содержалась на типовом рационе, дополнительно в течение 14 дней получала БАД «Рекицен-РД®», затем подвергалась голодовому воздействию ($n=7$).

Поскольку старение – это вариант физиологического стресса животные в возрасте старше 18 месяцев разделены на следующие группы:

3-я группа (условный контроль) – возраст старше 1,5 лет; содержалась на типовом рационе (n=8);

4-я группа (стресс-контроль) – возраст старше 1,5 лет; содержалась на типовом рационе, подвергалась холодовому стрессу (n=8);

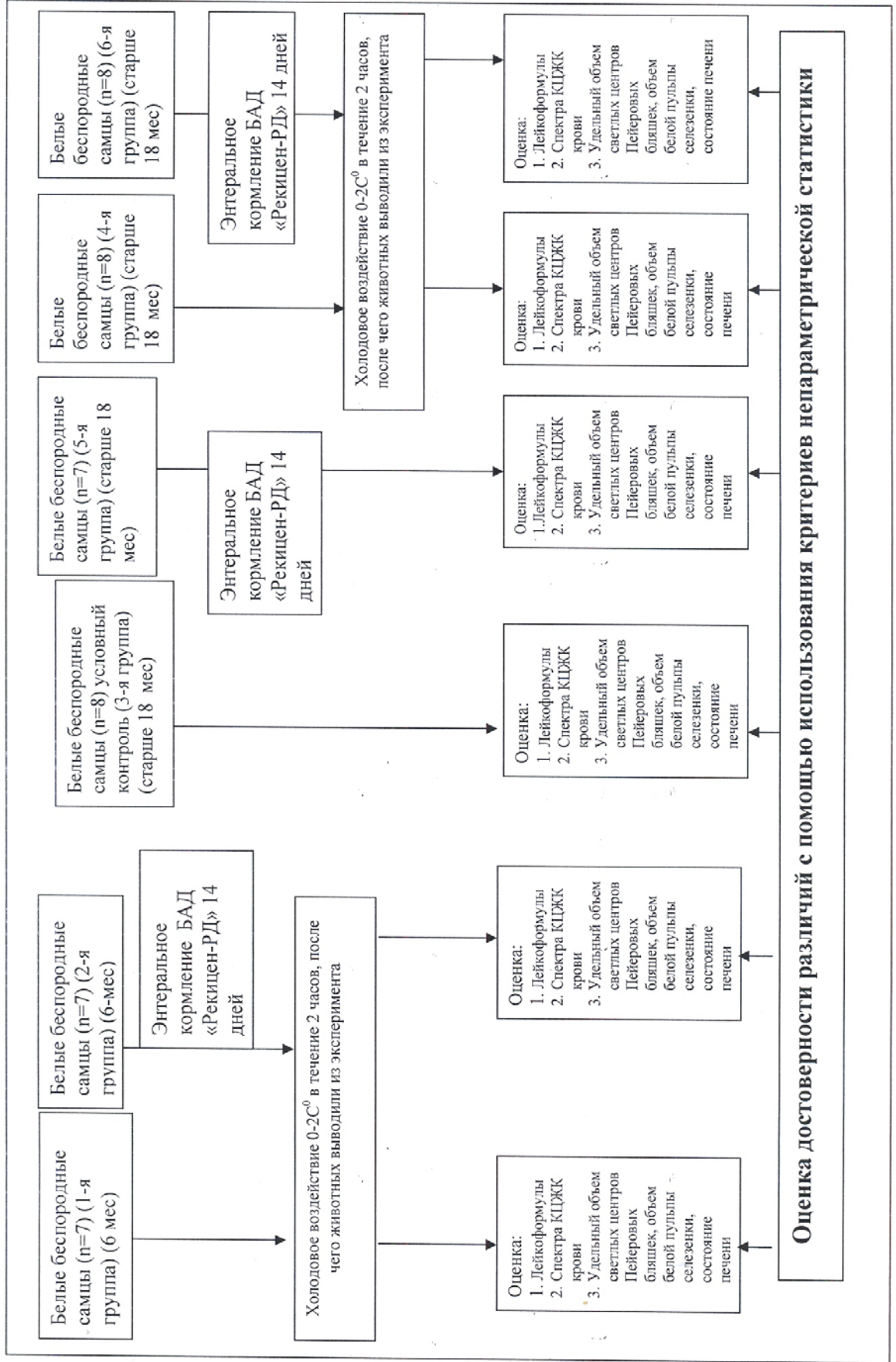
5-я группа – возраст старше 1,5 лет; получала типовой рацион с добавлением БАД «Рекицен-РД®» в течение 14 дней, (n=7);

6-я группа (стресс-воздействие) – возраст старше 1,5 лет; получала типовой рацион с добавлением БАД «Рекицен-РД®» в течение 14 дней, затем подвергалась холодовому воздействию (n=8).

Условно контрольная группа старых животных сформирована для изучения влияния комплекса короткоцепочечных жирных кислот и ферментированных пищевых волокон на проявления физиологического хронического стресса. Условный контроль целесообразен, поскольку в доступной литературе отсутствуют данные о наличии у старых крыс агрессии, связанной с социальным стрессом.

Исследования выполнены в соответствии с общепринятыми этическими нормами. При проведении работ учитывали: «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу МЗ СССР от 12.08.1977 г. N 755) и «Европейскую конвенцию о защите животных, используемых для экспериментов или в иных целях» от 18 марта 1986 г. Экспериментальные исследования с использованием лабораторных животных проведены на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории Государственного бюджетного учреждения высшего профессионального образования «Пермская государственная медицинская академия имени академика Е.А. Вагнера» Минздрава России, имеющего разрешение на работу с экспериментальными животными.

Схема экспериментального исследования влияния влияния комплекса КЦЖК и ФПВ на морфофункциональные проявления стресса



Животные получали типовой рацион вивария в соответствии с нормами, утвержденными приказом Минздрава СССР от 10 марта 1966 г. № 163 и Приказом Минздрава СССР от 10.10.83 № 1179 (пункт 4.1):

- Комбикорм-концентрат гранулированный - 50,0 г;
- Творог обезжиренный - 6,0 г;
- Морковь – 20,0 г;
- Зелень из пророщенного овса – 15,0 г;
- Итого кормов в рационе– 91,0 г.

2.1.3. Экспериментальная модель для изучения влияния продуктов симбионтного пищеварения на процессы жизнедеятельности белых беспородных крыс.

Для изучения влияния продуктов симбионтного пищеварения на процессы жизнедеятельности экспериментальных животных в корм части животных в качестве компонента функционального питания добавляли БАД «Рекицен-РД». Название продукта образовано в результате сокращения словосочетания «регулятор кишечных ценозов растительно-дрожжевой».

Биологически активная добавка «Рекицен-РД» является натуральным комплексом ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот и ее используют для устранения дефицита в питании пищевых волокон (регистрационное свидетельство № RU.77.99.11.033.Е.005203.03.12 от 15.03.2012). Определение содержания короткоцепочечных жирных кислот в данном продукте было осуществлено с использованием метода газожидкостной хроматографии в лаборатории генетики вирулентности бактерий НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН профессором В.М. Бондаренко (Кузнецов В.Ф., и др., 2007). В «Рекицен-РД» содержатся все виды короткоцепочечных жирных кислот. Их соотношение и концентрация находятся в пределах физиологических норм, соответствующих нормальному содержанию короткоцепочечных жирных кислот в просвете толстого кишечника человека.

Энтеральное использование данного продукта на первом этапе обеспечивает заместительную терапию дефицита КЦЖК, являющуюся вполне физиологичной (Кузнецов В.Ф., и др., 2007). На втором этапе в толстом кишечнике происходит метаболизация нормофлорой ферментированных пищевых волокон, содержащихся в БАД «Рекицен-РД», с образованием новых порций короткоцепочечных жирных кислот. Таким образом, корпускулы ФПВ являются предшественниками КЦЖК.

Дефицит ПВ является существенным фактором риска некоторых патологических процессов и нозологических форм: нтоксикации, нарушения функций иммунной системы, дисбактериоза, воспалительной и онкологической патологии толстого кишечника, нарушений углеводного (сахарный диабет 2-го типа) и липидного (атеросклероз, ожирение) обмена, а также нарушений метаболизма женских и мужских половых гормонов, приводящих к онкологической патологии предстательной и молочных желез (Кузнецов В.Ф., и др. 2009; Давидов М.И., и др. 2012; Schley P.D., Field C.J., 2002). Следовательно, устранение дефицита ПВ обеспечивает профилактику представленных заболеваний.

Учитывая выше сказанное, продукт используется в качестве профилактического средства практически здоровыми людьми при воздействии неблагоприятных экологических и производственных факторов, при повышенном риске формирования дисбактериоза, онкологических заболеваний, сахарного диабета, иммунной недостаточности (Кузнецов В.Ф., и др., 2007).

БАД «Рекицен-РД» применяют в дополнение к лекарственной терапии при широком спектре заболеваний человека и животных. Прием данного продукта усиливает эффективность лекарственной терапии при инфекционном простатите (Давидов М.И., и др., 20012), сальмонеллезе у детей (Золотарев Ю.В., 2000), пиелонефрите у детей (Косарева П.В., 2010), при химиотерапии неходжкинских лимфом (Загоскина Т.П., 2003), лучевой терапии при онкологической патологии (Василькова Н.И., Ананьева Е.Н., 2005), туберкулезе (Мотовилова В.П., Дейниченко Е.А., 2001) и др. заболеваниях человека.

Биологически активная добавка «Рекицен-РД» выпускается ЗАО «Ягодное», г. Киров, д. Югрино. Данный продукт после механического измельчения в ступке добавляли в корм в количестве 1,5-2 г/сутки. При подборе дозировок натуральных комплексов ФПВ и КЦЖК (Рекицен-РД) учитывали рекомендации Buddington К.К., Donahoo J.B., Buddington R.K. (2002). Особенности воздействия натуральных комплексов ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот после энтерального использования оценивали при стрессе на основании изменения физиологических показателей, на основании определения изменения абсолютных показателей спектра КЦЖК в крови, а также изучения корреляционных связей этих показателей с показателями, характеризующими состояние физиологических систем экспериментальных животных.

2.1.4. Экспериментальная модель острого холодового стресса.

Особенностями холодового стресса является выраженная активация симпатoadреналовой оси стресса, снижение активности ферментов антиоксидантной защиты, увеличение активности щитовидной железы, увеличение количества провоспалительных цитокинов (Adachi M., et al., 2003; Al-Ayadhi L.Y., et al., 2006; Yildirim N.C., Yurekli M., 2010). Данная модель, на наш взгляд, является наиболее удобной при изучении влияния стресса на старых животных, поскольку с возрастом снижаются адаптивные возможности сердечно-сосудистой системы, функциональная активность антиоксидантных систем, обменные процессы в печеночной ткани. Следовательно, даже мало выраженное холодовое воздействие на организм старого животного способно вызвать дистресс (Avakian E.V., et al., 1984).

Стрессорное холодовое воздействие (Аверьянова Н.И., Зимушкина Н.А., Косарева П.В., Кочинова Т.В., Логинова И.А., Самоделкин Е.И., Черешнев В.А., 2009) осуществляли в течение 2-х часов при температуре 0-(+2)°С. Животных в индивидуальных боксах помещали в холодильную камеру с зарегистрированной температурой. После 2-х часов холодового воздействия

животных, в течение 20-30 минут, выводили из эксперимента. Выведение из эксперимента осуществлялось путем перерезки спинного мозга под эфирным наркозом с соблюдением правил эвтаназии.

В доступной литературе имеется описание различных морфофункциональных проявлений стрессорного холодового воздействия меньшей интенсивности. Так после экспозиции самцов крыс при температуре +4 °С в течение 30 минут в фазу тревоги было отмечено уменьшение концентрации уровня холестерина в надпочечниках и повышение кортизола крови (Walker B.L., Carney J.A., 1971). После экспозиции животных при аналогичной температуре в течение 2-х часов также отмечается увеличение уровня кортизола, сопровождающееся с увеличением активности печеночной Cu/Zn-супероксиддисмутазы (Zlatkovic J., Filipovic D., 2011; Filipovic D., et al., 2013). Увеличение активности данного фермента происходит компенсаторно в ответ на активацию перекисного окисления липидов, являющегося одним из проявлений стресса (Калиниченко Л.С., 2012).

У крыс линии Wistar холодовое воздействие (+4°C) в течение двух часов вызывает увеличение концентрации провоспалительных цитокинов IL-1 β в клетках астроглии ЦНС (Sugama S., et al., 2011). Данный феномен является одним из основных механизмов развития гиперальгезии при различных патологических состояниях (Абрамов Ю.Б., 2009). Кроме того, подобное воздействие способствовало возникновению гиперактивности детрузора мочевого пузыря, связанной с гиперактивацией симпатического отдела нервной системы (Imamura T., et al., 2013).

В исследовании, проведенном на базе Пермской государственной медицинской академии, установлено, что экспозиция животных в течении двух час при 0-+2o приводит к увеличению выраженности апоптоза эпителиальных клеток толстого кишечника, что выражается в увеличении экспрессии Fas-лиганда на поверхности колоноцитов, развитию гиперплазии пучковой зоны коры надпочечников и постстрессорной бактериальной транслокации (Косарева П.В., 2010).

2.2 Гематологические, гистохимические, морфометрические, химические методы исследования.

Сразу после наступления биологической смерти животного забирали кровь и органы: надпочечник, селезенка, Пейеровы бляшки (агрегированные лимфоидные узелки), печень.

Таблица 1

Методы окрашивания, использованные в работе для светооптического исследования крови и образцов тканей неллинейных белых крыс

Методика окрашивания	Цель исследования
По Романовскому-Гимзе	Оценка лейкоцитарного состава периферической крови
Метод Фонтана – Масона	Подсчет гранул серотонина в тромбоцитах периферической крови
Гематоксилином и эозином	Микроскопия надпочечника, селезенки, Пейеровых бляшек, печени

2.2.1. Гематологические методы исследования.

Гематологические методы исследования (Никитин В.Н., 1949; Козловская Л.В., Мартынова М.А., 1975) включали определение количества лейкоцитов, нейтрофилов и лимфоцитов. Осуществление оценки данных показателей целесообразно, поскольку система крови является закономерной «мишенью» стресс-реализующих систем при моделировании стресса.

Показатели периферической крови были изучены с использованием рутинных лабораторных методов. Определяли количество лейкоцитов по общепринятой методике: в пробирку вносилось 0,4 мл уксусной кислоты, затем 0,02 мл крови, далее проводился подсчет в камере Горяева в 100 больших квадратах.

Для подсчета лейкоцитарной формулы из нативной капли крови готовили мазок, фиксировали в смеси Никифорова, окрашивали по Романовскому-Гимзе.

Окрашенные мазки микроскопировали под иммерсией (Micros, Austria, x 1000), проводили подсчет лейкоцитарной формулы, определяя относительное содержание клеток в мазке, после чего высчитывали абсолютные значения (абс. колич. = абс. колич. лейкоцитов x относит. / 100).

Исследование количества гранул серотонина в тромбоцитах периферической крови осуществлено с использованием гистохимического метода Фонтана—Массона (Лили Р., 1969, Саркисов Д.С., Перов Ю.Я., 1996). Каплю крови, взятую интракардиально, наносили на предметное стекло, предварительно выдержанное в эксикаторе над парами 40% раствора формалина в течение 2 мин. Из свежей капли крови готовили мазок, который во влажном состоянии подвергали воздействию паров формалина, затем фиксировали, проводя над пламенем спиртовки 3—4 раза. Зафиксированный таким образом мазок окрашивали методом серебрения: выдерживали 50—60 мин в растворе нитрата серебра при +56—58°C, затем промывали дистиллированной водой и выдерживали 4—6 мин в 5% растворе тиосульфата натрия (5 г щелочного тиосульфата натрия растворяли в 100 мл дистиллированной воды). Окрашенный мазок высушивали на воздухе и при 900-кратном увеличении микроскопа просматривали 100 тромбоцитов, подсчитывая в них количество гранул серотонина.

2.2.2. Исследование спектра короткоцепочечных жирных кислот крови.

Исследование спектра КЦЖК в крови осуществляли на базе ООО «Лабораторные технологии», г. Пермь методом газожидкостной хроматографии (Иконников Н.С., и др., 2000). Исследование выполнено на газожидкостном хроматографе «Хромос ГХ 1000» (ООО «Хромос», Россия).

Из крови животного, взятой интракардиально, методом центрифугирования получали сыворотку, затем к сыворотке добавляли соляную кислоту (в соотношении к 1,0 мл сыворотки 3 моля HCL) и стандартный раствор (эталонный раствор КЦЖК для количественного определения содержания C₂-C₆) в соотношении 2:1 мл. Коагулированные белки

отделяли центрифугированием 7000 об/мин в течение 10 мин. Надосадочную жидкость вводили в испаритель хроматографа с детектором ионизации в пламени, снабженном кварцевой капиллярной колонкой длиной 30 м с внутренним диаметром 0,25 мм с неподвижной фазой - сополимером полиэтиленгликоля с 2-нитротерефталевой кислотой в виде пленки толщиной пленки 0,25 мкм.

Режим работы хроматографа - изотермический с температурой термостата 140°C, температурой испарителя и детектора 230°C. Газ-носитель - азот, с давлением на входе в колонку 1,8 атм. Расход газа-носителя 2,0 мл/мин, воздуха 300 мл/мин. Соотношение потоков газа-носителя на сброс и в колонку 50:1. Время хроматографирования 15 мин.

2.2.3. Морфометрическое исследование внутренних органов.

Приготовление и окраску гистологических препаратов осуществляли по общепринятым методам.

Кусочки тканей, толщиной 5-7 мм, фиксировали в 10%-ном забуференном по Лилли формалине (рН-7,2), гистологические препараты готовили по стандартным методикам с заливкой в гистамикс. Срезы, полученные на ротационном микротоме (толщиной 3-4 мкм), депарафинировали по стандартной схеме и подвергали окрашиванию гематоксилином и эозином.

Были изучены следующие показатели: относительная ширина пучковой зоны коры надпочечников, удельный объем светлых центров в лимфатических узелках Пейеровых бляшек, минимальное и максимальное индивидуальное значение объема белой пульпы селезенки.

Определение относительной ширины пучковой зоны коры надпочечников осуществляли следующим образом: в гистологическом срезе надпочечника, окрашенном гематоксилином и эозином, содержащим четко дифференцируемые мозговое и корковое вещество, при микроскопии с использованием окуляра микрометра в 10 проекциях, проходящих через центр

мозгового вещества, и равномерно делящих срез на 10 сегментов, измеряли ширину сетчатой, пучковой и клубочковой зон. Затем, высчитывали среднюю абсолютную величину всех слоев и определяли отношение средней ширины пучковой зоны к суммарной ширине коркового вещества надпочечника (Колдышева Е.В., 2008, Солодкова О.А., 2010).

При исследовании объема белой пульпы селезенки установлена высокая вариабельность этого показателя в серии гистологических срезов, полученных от одного животного. В связи с этим оценивали крайние (минимальные и максимальные) индивидуальные значения объема белой пульпы. Для выполнения этого морфометрического исследования использовали специализированное программное обеспечение BioVision, version 4,0 (Австрия). Захват изображений осуществляли при помощи цифровой камеры для микроскопа CAM V200, Vision (Австрия). При минимальном увеличении микроскопа в серии гистологических срезов выбирали по 2-3 участка общей площадью 1,92 мм², содержащие визуально наименьший и наибольший объем белой пульпы, и определяли процентное соотношение лимфоидной ткани в данных участках (Моталов В.Г., 2002).

В гистологических срезах Пейеровых бляшек при помощи светового микроскопа и окуляра микрометра во всех лимфоидных узелках определяли общую площадь узелка и площадь светлого центра (герминативного центра, центра размножения). В каждом лимфатическом узелке вычисляли отношение площади светлого центра к общей площади лимфоидного узелка. Далее вычисляли среднее значение удельного объема светлых центров в каждом препарате.

В препарате печени при помощи светового микроскопа с использованием иммерсии (увеличение в 1000 раз) в десяти полях зрения в толще печеночного ацинуса оценивали ниже следующие показатели. Определяли процентное содержание двух- и трехядерных гепатоцитов, процентное содержание клеток с признаками анизоцитоза, количество клеток с признаками ядерного и клеточного полиморфизма, относительное количество клеток Купфера

(звездчатых эндотелиоцитов) (отношение количества клеток Купфера к количеству гепатоцитов, зафиксированных в полях зрения). Наличие гепатоцитов с признаками анизоцитоза и полиморфизма, уменьшение делящихся клеток, повышение количества клеток Купфера отражает явления повреждения печеночной ткани, а увеличение количества двух- и трехъядерных клеток - свидетельствует об интенсивности регенерации (Гончарик С.Б., 1998; Шиленок И.Г., и др., 2001; Малышева А.М., и др., 2004; Воробьева О.В., 2007; Couch J.A., 1993; Walter G.L., et al., 1999; Agrawal S., Gupta D., 2013).

2.3. Исследование эмоционального стресса в условиях открытого поля.

Исследование проведено на 19 самцах белых беспородных крыс, в возрасте старше 18 месяцев. Животные находились на типовом рационе вивария.

У части животных к пище добавляли комплекс ферментированных винными дрожжами пищевых волокон пшеничных отрубей и короткоцепочечных жирных кислот (биологически активная добавка к пище (БАД) «Рекицен-РД®», ЗАО «Ягодное», г. Киров, д. Югрино). БАД «Рекицен-РД®» добавляли в корм в количестве 1,5-2 г/сутки, длительность применения составила 18 дней.

Экспериментальные животные были разделены на две группы.

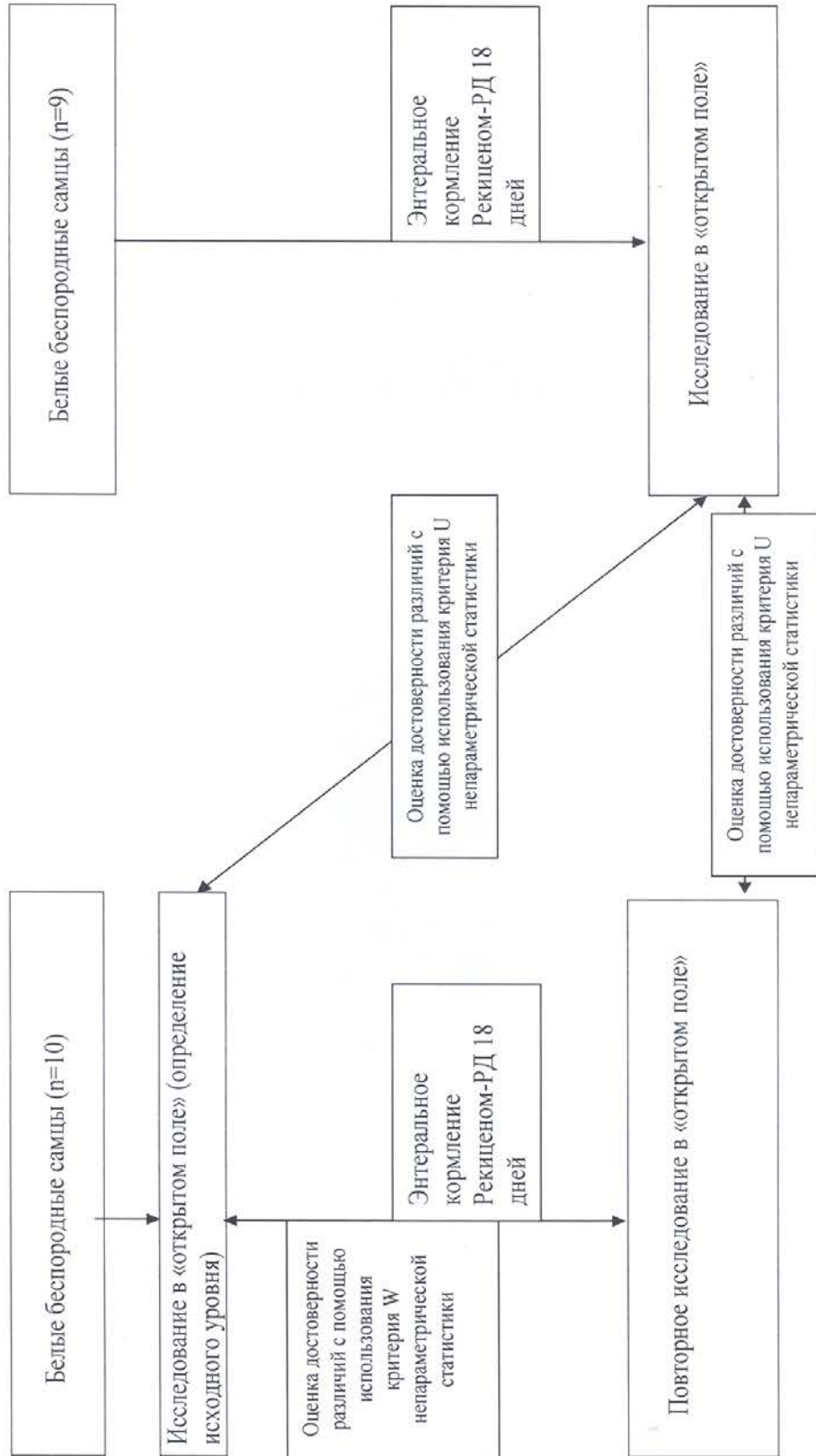
Первая группа – животные, находящиеся на типовом рационе вивария, протестированные методом «открытое поле», после чего в течение 18 дней дополнительно получали БАД «Рекицен-РД» в количестве 1,5-2 грамма в сутки, после чего повторно подвергнутые исследованию (n=10).

Вторая группа - животные, находящиеся на типовом рационе вивария, которые в течение 18 дней получали БАД «Рекицен-РД» в количестве 1,5-2 граммов в сутки, после чего подвергнутые экспериментальному исследованию в открытом поле (n= 9).

Тест «открытое поле» используется для изучения исходного уровня устойчивости к стрессовым воздействиям. Широко применяется в фармакологии для изучения анксиолитического действия лекарственных средств, а так же в ходе физиологического эксперимента для формирования стрессо-устойчивых и стрессо-неустойчивых групп животных (Ломако В.В., Шило А.В., 2009; Подковкин В.Г., Иванов Д.Г., 2009; Иванов Д.Г., Подковкин В.Г., 2010). «Открытое поле» представляет камеру 1 м в длину и 1 м в ширину, с высотой стенок 0,3 м, дно которой расчерчено на 25 равных квадратов. Перед проведением теста животных на 3 минуты помещали в затемненный пенал размером 300 x 150 x 100 мм с отверстиями для доступа воздуха (Ломако В.В., Шило А.В., 2009). Все процедуры, связанные с тестированием в открытом поле, проводили с 15.00 до 17.00 часов.

При тестировании в открытом поле лабораторное животное находится в условиях окружающей среды не характерной для грызунов. Крыс помещали в центр камеры, определяли время выхода животного из центрального квадрата. Подсчитывали число пересеченных квадратов как показатель горизонтальной двигательной активности, число вертикальных стоек - показатель вертикальной двигательной активности, общее число дефекаций и уринаций, время длительного груминга, а так же общее число актов короткого груминга. Горизонтальная активность (общее число пересеченных квадратов) и вертикальная активность (число вертикальных стоек) отражают уровень исследовательской активности в новых условиях, реализации которой препятствует чувство тревоги и страха. Большое количество пересеченных квадратов и вертикальных стоек указывает на более низкий уровень тревожности (Кузнецова Е.Г. и др., 2006; Ломако В.В., Шило А.В., 2009; Brown R. E., et.al., 1999).

Схема 2. Исследование поведения животных в «открытом поле»



Изучено время выхода животных из центрального квадрата. Продолжительность времени, проведенного в центральном квадрате, является мерой выраженности тревожности (Ломако В.В., Шило А.В., 2009). Длительное пребывание в центральном квадрате отражает высокий уровень страха и тревожности. Короткий груминг, характеризующийся 1 – 2 быстрыми круговыми движениями лап вокруг носа и небольшой области около него, отражает наличие стресса, тревоги. Длительный груминг характеризуется умыванием области глаз, заведением лап за уши и переход на умывание всей головы, лап, боков, туловища, аногенитальной области, хвоста. Этот вариант груминга отражает наличие комфорта (Ломако В.В., Шило А.В., 2009).

2.4. Статистические методы исследования.

В каждой серии полученных результатов производилась оценка нормальности распределения. Поскольку полученные результаты в основном имели неправильное распределение и в связи с малым объемом выборок, то для статистической обработки использовались критерии непараметрической статистики, позволяющие сравнивать выборки вне зависимости от их распределения (Гублер Е.В., Генкин А.А., 1973; Гланц С., 1998).

Для описания полученных результатов вычисляли медиану (Me) и интерквартильный размах (25%-75%), являющийся интервалом между 25% и 75% квантилями.

Для исследования множественных сравнений в зависимости от объема выборок применялись критерии Дункана и Ньюмена-Кейлса. Для сравнения результатов между двумя несвязанными группами применяли двусторонний (точный) критерий Манна-Уитни (U), для сравнения результатов между связанными группами применяли критерий Вилкоксона (W).

Для оценки корреляционных взаимосвязей использовался метод Спирмена (R). Изначально оценивались корреляции между различными показателями внутри всех полученных групп (совокупность с 1 по 6), затем

внутри групп получавших Рекицен-РД (совокупность 2, 5 и 6 групп) и групп находящихся на типовом рационе вивария (совокупность 1, 3 и 4 групп). Для оценки модулирующего влияния комплекса ФПВ и КЦЖК на различные показатели, определяли различие в степени разброса результатов внутри связанных и несвязанных выборок. Для этого был использован точный двусторонний метод Фишера (ТМФ).

Глава 3. Соотношение содержания серотонина в крови и ширины пучковой зоны коры надпочечников при стрессе.

Стресс, выраженный избыточно в количественном отношении, проявляется в виде гиперплазии пучковой зоны коры надпочечников, гипоплазии лимфоидных органов и дисфункции иммунной системы, увеличения проницаемости барьеров для микроорганизмов, в частности гематоинтестинального барьера (Селье Г., 1960; Долгушин И.И., и др., 1989; Косарева П.В., 2010).

В течение первого часа от начала стрессорного воздействия начинается реорганизация коры надпочечников, проявляющаяся в увеличении объема пучковой зоны относительно других слоев (Аруин Л.И., и др., 1987; Алябьев Ф.В., и др., 2007; Колдышева Е.В., 2008; Солодкова О.А., 2008; Солодкова О.А., и др., 2012; Walker B.L., Carney J.A., 1971). Таким образом, в наиболее ранний период действия стрессора в основе изменения структуры коры надпочечника лежит изменение соотношения ее слоев. При стрессорных воздействиях в фазу тревоги отмечается расширение пучковой зоны, за счет увеличения кровенаполнения (увеличение удельного объема сосудов пучковой зоны) и клеточной гиперплазии (увеличение объема ядер) (Алябьев Ф.В., и др., 2007; Солодкова О.А., и др., 2012). Кроме того, клетки пучковой зоны характеризуются высокой митотической активностью (Аруин Л.И., и др., 1987). Так же следует отметить, что в процессе естественного старения крысы происходит ремоделирование коры надпочечника, как и при многократных стрессирующих воздействиях, заключающееся в непропорциональном увеличении ширины пучковой зоны (Колдышева Е.В., 2008).

Существуют антистрессорные системы, которые препятствуют формированию морфологических «маркеров» стресса. Подобной системой являются серотонинергические структуры мозга, которые при стрессовых воздействиях оказывают ингибицию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой эндокринной оси, проявляющуюся в виде снижения высвобождения АКТГ и кортизона (Vermes I., et al., 1973).

Впервые в 1948 году Rapport M.M., Green A.A., Page I.H. описали неизвестное вещество, обнаруженное в плазме крови. Они идентифицировали это вещество как плазменный вазоконстриктор или серотонин. При химическом анализе была расшифрована химическая структура этого вещества – 5-гидрокситриптомин (5-НТ).

Серотонин синтезируется из аминокислоты триптофана, получаемой с пищей. Синтез серотонина происходит в два основных этапа. Сначала L-триптофан под действием фермента – триптофан гидроксилазы гидролизуется до 5-гидрокситриптофана. На следующем этапе 5-гидрокситриптофан под действием декарбоксилазы ароматических L-аминокислот декарбоксилируется до 5-гидрокситриптомина (Jonakuty C, Gragnoli C., 2008).

От 90 до 95 % всего серотонина у человека синтезируется в энтерохромаффинных клетках (Furness J.B., Costa M., 1982) желудочно-кишечного тракта.

В центральной нервной системе синтезируется около 5 % от всего серотонина в организме. Следует отметить, что гематоэнцефалический барьер не проницаем для серотонина крови. В ЦНС серотонин синтезируется из триптофана, проникающего через гематоэнцефалический барьер при помощи специального транспортного белка (Reikvam A.G., 2010). Соответственно, напрямую серотонин, находящийся в кровяном русле, может действовать на структуры, не прикрытые гематоэнцефалическим барьером, например, на гипоталамус.

Основными переносчиками свободного серотонина являются тромбоциты. Тромбоциты осуществляют захват серотонина при помощи специального транспортного белка с расходом энергии АТФ (Reikvam A.G., 2010).

Серотонин разрушается под действием моноаминоксидазы (МАО) и альдегид дегидрогеназы. Следует отметить, что в процессе старения происходит увеличение функциональной активности МАО, что приводит к

дефициту эндогенного серотонина (Дильман В.М., 1987). Кроме того, нарушение всасывания триптофана, возникающее при различных атрофических и воспалительных процессах желудочно-кишечного тракта так же способствует снижению синтеза серотонина.

Существуют методы, позволяющие обеспечить повышение адаптационных возможностей организма путем введения серотонина, например, адипината серотонина (Симоненков А.П., Федоров В.А., 2003).

В настоящем разделе работы сделана попытка индукции выработки эндогенного серотонина *in vivo*. Для этого у животных при стрессе использовали функциональное питание, включающее натуральные комплексы ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот (БАД «Рекицен-РД»).

Исследовали содержание гранул серотонина в тромбоцитах, окрашенных по методу Фонтана-Масона (Иззаити-Заде К.Ф., 2007), который соотносили к относительной ширине пучковой зоны коры надпочечников.

У интактных животных в возрасте старше 1,5 лет, получавших типовую диету, содержание серотонина в тромбоцитах было существенно выше, чем у животных в возрасте 1.5 лет, содержащихся на традиционном корме вивария, но подвергнутых голодовому стрессу (см. табл. 2). Таким образом, моделирование голодового стресса у старых животных сочетается с «потерей» тромбоцитами серотонина и его использованием органами-мишенями стресса.

У старых животных, получавших в дополнение к типовому рациону БАД «Рекицен-РД», на фоне голодового стресса содержание серотонина возрастает более, чем в полтора раза ($p_{4-6} < 0,05$). Представленные материалы приведены в табл. 2, и иллюстрирует рис. 1.

Таблица 2

Количество гранул серотонина на 100 тромбоцитов в условиях холодного стресса при использовании различных вариантов диеты

№ Группы	Показатель	Статистические показатели		
		Me (25 %-75%)	N	P
1.	Серотонин в тромбоцитах периферической крови	173 (148 - 192)	6	$p_{1-2} < 0,05^1$
2.		246 (202 - 259)	6	$p_{1-4} < 0,01^2$
3.		156 (143 - 175)	7	$p_{2-6} > 0,05^2$
4.		117 (109 - 125)	6	$p_{3-4} < 0,01^2$
5.		186 (181 - 206)	6	$p_{5-6} > 0,05^2$
6.		182 (161 - 207)	7	$p_{3-5} > 0,05^2$ $p_{4-6} < 0,05^2$ $p_{3-6} > 0,05^1$

Примечание: ¹использование критерия Ньюмена-Кейлса, ²использование критерия Данна

Таблица 3

Относительный объем пучковой зоны коры надпочечников в условиях холодного стресса при использовании различных вариантов диеты

№ Группы	Показатель	Статистические показатели		
		Me (25 %-75%)	N	P
1.	Относительная ширина пучковой зоны (%)	47.01 (43.23 – 49.00)	6	$p_{1-2} < 0,01^1$
2.		35.98 (31.06 – 37.44)	6	$p_{1-4} > 0,05^2$
3.		38.47 (34.65 – 39.11)	7	$p_{2-6} > 0,05^2$
4.		50.56 (44.40 – 56.00)	8	$p_{3-4} < 0,05^2$
5.		30.10 (26.70 – 38.46)	7	$p_{5-6} > 0,05^1$
6.		34.25 (28.75 – 38.99)	7	$p_{3-5} > 0,05^1$ $p_{4-6} < 0,01^2$ $p_{3-6} > 0,05^1$

Примечание: ¹Использование критерия Ньюмена-Кейлса, ²использование критерия Дана.

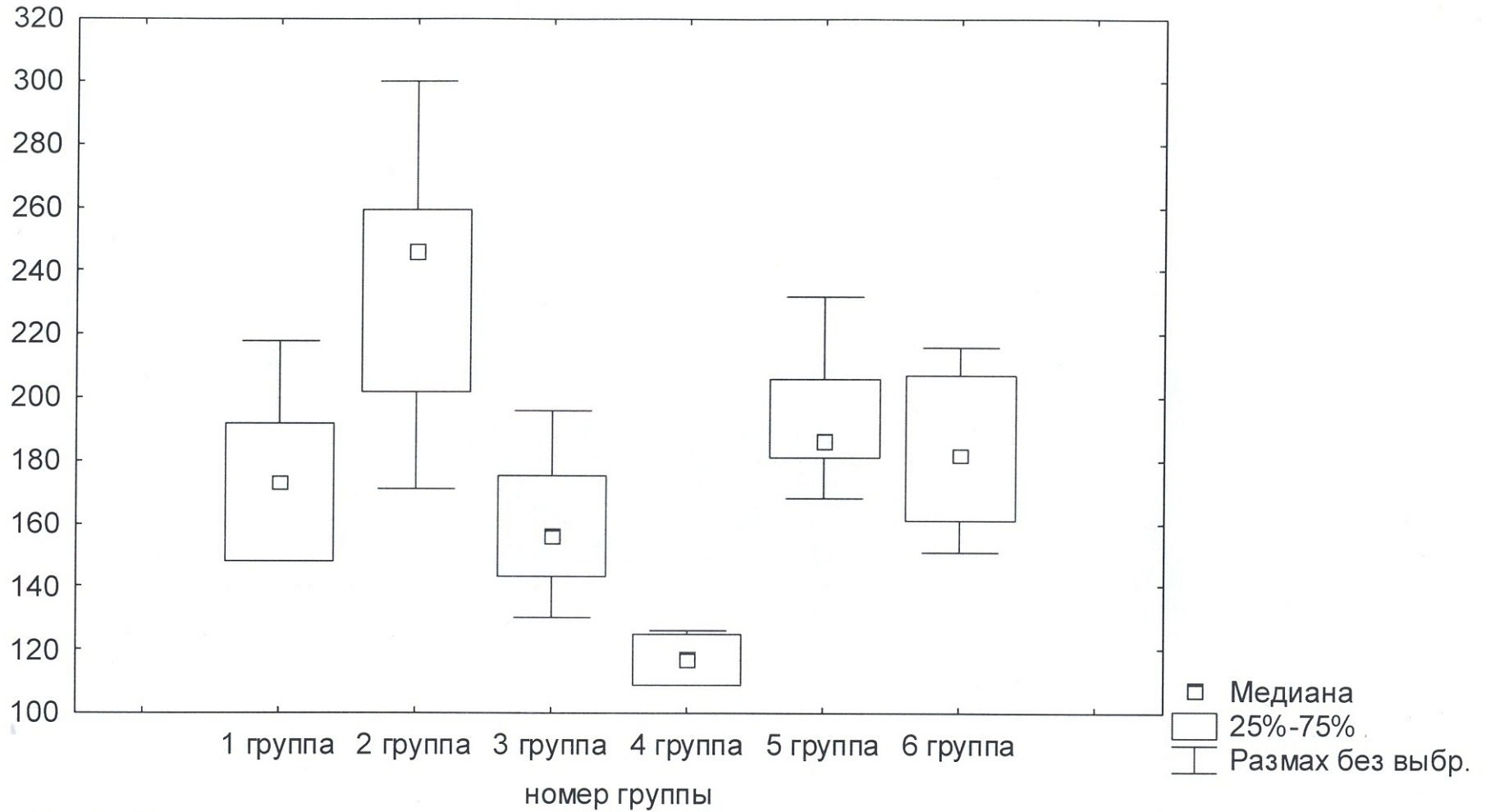


Рис.1. Количество гранул серотонина в 100 тромбоцитах периферической крови, определяемых методом Фонтана — Массона

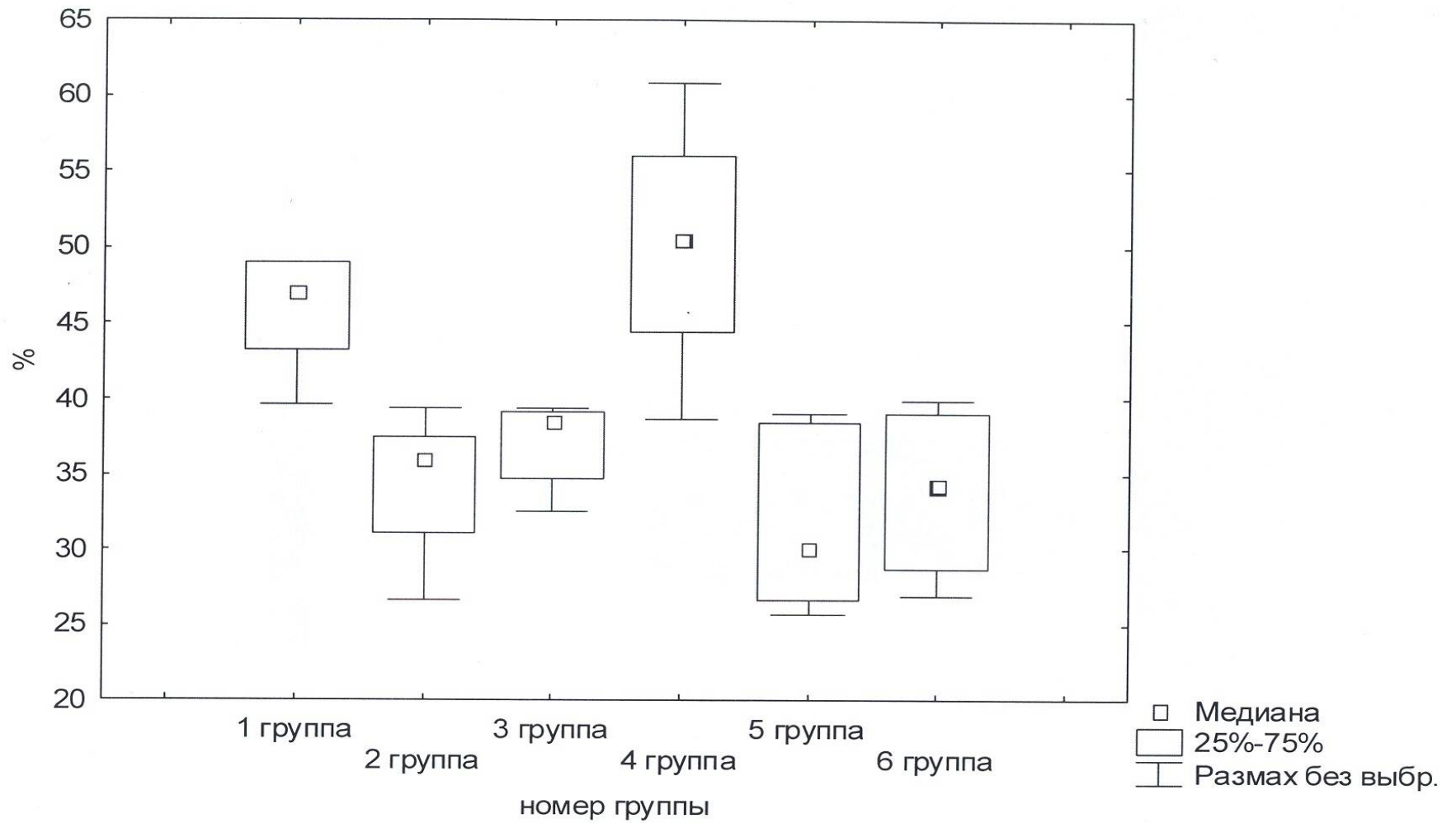


Рис.2. Относительная ширина пучковой зоны коры надпочечника

После холодового воздействия у животных в возрасте 6 месяцев, получавших в дополнение к типовому рациону натуральные комплексы ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот, среднее количество гранул серотонина в 100 тромбоцитах было выше, чем у животных на типовом рационе вивария ($p_{1-2} < 0,05$) (см. табл. 2).

Представленные материалы свидетельствуют об усилении синтеза серотонина в энтерохромаффинных клетках под влиянием натуральных комплексов ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот, как у молодых, так и у старых животных.

Необходимо отметить, что содержание серотонина в тромбоцитах у молодых животных существенно выше, чем у старых. Так, при воздействии холодового стресса и использовании типовой диеты вивария уровень серотонина в тромбоцитах у молодых животных был практически в 1.5 раза выше, чем у старых животных ($p_{1-4} < 0,01$). Общеизвестно, что активность антистрессорных систем в старости снижается. Содержание серотонина в крови коррелирует с концентрацией серотонина в структурах нервной системы, особенно в гипоталамусе (Акинцева Ю.В., 2011; Pivac N. et. al., 1997; Schafer A., et al., 2009). Представленные факты, на наш взгляд, свидетельствуют о существенно более низких концентрациях этого нейромедиатора в нервных структурах при старении.

Изменения содержания гранул серотонина в тромбоцитах соотносили с относительной шириной пучковой зоны коры надпочечников как с тестом, отражающим выработку глюкокортикоидных гормонов надпочечниками.

Как видно из табл. 3, у животных в возрасте старше 1,5 лет, находящихся на типовом рационе вивария, при стрессе существенно увеличивается ширина пучковой зоны коры надпочечников ($p_{3-4} < 0,05$). Увеличение этого показателя соотносится со снижением содержания в крови гранул серотонина.

При использовании у старых животных функционального питания, включающего натуральные комплексы ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот, увеличение серотонина в крови при

воздействии холодого стресса соотносится с отсутствием увеличения ширины пучковой зоны коры надпочечников ($p_{4-6} < 0,01$) (табл. 3). Эти данные иллюстрирует рис. 2.

Как видно из табл. 3, у животных в возрасте 6 мес., находящихся на типовом рационе вивария, при воздействии стрессорного фактора отмечается ширина пучковой зоны коры надпочечников, которая не отличается от аналогичного показателя у старых животных ($p_{1-4} > 0,05$). Следует отметить, что уровень серотонина у молодых животных существенно выше, чем у старых животных (см. табл. 2).

При использовании в качестве функционального питания натурального комплекса ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот (Рекицен-РД) при холодом стрессе относительная ширина пучковой зоны коры надпочечников у молодых животных была существенно меньше, чем при использовании в качестве питания типового рациона вивария ($p_{1-2} < 0,01$).

Таким образом, использование функционального питания, включающего натуральные комплексы ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот, приводит к увеличению содержания серотонина в тромбоцитах. Это связано с тем, что короткоцепочечные жирные кислоты, являющиеся метаболитами симбионтного пищеварения, напрямую или опосредованно усиливают выработку серотонина в энтерохромаффинных клетках (Karakı S.-H., Kuwahara A., 2010).

Увеличение количества гранул серотонина сочетается со снижением ширины пучковой зоны. Это обусловлено тем, что серотонин, действуя на структуры ЦНС, не отделенные от тока крови гематоэнцефалическим барьером, а именно на гипоталамус, снижает выработку АКТГ в ответ на стрессовые воздействия (Vermes I., et al., 1973; 1974; Pivac N. et. al, 1997; Miller R., et al., 2012).

При анализе корреляционных взаимосвязей среди всех животных (совокупность с 1 по 6 группу) была выявлена выраженная отрицательная

взаимосвязь между количеством гранул серотонина в тромбоцитах периферической крови и относительной шириной пучковой зоны коры надпочечника ($R=-0,617$ $p=0,000047$). Также следует отметить, что у молодых животных количество гранул серотонина выше, чем у старых.

В отношении относительной ширины пучковой зоны достоверных различий между аналогичными группами молодых и старых животных выявлено не было, что вероятно связано с тем, что функциональная «реактивность» надпочечника в ответ на стрессовые воздействия с возрастом не меняется, не смотря на то, что у старых животных изначально повышена концентрация глюкокортикоидов в крови.

Глава 4. Влияние продуктов симбионтного пищеварения на реакцию органов «мишеней» у старых и молодых животных при стрессе.

При стрессе происходит активация различных процессов, вызывающих повреждение органов и систем. Наиболее значимыми являются процессы активации перекисного окисления липидов и выраженный катаболизм (Шапошников А.В., Рядинская Л.А., 2010; Ясенявская А.Л., и др., 2012).

По Г.Селье классической морфологической триадой является гиперплазия коры надпочечников, инволюция тимуса и лимфоидной системы и развитие кровотокающих язв по ходу желудочно-кишечного тракта (Селье Г., 1960; Szabo S., 1998). Однако следует отметить, что стрессорное повреждение распространяется и на другие органы. Это и формирование явлений кардиосклероза (Меррсон Ф.З., 1984), а также развитие воспалительного процесса в почках (Косарева П.В., 2010).

Следует отметить, что при стрессе, в отличие от других тканей, печень – территория усиления анаболизма, активация которого сопровождается увеличением резистентности организма (Zern M.A., et.al., 1986).

Изменения периферической крови и лимфоидной системы при стрессе во многом стандартны и являются следствием активации системы гипоталамус-гипофиз-кора надпочечников и симпатoadреналовой системы. На «острие» этих систем выступают катехоламины и глюкокортикоиды. Увеличение выработки последних коррелирует с гиперплазией коры надпочечников и ее пучковой зоны (Селье Г., 1960).

Гематологические проявления стресса (лимфоцитопения, нейтрофиллез, эозинопения), как и компоненты морфологической триады, являются «маркерами» стресса при его моделировании (Горизонтов П.Д., 1976; Гаркави Л.Х., и др., 1998). Однако следует отметить, что изменения лейкоформулы зависят от варианта моделирования, от силы стрессора, длительности его действия, а также от функционального состояния экспериментального животного (Шилова Ю.А., 2011; Mühl H., et.al., 1999; Karandikar N.J., et.al., 2002). Так, в периферической крови отмечается изменение количества

лимфоцитов, которое чаще характеризуются лимфоцитопенией, однако возможно развитие лимфоцитоза, который может проявляться в течение первых 48 часов после стрессового воздействия, связанного с перераспределением данного вида лейкоцитов (Karandikar N.J., 2002). Параллельно формируется увеличение количества эритроцитов, а также нейтрофильный лейкоцитоз, связанный с перераспределением нейтрофилов из костного мозга в кровь (Овсянников В.Г., и др., 2008; Шилова Ю.А., 2011). Следует отметить, что одной из особенностей холодового стрессорного воздействия является увеличение количества провоспалительных цитокинов, в частности IL-6 и фактора некроза опухоли альфа, что способствует дополнительному повреждению лимфоидной системы (Yildirim N.C., Yurekli M., 2010; Guo J.R., et al. 2012).

На наш взгляд, недостаточно изучены постстрессорные изменения лимфоидных органов у старых животных. Это тем более актуально, поскольку эти сдвиги «наслаиваются» на предшествующие возрастные инволютивные процессы (Дильман В.М., 1982), а также на элементы «возрастного» и «социального» стресса (Дильман В.М., 1987; Engler H., et al., 2003).

Избыточная активация стрессорных систем, приводящая к повреждению внутренних органов, формируется либо из-за нарушения регуляции концентрации гормонов по принципу обратной связи, либо из-за недостаточности стресслимитирующих механизмов (Дильман В.М., 1987).

Таким образом, актуален поиск технологий, препятствующих формированию нежелательных последствий стресса. В этой связи, привлекают внимание метаболиты симбионтного пищеварения, в частности, короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК), обладающие широким спектром гомеостатической активности, которые несут несомненный адаптивный характер (Кузнецов В.Ф. и др., 2007; 2009; Hara I., et al., 2000; Milovic V., et al., 2000; Andoh A., et al., 2003).

КЦЖК образуются при ферментации пищевых волокон (ПВ) нормофлорой толстого кишечника. В питании современного человека

содержание ПВ составляет менее 30% от нормы (Покровский В.И., и др., 2002). Для устранения дефицита ПВ используют натуральные комплексы ферментированных винными дрожжами пищевых волокон и КЦЖК. Не изучено влияние энтерального использования натуральных комплексов ФПВ и КЦЖК на формирование гематологических «маркеров» стресса у молодых и старых животных при моделировании стресса.

4.1 Влияние продуктов симбионтного пищеварения на реакцию лимфоидной ткани селезенки при комбинированном стрессе.

4.1.1. Исследование влияния функционального питания на вес селезенки.

В табл. 4 приведены результаты исследования веса селезенки в представленных группах экспериментальных животных. Для объективности выявленных данных вес органов соотносили к весу экспериментальных животных. Как видно из представленных материалов, относительный вес селезенки у экспериментальных животных не различался.

4.1.2. Возрастные аспекты и корреляционные связи объема белой пульпы селезенки с шириной пучковой зоны коры надпочечников и количеством гранул серотонина в тромбоцитах крови.

В табл. 5 представлены возрастные особенности объема белой пульпы селезенки при использовании различных видов диеты в условиях холодового стресса.

У старых животных, находящихся на обычном рационе, при анализе минимальных индивидуальных значений белой пульпы установлено, что при воздействии холодового фактора данный показатель не изменился ($p_{3-4} > 0,05$).

При кормлении старых животных рационом, включающим натуральные комплексы ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных

жирных кислот, вне зависимости от действия холодового фактора, установлено увеличение минимальных индивидуальных значений белой пульпы ($p_{3-5} < 0,05$, $p_{4-6} < 0,01$). Следует отметить, что это увеличение составило почти в 3 раза.

У молодых животных, находящихся на типовом рационе, при холодовом воздействии показатель минимального индивидуального значения белой пульпы был выше, чем аналогичный показатель у старых животных ($p_{1-4} < 0,05$). Следует отметить, что этот показатель у молодых животных не увеличивался при использовании рациона, включающего натуральный комплекс ферментированных пищевых волокон и КЦЖК, и не отличался от аналогичного параметра у старых животных ($P_{1-2} > 0,05$; $p_{2-6} > 0,05$).

У старых животных, находящихся на обычном рационе, при анализе максимальных индивидуальных значений белой пульпы установлено, что при воздействии холодового фактора данный показатель не изменился ($p_{3-4} > 0,05$).

При кормлении старых животных рационом, включающим натуральные комплексы ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот, вне зависимости от действия холодового фактора, установлено увеличение максимальных индивидуальных значений белой пульпы ($p_{3-5} < 0,01$; $p_{4-6} < 0,05$). Следует отметить, что это увеличение составило более, чем в 2 раза.

Приведенные данные, свидетельствующие об уменьшении различий максимальных и минимальных индивидуальных значений белой пульпы селезенки, как у старых, так и у молодых животных, свидетельствуют о меньшей выраженности инволюции лимфоидной ткани как при стрессе, так и в возрастном аспекте.

При анализе корреляционных взаимосвязей между минимальным индивидуальным значением объема белой пульпы и количеством гранул серотонина, была выявлена умеренная положительная корреляция ($R=0,4751$, $p=0,0034$).

Относительный вес селезенки при использовании различных видов диеты в условиях холодового стресса у молодых и старых животных

№ группы	Вид показателя	Статистический показатель		
		Me (25%-75%)	n	P
1	Относительный вес селезенки	0,46 (0,257-0,522)	7	$P_{1-2} > 0,05^2$
2		0,278 (0,26-0,363)	6	$p_{1-4} > 0,05^2$
3		0,284 (0,256-0,315)	8	$p_{2-6} > 0,05^2$
4		0,32 (0,285-0,4)	8	$p_{3-4} > 0,05^1$
5		0,35 (0,245-0,41)	7	$p_{5-6} > 0,05^2$
6		0,272 (0,252-0,343)	8	$p_{3-5} > 0,05^1$ $p_{4-6} > 0,05^1$ $p_{3-6} > 0,05^1$

Примечание: ¹использование критерия Ньюмена-Кейлса, ²использование критерия Данна

Таблица 5.

Возрастные особенности объема белой пульпы селезенки при использовании различных видов диеты в условиях холодового стресса

№ Групп	Вид показателя	Статистический показатель		
		Me (25%-75%)	n	P
1	Минимальное	9.05 (6.48 – 15.07)	6	$p_{1-2} > 0,05^1$
2	индивидуальное	16.57 (15.1 – 17.08)	6	$p_{1-4} < 0,05^2$
3	значение объема белой	6.76 (5.78 – 7.36)	7	$p_{2-6} > 0,05^2$
4	пульпы селезенки (%)	4.98 (3.4 - 6.00)	7	$p_{3-4} > 0,05^1$
5		18.64 (11.41- 22.82)	7	$p_{5-6} > 0,05^2$
6		16.35 (15.23 – 17.905)	8	$p_{3-5} < 0,05^1$ $p_{4-6} < 0,01^2$ $p_{3-6} < 0,01^2$
1	Максимальное	14.39 (12.56 – 19.31)	7	$p_{1-2} < 0,01^2$
2	индивидуальное	20.98 (20.50 – 23.38)	6	$p_{1-4} > 0,05^1$
3	значение объема белой	12.98 (12.54 – 17.98)	7	$p_{2-6} > 0,05^2$
4	пульпы селезенки (%)	10.78 (8.06-14,66)	7	$p_{3-4} > 0,05^1$
5		25.58 (22.53 -26.83)	7	$p_{5-6} > 0,05^2$
6		27.365(23.35 – 33.14)	8	$p_{3-5} < 0,01^1$ $p_{4-6} < 0,05^2$ $p_{3-6} < 0,05^2$

Примечание: ¹использование критерия Ньюмена-Кейлса, ²использование критерия Данна

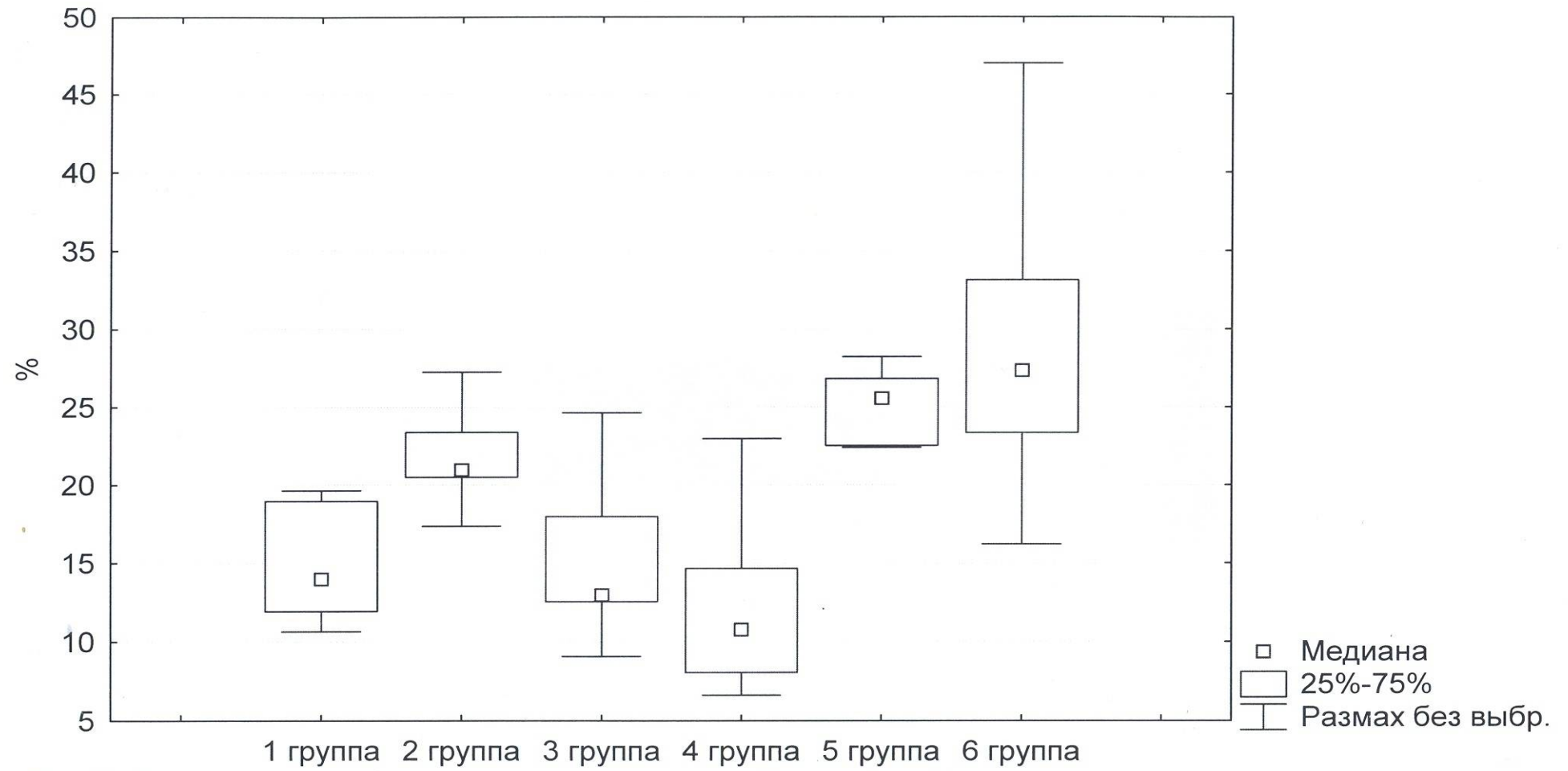


Рис.3. Индивидуальное значение максимального объема белой пульпы селезенки

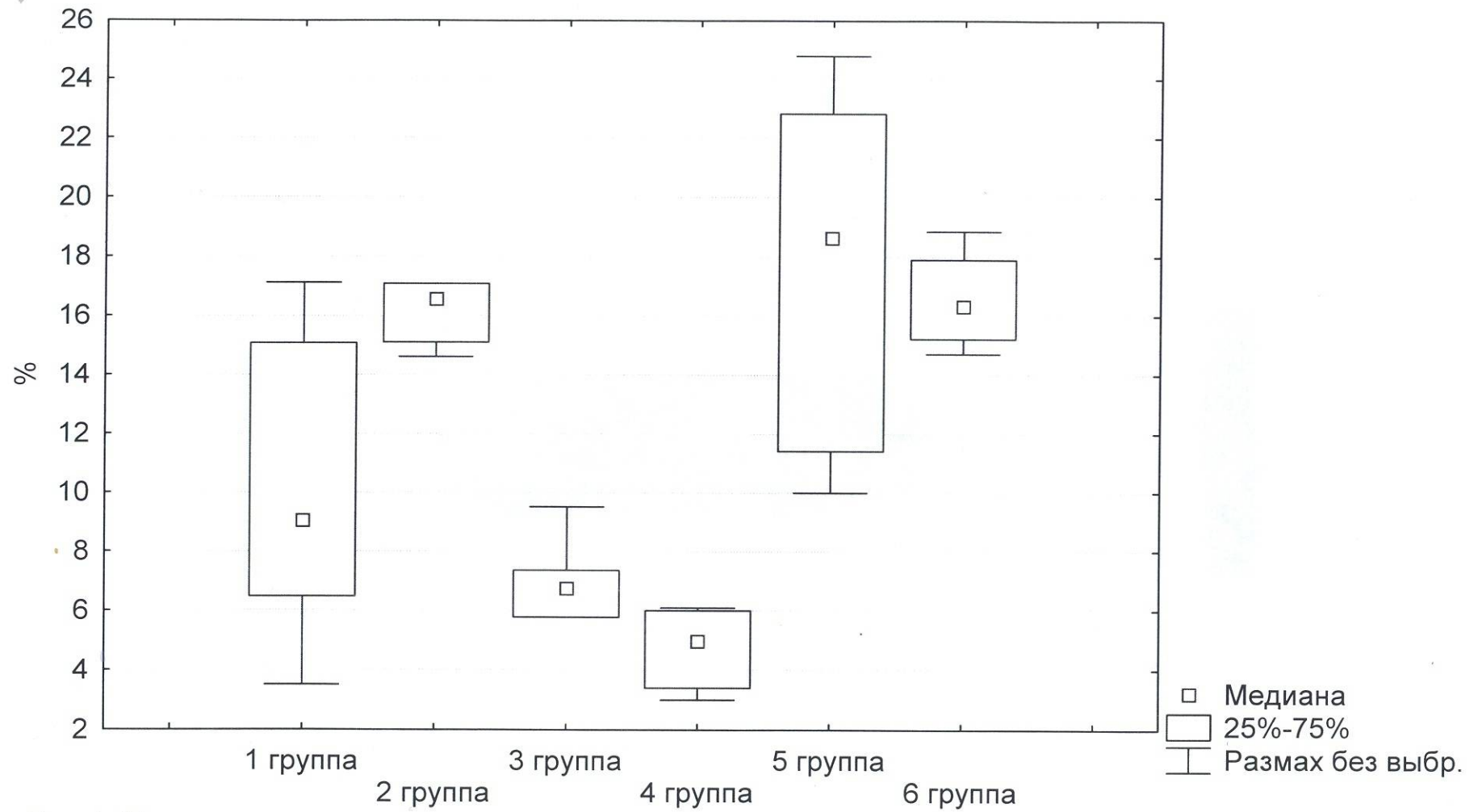


Рис.4. Минимальное индивидуальное значение объема белой пульпы селезенки

Общеизвестно, что механизм уменьшения объема белой пульпы при стрессе у старых животных носит полипатогенетический характер. Во-первых, к инволюции селезенки при холодовом стрессе приводит не только усиление выработки глюкокортикоидов, но и активация симпатoadреналовой системы (Yildirim N.C., Yurekli M., 2010). Во-вторых, у старых животных постстрессорные инволютивные процессы происходят на основе снижения общей стрессоустойчивости в связи со снижением выработки серотонина (Дильман В.М., 1987).

Применение БАД «Рекицен-РД» способствует увеличению количества гранул серотонина в тромбоцитах периферической крови и уменьшению относительной ширины пучковой зоны надпочечников (см. главу 3). В связи с этим, следует отметить, что индивидуальные значения минимального и максимального значения относительного объема белой пульпы у старых животных, получавших Рекицен-РД, вне зависимости от того, подвергались ли животные стрессовому воздействию, был выше, чем в контроле у животных, получавших типовую диету.

В табл. 5 представлены возрастные особенности объема белой пульпы селезенки при использовании различных видов диеты в условиях холодового стресса.

В группах старых животных достоверно наибольшие минимальные и максимальные индивидуальные значения объема белой пульпы селезенки были выявлены в группах животных, получавших БАД «Рекицен-РД». Причем, следует отметить, что показатели были выше контроля, вне зависимости от того, подвергались животные холодовому стрессу или нет ($p_{3-5min} < 0,05$; $p_{4-6min} < 0,01$; $p_{3-6min} < 0,01$; $p_{3-5max} < 0,01$; $p_{4-6max} < 0,05$; $p_{3-6max} < 0,05$). У животных в возрасте 6 месяцев после холодового воздействия (группы 1 и 2) было отмечено более высокое максимальное индивидуальное значение объема белой пульпы селезенки в группе, получавшей БАД «Рекицен-РД» ($p_{1-2} < 0,05$). В отношении минимального индивидуального значения объема достоверных различий в данных группах выявлено не было.

У животных, подвергнутых холодовому стрессу и получавших типовой рацион вивария (1 и 4 группы), минимальное индивидуальное значение объема белой пульпы было выше у молодых крыс, чем у старых ($p_{1-4} < 0,05$), а максимальное индивидуальное значение объема достоверно не различалось ($p_{1-4} > 0,05$).

В группах животных, получавших натуральный комплекс ФПВ и КЦЖК и подвергнутых холодовому стрессу, минимальные и максимальные индивидуальные значения объема белой пульпы не различались ($p_{2-6min} > 0,05$; $p_{2-6max} > 0,05$).

При анализе корреляционных взаимосвязей между минимальным индивидуальным значением объема белой пульпы и количеством гранул серотонина, была выявлена умеренная положительная корреляция ($R=0,4751$, $p=0,0034$).

Эти данные, на наш взгляд, свидетельствуют о полипатогенетическом механизме уменьшения объема белой пульпы у старых животных. Во-первых, к инволюции селезенки при холодовом стрессе приводит не только усиление выработки глюкокортикоидов, но и активация симпатoadреналовой системы (Yildirim N.C., Yurekli M., 2010). Во-вторых, у старых животных постстрессорные инволютивные процессы происходят на основе снижения общей стрессоустойчивости в связи со снижением выработки серотонина (Дильман В.М., 1987).

Применение БАД «Рекицен-РД» способствует увеличению количества гранул серотонина в тромбоцитах периферической крови (см. главу 3). В связи с этим, следует отметить, что индивидуальные значения минимального и максимального значения относительного объема белой пульпы у старых животных, получавших Рекицен-РД, вне зависимости от того, подвергались ли животные стрессовому воздействию, был выше, чем в контроле у животных, получавших типовую диету.

4.2. Возрастные аспекты и корреляционные связи удельного объема светлых центров Пейеровых бляшек и ширины пучковой зоны коры надпочечников.

Как видно из табл. 6, у старых животных после стрессового воздействия удельный объем светлых центров Пейеровых бляшек был выше в группе, получавшей БАД «Рекицен-РД» ($p_{4-6} < 0,01$). В группах, получавших типовой рацион, удельный объем светлых центров Пейеровых бляшек не различался и не зависел от холодового воздействия ($p_{3-4} > 0,05$). Следует отметить, что данный показатель в 6-ой группе был на уровне контроля ($p_{3-6} > 0,05$), а в 5-ой группе был выше, чем в контроле ($p_{3-5} < 0,05$). В группах животных, получавших БАД «Рекицен-РД», данный показатель был выше в 5 группе, не подвергавшейся стрессу ($p_{5-6} < 0,05$). У молодых животных объем светлых центров Пейеровых после стрессового воздействия был выше в группе, получавшей БАД «Рекицен-РД».

У молодых и старых животных удельный объем светлых центров Пейеровых после стрессового воздействия на фоне применения натурального комплекса ФПВ и КЦЖК достоверно не различался.

При анализе возрастных различий было установлено что, в группах, не получавших комплекс ФПВ и КЦЖК, этот показатель так же не различался ($p_{1-4} > 0,05$).

При анализе корреляционных взаимосвязей было установлено, что удельный объем светлых центров отрицательно коррелирует с относительной шириной пучковой зоны ($R = -0,4814$, $p = 0,0011$) и положительно коррелирует с количеством гранул серотонина в тромбоцитах периферической крови ($R = 0,4689$, $p = 0,0026$).

Таблица 6.

Возрастные особенности объема светлых центров Пейеровых бляшек при использовании различных видов диеты при холодном стрессе

№ группы	Вид показателя	Статистический показатель		
		Me (25%-75%)	n	P
1.	Удельный объем	38,91 (30,28-44,1)	6	$p_{1-2} < 0,01^1$
2.	светлых центров	58,8 (54,5-66,04)	6	$p_{1-4} > 0,05^2$
3.	Пейеровых бляшек	51,23(20-57,21)	8	$p_{2-6} > 0,05^2$
4.	(%)	38,89(17,82-43,73)	8	$p_{3-4} > 0,05^1$
5.		58,33(56,45-60)	7	$p_{5-6} < 0,05^2$
6.		49,52(48,00-54,72)	7	$p_{3-5} < 0,05^2$
				$p_{4-6} < 0,01^2$
				$p_{3-6} > 0,05^2$

Примечание: ¹использование критерия Ньюмена-Кейлса, ²использование критерия Данна

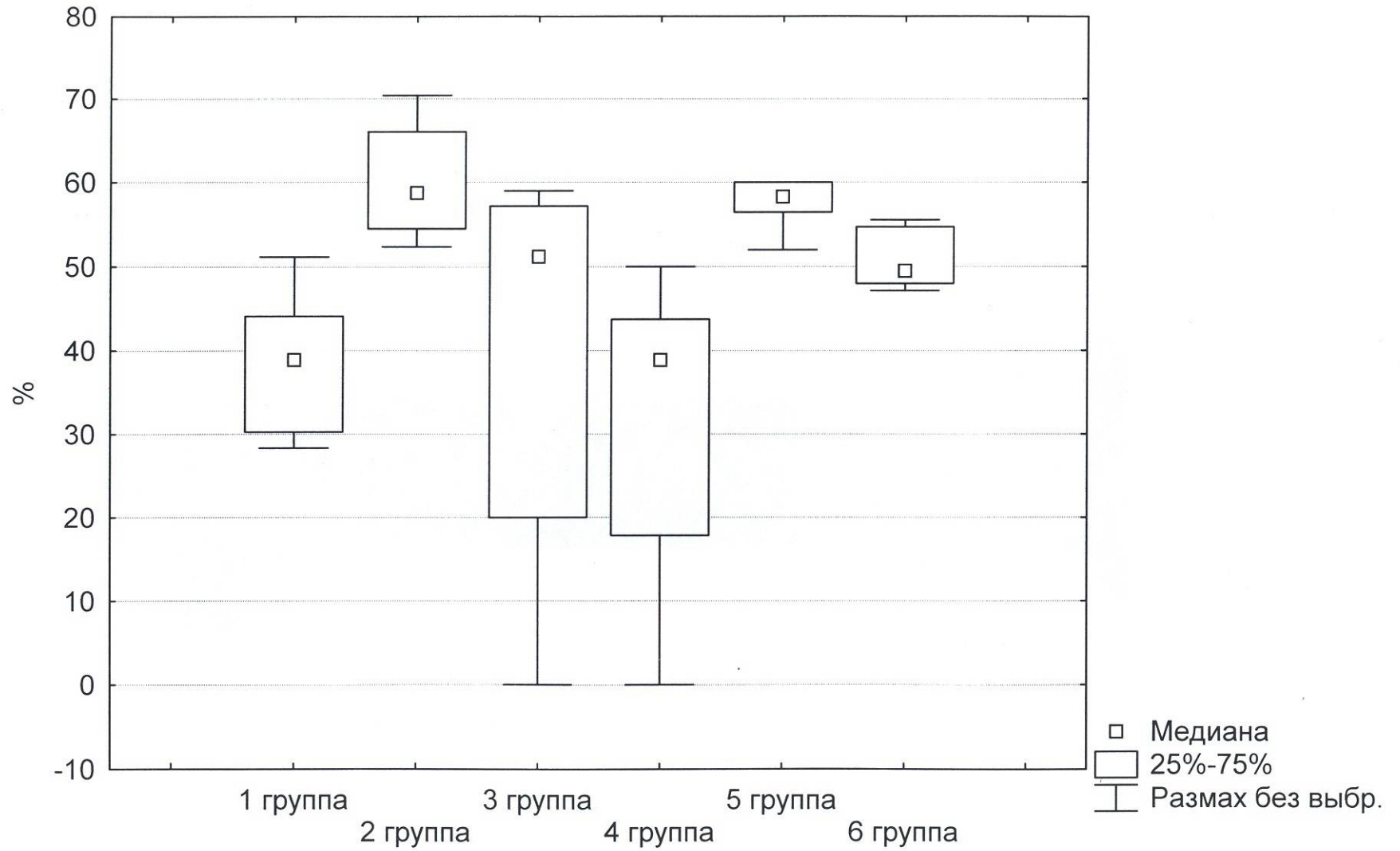


Рис.5. Удельный объем светлых центров Пейеровых бляшек

4.3. Влияние комплекса ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот на показатели общего количества лейкоцитов и лейкоформулы при стрессе

Как уже отмечалось ранее, животные, содержащиеся в условиях стаи, подвергаются социальному стрессу различной интенсивности. Животные в возрасте старше 1.5 года относятся к старым и подвергаются элементам возрастного стресса. Кроме того, нами использованы беспородные животные, у которых показатели, отражающие клеточный состав периферической крови значительно варьируют. Исходя из выше представленного, при анализе клеточного состава периферической крови мы использовали в качестве контроля данные литературы (Sharp P.E., La Regina M.C., 1998).

Актуальность исследования клеточного состава крови определяется особенностями экспериментальной модели стресса, используемой нами, когда холодное стресс-воздействие «наслаивается» на предшествующие социальный, возрастной, половой варианты стресса.

В табл. 7 приведены результаты изучения общего количества лейкоцитов и отдельных компонентов лейкоформулы у старых и молодых животных на типовой диете и при использовании диеты, обогащенной натуральными комплексами ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот.

Как видно из табл. 7, у старых животных при типовом рационе на фоне холодного стресса выявили более высокие показатели общего количества лейкоцитов по сравнению с животными без холодного воздействия ($p_{3-4} < 0,05$). Увеличение количества лейкоцитов происходит в основном за счет нейтрофилов и характеризуется более чем двукратным нарастанием. Это связано с более чем шестикратным нарастанием количества палочкоядерных нейтрофилов ($p_{3-4} < 0,05$).

Таблица 7

Возрастные изменения количества лейкоцитов периферической крови при использовании различных диет при стрессе

№ Группы	Показатель	Статистические показатели		
		Me (25-75%) Тыс/мкл	n	P
1. 2. 3. 4. 5. 6.	Общее количество лейкоцитов	14,5 (12,5 – 17.2) 8.48 (8.00 – 12.50) 6.15 (6.00-7.10) 10.00 (9.50- 10.10) 6.50 (5.60 – 8.50) 7.40 (7.00 – 9.20)	7 6 8 7 7 7	$p_{1-2}>0,05^2$ $p_{1-4}<0,05^1$ $p_{2-6}>0,05^2$ $p_{3-4}<0,05^2$ $p_{5-6}>0,05^1$ $p_{3-5}>0,05^1$ $p_{4-6}<0,05^1$ $p_{3-6}>0,05^2$
1. 2. 3. 4. 5. 6.	Нейтрофилы	0,78 (0,56-1,60) 0,73 (0,66-1,08) 0,78 (0,45- 1,18) 1,76 (1,52-2,10) 0,65 (0,52-0,68) 0,92 (0,68-1,19)	7 6 8 6 7 7	$p_{1-2}>0,05^2$ $p_{1-4}<0,05^2$ $p_{2-6}>0,05^2$ $p_{3-4}<0,05^2$ $p_{5-6}<0,05^1$ $p_{3-5}>0,05^2$ $p_{4-6}<0,01^2$ $p_{3-6}>0,05^2$
1. 2. 3. 4. 5. 6.	Сегментоядерные нейтрофилы	0.41 (0.39 – 1.12) 0.59 (0.52- 0.84) 0.61 (0.37 – 0.90) 1.08 (0.78 -1.41) 0.51 (0.39 – 0.56) 0.64 (0.56 – 0.89)	6 6 8 7 7 7	$p_{1-2}>0,05^1$ $p_{1-4}>0,05^2$ $p_{2-6}>0,05^2$ $p_{3-4}>0,05^2$ $p_{5-6}<0,05^1$ $p_{3-5}>0,05^2$ $p_{4-6}<0,05^1$ $p_{3-6}>0,05^2$
1. 2. 3. 4. 5. 6.	Палочкоядерные нейтрофилы	0.39 (0.25 – 0.73) 0.16 (0.13 – 0.18) 0.13 (0.09 – 0.21) 0.81 (0.76 – 0.96) 0.13 (0.11 -0.17) 0.29 (0.14 – 0.38)	7 6 8 7 7 8	$p_{1-2}>0,05^2$ $p_{1-4}<0,01^1$ $p_{2-6}>0,05^2$ $p_{3-4}<0,05^2$ $p_{5-6}>0,05^2$ $p_{3-5}>0,05^2$ $p_{4-6}<0,05^2$ $p_{3-6}>0,05^1$
1. 2. 3. 4. 5. 6.	Лимфоциты	11.31 (10.88- 15.30) 7.00 (6.08 – 10.08) 4.25 (3.87 – 5.09) 6.06 (5.24-6.32) 4.74 (3.75 – 6.63) 5.89 (4.54 -7.38)	7 6 8 7 7 8	$p_{1-2}>0,05^2$ $p_{1-4}<0,01^1$ $p_{2-6}>0,05^2$ $p_{3-4}>0,05^2$ $p_{5-6}>0,05^2$ $p_{3-5}>0,05^2$ $p_{4-6}>0,05^2$ $p_{3-6}>0,05^1$

1.	Моноциты	1.78 (1.58 – 1.94)	6	$p_{1-2} > 0,05^1$
2.		0.61 (0.24 – 0.83)	6	$p_{1-4} > 0,05^2$
3.		1.01 (0.82 – 1.23)	8	$p_{2-6} > 0,05^2$
4.		1.70 (1.20 – 1.94)	7	$p_{3-4} > 0,05^2$
5.		0.84 (0.52 -1.11)	7	$p_{5-6} > 0,05^2$
6.		1.08 (0.79 – 1.49)	8	$p_{3-5} > 0,05^2$ $p_{4-6} > 0,05^2$ $p_{3-6} > 0,05^1$
1.	Эозинофилы	0.14 (0 – 0.20)	7	$p_{1-2} > 0,05^2$
2.		0.08 (0.01-0.16)	6	$p_{1-4} > 0,05^1$
3.		0.00 (0.00 – 0.07)	8	$p_{2-6} < 0,05^2$
4.		0.00 (0.00 – 0.01)	7	$p_{3-4} > 0,05^2$
5.		0.00 (0.00-0.65)	7	$p_{5-6} < 0,05^2$
6.		0.00 (0.00-0.00)	8	$p_{3-5} > 0,05^2$ $p_{4-6} > 0,05^2$ $p_{3-6} > 0,05^1$
1.	Базофилы	0.14 (0.00 – 0.20)	7	$P_{1-2} > 0,05^2$
2.		0.00 (0.00 – 0.08)	6	$p_{1-4} > 0,05^1$
3.		0.00 (0.00 – 0.30)	8	$p_{2-6} > 0,05^2$
4.		0.00 (0.00 – 0.10)	7	$p_{3-4} > 0,05^2$
5.		0.00 (0.00 – 0.09)	7	$p_{5-6} > 0,05^1$
6.		0.01 (0 -0.13)	8	$p_{3-5} > 0,05^2$ $p_{4-6} > 0,05^2$ $p_{3-6} > 0,05^1$

Примечание: ¹использование критерия Ньюмена-Кейлса, ²использование критерия Данна

Использование функционального питания у старых животных при стрессе кардинально изменило описанные выше закономерности. Так, увеличения общего количества лейкоцитов не происходит. Отмечается увеличение количества нейтрофилов ($p_{5-6} < 0,05$) за счет фракции зрелых нейтрофилов, количество лимфоцитов не изменилось.

У молодых животных, в сравнении со старыми животными, при типовом рационе на фоне холодого стресс-воздействия отмечается увеличение количества лимфоцитов ($p_{1-4} < 0,01$) более чем в 2 раза. У старых животных отмечено большее количество нейтрофилов, чем у молодых ($p_{1-4} < 0,05$), за счет большей (более чем в 2 раза) фракции палочкоядерных нейтрофилов ($p_{1-4} < 0,01$).

При использовании функционального питания различия между старыми и молодыми животными при стресс-воздействии нивелируются. Так, количество клеточных элементов периферической крови (общее количество лейкоцитов, нейтрофилов, сегментоядерных и палочкоядерных нейтрофилов, лимфоцитов) при стресс-воздействии у старых и молодых животных на фоне диеты, обогащенной натуральными комплексами ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот не различалось.

Для изучения патогенетических аспектов изменения клеточного состава периферической крови изучены корреляционные связи между относительным показателем ширины пучковой зоны надпочечников и содержанием гранул серотонина тромбоцитов.

У молодых животных общее количество лейкоцитов позитивно коррелирует с величиной пучковой зоны надпочечников $R=0,6099$ ($p=0,0268$) и негативно коррелирует с содержанием гранул серотонина в тромбоцитах $R=-0,6542$ ($p=0,0152$). У старых животных общее количество лейкоцитов позитивно коррелирует с величиной пучковой зоны $R=0,4578$ ($p=0,0109$) и отсутствует корреляция с уровнем серотонина – $R=-0,3682$ ($p=0,0587$). Таким образом, вне зависимости от вида диеты, вида воздействий, возраста увеличение ширины пучковой зоны надпочечников, отражающее уровень глюкокортикоидов, сочетается с увеличением общего количества лейкоцитов.

При анализе корреляционных взаимосвязей установлено, что у старых животных общее количество нейтрофилов позитивно коррелирует с величиной пучковой зоны $R=0,5828$ ($p=0,0009$) и отрицательно коррелирует с уровнем серотонина - $R=-0,5566$ ($p=0,0039$). Следует отметить, что у этих животных отмечается увеличение количества лейкоцитов за счет различных форм нейтрофилов.

У молодых животных не выявлено взаимосвязей между общим количеством нейтрофилов и величиной пучковой зоны надпочечников $R=0,1399$ ($p=0,6646$), а также между количеством нейтрофилов с содержанием гранул серотонина в тромбоцитах $R=-0,2032$ ($p=0,5266$). У этих животных увеличение количества лейкоцитов возросло преимущественно за счет перераспределения лимфоцитов. В этой связи у молодых животных количество лимфоцитов отрицательно коррелирует с содержанием гранул серотонина в тромбоцитах $R=-0,5923$ ($p=0,0329$) и положительно с величиной пучковой зоны надпочечников $R=0,5585$ ($p=0,0473$).

У старых животных отсутствовала корреляция количества лимфоцитов с серотонином тромбоцитов $R=-0,0096$ ($p=0,963$) и с величиной пучковой зоны коры надпочечников $R=0,1155$ ($p=0,5434$).

Различия корреляционных взаимосвязей, вероятно, обусловлены большей активацией симпатической нервной системы или большей величиной пула лимфоцитов в органах кроветворения, готового к перераспределению у молодых животных.

В табл.7 приведены результаты исследования количества моноцитов у старых и молодых животных на типовой диете и при использовании натуральных комплексов ФПВ и КЦЖК.

У старых и молодых животных, вне зависимости от рациона вивария, холодное стрессорное воздействие не влияло на показатели абсолютного содержания моноцитов.

У молодых животных общее количество моноцитов позитивно коррелирует с величиной пучковой зоны надпочечников $R=0,6429$ ($p=0,0178$). С

содержанием гранул серотонина в тромбоцитах достоверной корреляции выявлено не было $R=-0,5392$ ($p=0,0572$).

У старых животных отсутствовала корреляция данного показателя между количеством гранул серотонина $R=-0,383$ ($p=0,0535$) и с величиной пучковой зоны коры надпочечников $R=0,3449$ ($p=0,062$).

Приведенные результаты свидетельствуют о «сохранности» перераспределения мононуклеарной популяции клеток периферической крови при стресс-воздействии у молодых животных. У старых животных при стресс-воздействии в большей степени перераспределение клеток крови происходит за счет различных популяций нейтрофилов. Последнее, вероятно, обусловлено более выраженной возрастной инволюцией лимфоидной ткани.

4.4 Возрастные особенности модулирующих эффектов натуральных комплексов ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот на соотношение регенерации и повреждения печеночной ткани при стрессе.

Ранее было отмечено, что при стрессе, в отличие от других тканей, печень – территория усиления анаболизма, активация которого сопровождается увеличением резистентности организма при интоксикации (Zern M.A., et.al., 1986). В процессе старения происходит уменьшение объема печеночной ткани, снижение ее дезинтоксикационного потенциала и кровоснабжения (Антопольская Е.В., Швейнов И.А., 2006). Недостаточно изучены возрастные особенности морфогенеза гепатоцитов при стрессе, а также пути их коррекции. В связи с чем, целью данного раздела является изучение возрастных особенностей морфологических изменений печени крыс при холодном стрессе. Произведена оценка влияния комплекса ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот на процессы, свидетельствующие о тяжести повреждения и интенсивности регенерации гепатоцитов.

В табл. 8 и 9 приведены данные, отражающие процентное содержание 2-3 ядерных гепатоцитов, процентное содержание гепатоцитов с признаками анизоцитоза, ядерного и клеточного полиморфизма.

Следует отметить, что количество 3-ядерных гепатоцитов у отдельных животных было не более 0,3% от всех гепатоцитов, а у большинства отсутствовали. Поскольку 3-ядерные гепатоциты встречаются в норме и отражают процессы регенерации печеночной ткани, их учет производился совместно с 2-ядерными гепатоцитами (Малышева А.М., и др., 2004; Duncan A.W., et al., 2010).

Как видно из табл. 8, при типовой диете в первой группе, состоящей из молодых животных, процентное содержание делящихся гепатоцитов было существенно выше, чем у животных из четвертой группы, включающей старых животных ($p_{1-4} < 0,05$). Это свидетельствует о том, что регенераторный потенциал гепатоцитов на фоне хронического стресса в возрастной категории старше 1,5 лет снижен.

У молодых животных (первая и вторая группы) статистически значимых различий в отношении делящихся гепатоцитов выявлено не было. Таким образом, введение в корм молодых животных БАД «Рекицен-РД» не влияло на регенераторный потенциал гепатоцитов у молодых животных.

У животных в возрасте старше 1,5 лет (группы 3 и 4), находящихся на типовом рационе, острое стрессорное воздействие не влияло на процентное содержание двух- и трехядерных гепатоцитов ($p_{3-4} > 0,05$) (табл. 8). При использовании функционального питания, содержащего БАД «Рекицен-РД» (группы 5 и 6), отмечено достоверное повышение интенсивности регенерации гепатоцитов более чем в 3 раза ($p_{3-5} < 0,01$, $p_{4-6} < 0,01$, $p_{3-6} < 0,05$).

Таким образом, добавление в корм животных комплексов ферментированных пищевых волокон и КЦЖК обладает модулирующим действием на регенераторный потенциал гепатоцитов. Этот ингредиент функционального питания увеличивает сниженный регенераторный потенциал (у животных старше 1,5 лет) и не влияет на показатели регенерации - у

животных в возрасте 6 месяцев. Следует отметить, что регенераторный потенциал печеночной ткани у старых животных возрос до уровня молодых крыс.

В процессе исследования установлено, что компоненты функционального питания существенно уменьшают выраженность повреждения гепатоцитов при воздействии стрессорного фактора и у старых, и у молодых животных. Так, процентное содержание клеток с признаками повреждения, в первой группе (типовой рацион) было более чем в два раза выше, чем во второй группе, получавшей функциональное питание (табл. 9). Таким образом, у молодых животных добавление в типовой рацион комплекса КЦЖК и ФПВ в условиях хронического стресса способствовало снижению количественных параметров повреждения более чем в два раза.

Процентное содержание гепатоцитов с признаками повреждения у животных старше 1.5 лет, находящихся на типовом рационе вивария, в группе 3 (контроль) и группе 4 (при холодовом стрессовом воздействии) не различались между собой. В группах 5 и 6, получавших БАД «Рекицен-РД», данный показатель был достоверно ниже, вне зависимости от того подвергались животные холодовому стрессу или нет ($p_{3-5} < 0,01$; $p_{4-6} < 0,01$; $p_{3-6} < 0,01$). Таким образом, данные компоненты функционального питания существенно уменьшают выраженность повреждения гепатоцитов у старых животных.

Достоверных различий между группами по относительному количеству клеток Купфера у молодых и старых животных выявлено не было.

У молодых животных (общая совокупность первой и второй групп) отмечена умеренная положительная корреляция между количеством клеток с проявлениями повреждения (анизоцитоз и пойкилоцитоз) и шириной пучковой зоны коры надпочечников ($R=0,5824$; $p=0,0367$), между шириной пучковой зоны и количеством 2-3 ядерных гепатоцитов также выявлена положительная корреляция ($R=0,76$, $p=0,0021$).

Таблица 8

Возрастные особенности процессов регенерации печеночной ткани при использовании различных видов диеты в условиях холодового стресса

№ групп	Вид показателя	Статистический показатель		
		Me (25%-75%)	n	P
1	Процент 2-3 ядерных гепатоцитов в	5,35 (4,95-8,85)	7	$p_{1-2} > 0,05^1$
2		4,67 (2,21-4,9)	6	$p_{1-4} < 0,05^2$
3		2,5 (1,27-3,63)	7	$p_{2-6} > 0,05^2$
4		3,125 (1,21-3,575)	8	$p_{3-4} < 0,05^2$
5		10,96 (9,34-13,25)	7	$p_{5-6} > 0,05^2$
6		8,8 (6,8-9,705)	8	$p_{3-5} < 0,01^1$ $p_{4-6} < 0,01^1$ $p_{3-6} < 0,01^2$

Примечание: ¹использование критерия Ньюмена-Кейлса, ²использование критерия Данна

Таблица 9

Количество гепатоцитов с признаками повреждения при использовании различных видов диеты в условиях холодового стресса

№ групп	Вид показателя	Статистический показатель		
		Me (25%-75%)	n	P
1	Процент гепатоцитов с признаками повреждения	34,25 (28,85-38,78)	7	$p_{1-2} < 0,05^2$
2		16,75 (15,91-21,52)	6	$p_{1-4} > 0,05^2$
3		30,45 (24,46-35,55)	7	$p_{2-6} > 0,05^2$
4		30,945 (20,45-37,285)	8	$p_{3-4} > 0,05^2$
5		17,3 (14,32-19,97)	7	$p_{5-6} > 0,05^2$
6		9,675 (8,585-18,98)	8	$p_{3-5} < 0,01^1$ $p_{4-6} < 0,01^1$ $p_{3-6} < 0,01^2$

Примечание: ¹использование критерия Ньюмена-Кейлса, ²использование критерия Данна

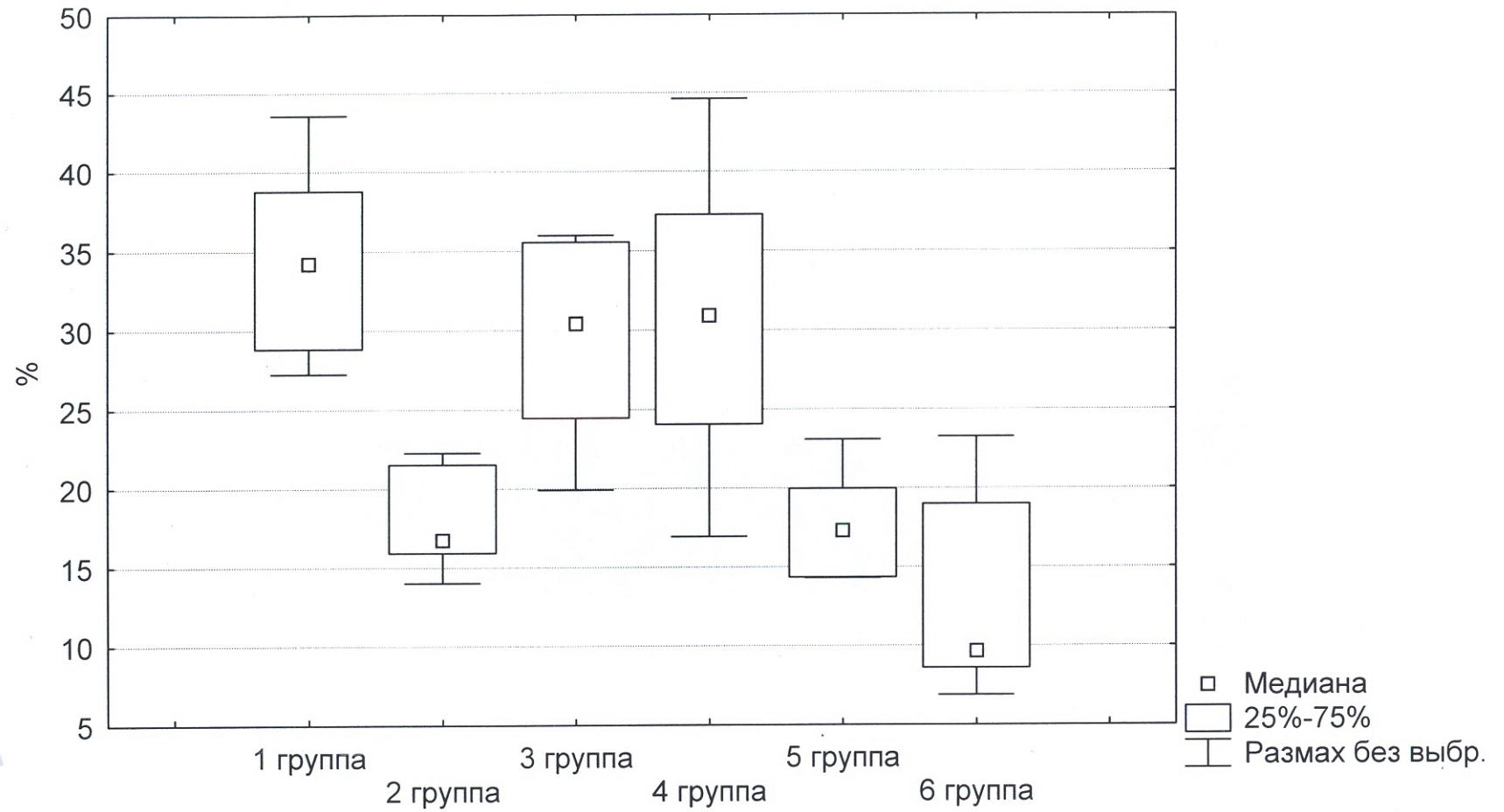


Рис.6 Процент гепатоцитов с признаками повреждения (анизоцитоза и пойкилоцитоза)

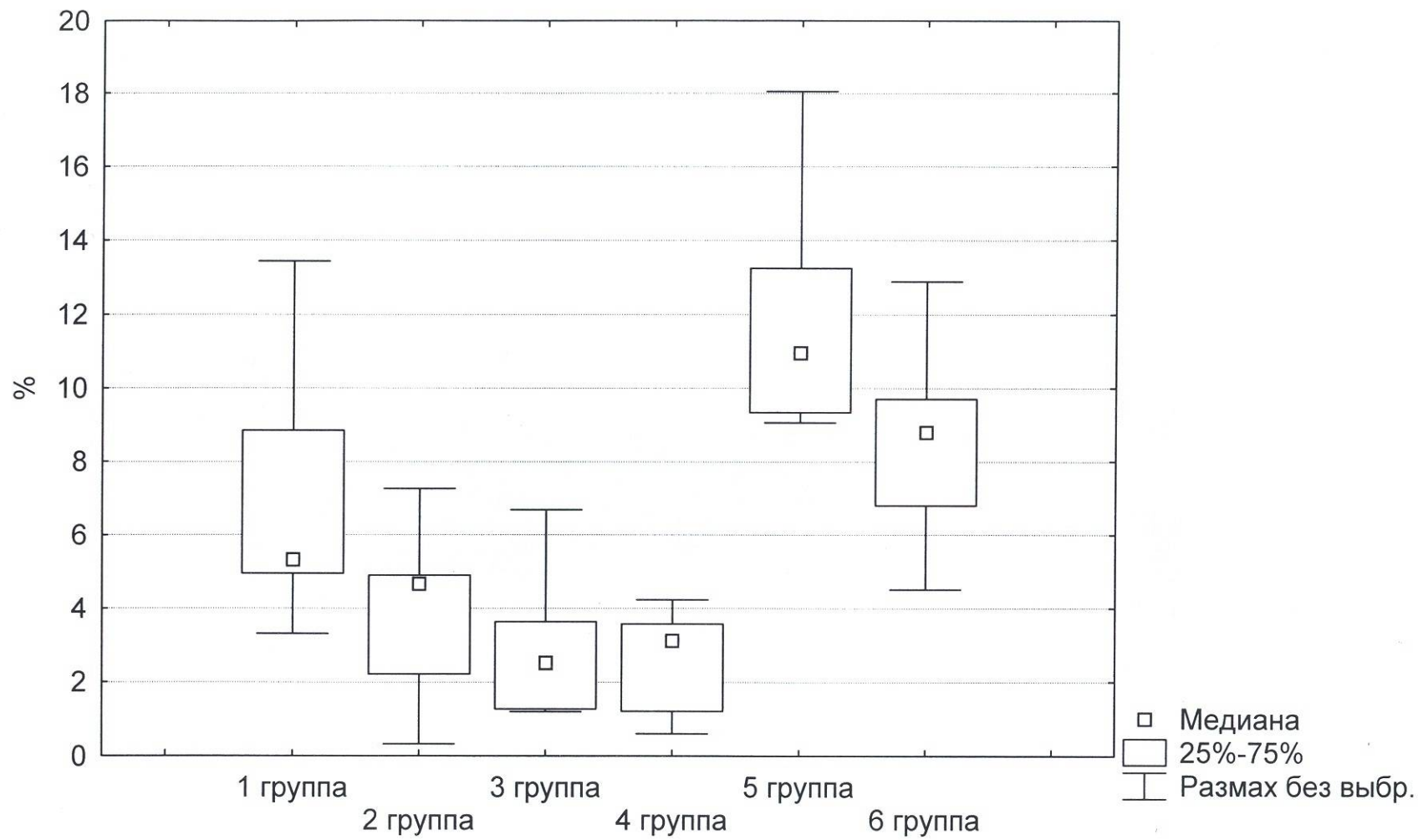


Рис.7 Процент делящихся гепатоцитов

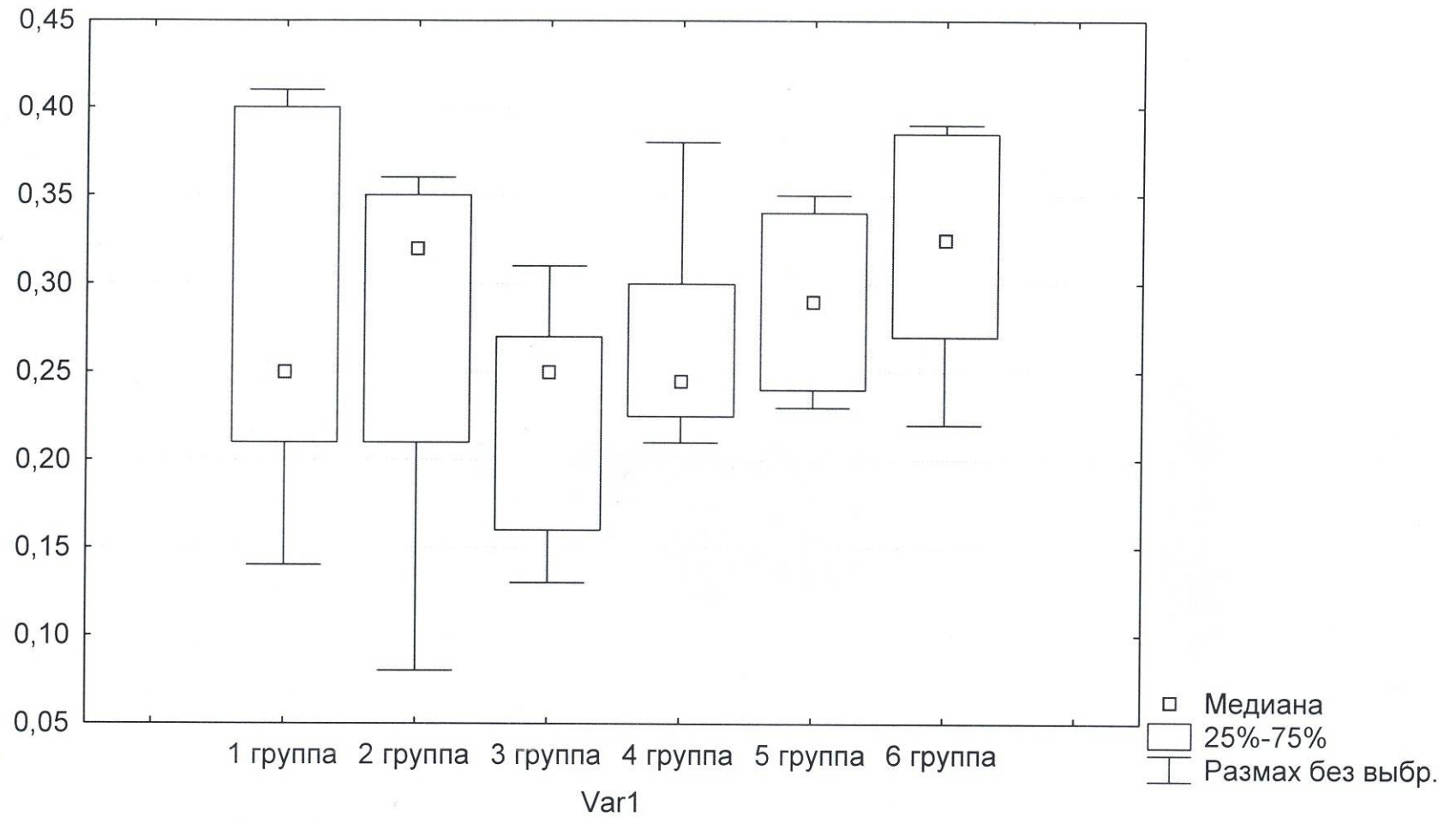


Рис. 8. Относительное количество клеток Купфера

Таким образом, у молодых животных увеличение ширины пучковой зоны усиливает повреждение гепатоцитов, что при стрессе компенсируется усилением их регенерации.

У старых животных (общая совокупность животных с 3 по 6 группу) установлена умеренная положительная корреляция между количеством клеток с анизоцитозом и пойкилоцитозом и шириной пучковой зоны коры надпочечников ($R=0,4186$, $p=0,0191$), а между шириной пучковой зоны и количеством 2-3 ядерных гепатоцитов выявлена умеренная отрицательная корреляция ($R=-0,36$, $p=0,0452$). Таким образом, у старых животных при стрессе ширина пучкового слоя коры надпочечников позитивно коррелирует с повреждением гепатоцитов и приводит к снижению их регенерации. Данный факт указывает на снижение реактивности печеночной ткани у старых животных в ответ на повреждение.

Из приведенных данных, можно сделать вывод, что у молодых животных увеличение количества двух-трехъядерных гепатоцитов при увеличении ширины пучковой зоны носит компенсаторный характер. У старых животных эта компенсаторная реакция отсутствует, так как между аналогичными показателями отмечена отрицательная корреляция. При использовании функционального питания, включающего БАД «Рекицен-РД», этот компенсаторный феномен в условиях стресса восстанавливается. Таким образом, после добавления в диету старых животных натурального комплекса ФПВ и КЦЖК происходит восстановление регенераторного потенциала печеночной ткани при стрессорном воздействии.

При анализе корреляционных взаимосвязей внутри общей совокупности животных (с 1-ой по 6-ую группы) была выявлена отрицательная корреляция между количеством гранул серотонина в тромбоцитах периферической крови и количеством гепатоцитов с признаками повреждения ($R=-0,5228$, $p=0,0008$). При анализе корреляционных взаимосвязей между количеством гранул серотонина и количеством делящихся гепатоцитов была выявлена положительная корреляция у старых животных (совокупность с 3-ей по 6-ую

группы) ($R=0,4076$, $p=0,0388$), а у молодых животных (совокупность 1-ой и 2-ой групп) данная корреляция отсутствовала ($R=-0,2724$, $p=0,368$).

Подобные корреляционные особенности, на наш взгляд, связаны с различиями в синтезе серотонина у молодых и старых животных. Как уже отмечалось ранее, у молодых животных на типовом рационе вивария количество гранул серотонина выше аналогичного показателя у старых крыс, а применение БАД «Рекицен-РД» нивелирует данное различие, увеличивая концентрацию серотонина, вне зависимости от возраста. На фоне типового рациона вивария количество двух- трехъядерных гепатоцитов достоверно выше у молодых животных, чем у старых ($p_{1-4}<0,05$), а при применении натурального комплекса ФПВ и КЦЖК и увеличении гранул серотонина в тромбоцитах количество гепатоцитов с признаками деления достоверно не различалось ($p_{2-6}>0,05$).

Таким образом, у старых животных имеется эндогенный дефицит серотонина, устранение которого с помощью применения БАД «Рекицен-РД» способствует активации регенераторного потенциала печеночной ткани.

Приведенные материалы свидетельствуют о том, что комплексы ФПВ и КЦЖК, которые составляют основу БАД «Рекицен-РД», обладают модулирующим действием на регенераторный потенциал гепатоцитов и уменьшают выраженность процессов повреждения в ткани печени при воздействии хронического стрессорного фактора.

4.5. Исследование корреляционных связей между содержанием короткоцепочечных жирных кислот крови, морфометрическими и гематологическими показателями при стрессе.

Как было отмечено ранее, короткоцепочечные жирные кислоты обладают широким спектром адаптационных эффектов. Это определяет актуальность исследования количественных параметров и корреляционных взаимосвязей показателей, отражающих уровень короткоцепочечных жирных кислот, с

морфофункциональными и гематологическими сдвигами при стрессе в возрастном аспекте.

В табл. 10 представлено содержание различных изомеров короткоцепочечных жирных кислот в периферической крови экспериментальных животных. Как видно из этой таблицы, достоверных различий концентраций короткоцепочечных жирных кислот в различных экспериментальных группах в ходе данного исследования выявлено не было (см. табл. 10). Данный факт, вероятно, подтверждает то, что адаптационные эффекты натурального комплекса ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот при холодном стресс-воздействии на фоне комбинированного стресса не связаны с метаболическими эффектами.

Поэтому, целью исследования явилось изучение корреляционных взаимосвязей между концентрациями различных видов КЦЖК крови, определяемых методом газожидкостной хроматографии, и различными морфометрическими показателями, а так же количественными параметрами различных популяций лейкоцитов.

При анализе взаимосвязей между уровнем КЦЖК крови и морфофункциональными показателями установлены взаимосвязи, которые зависят (1-я группа) и не зависят (2-я группа) от особенностей рациона животных.

При анализе корреляционных взаимосвязей в группах животных, получавших комплекс ферментированных пищевых волокон и КЦЖК (совокупность 2, 5 и 6 групп), была выявлена положительная корреляция между объемом светлых центров Пейеровых бляшек и уровнем капроновой кислоты ($R=0,5299$, $p=0,0112$), а также уровнем изокапроновой кислоты ($R=0,4428$, $p=0,0391$). Положительная взаимосвязь была установлена и между количеством гепатоцитов с признаками повреждения и уровнем валериановой кислоты ($R=0,4497$, $p=0,0357$).

Таблица. 10. Содержание различных изомеров КЦЖК в периферической крови экспериментальных животных (мг/г).

Вид КЦЖК	Уксусная кислота	Пропионовая кислота	Масляная кислота	Изомасляная кислота	Валериановая кислота	Изовалериановая Кислота	Капроновая Кислота	Изокапроновая Кислота
№ группы	Me (25%-75%)							
1-ая	0,167 (0,059-0,247)	0,039 (0,02-0,055)	0,022 (0,005-0,044)	0,02 (0,015-0,031)	0,001 (0,001-0,001)	0,003 (0,001-0,004)	0,002 (0,001-0,002)	0,001 (0,001-0,001)
2-ая	0,221 (0,128-0,336)	0,034 (0,023-0,059)	0,015 (0,013-0,022)	0,02 (0,016-0,024)	0,002 (0,001-0,003)	0,002 (0,001-0,003)	0,002 (0,001-0,002)	0,001 (0,001-0,001)
3-ая	0,075 (0,06-0,368)	0,02 (0,006-0,032)	0,006 (0,003-0,016)	0,016 (0,011-0,019)	0,002 (0,001-0,003)	0,002 (0,001-0,004)	0,003 (0,001-0,004)	0,000 (0,000-0,001)
4-ая	0,085 (0,034-0,147)	0,017 (0,006-0,04)	0,003 (0,002-0,024)	0,011 (0,007-0,013)	0,001 (0-0,004)	0,001 (0,001-0,001)	0,002 (0,001-0,003)	0,001 (0,001-0,001)
5-ая	0,082 (0,035-0,195)	0,023 (0,01-0,029)	0,006 (0,002-0,014)	0,017 (0,011-0,024)	0,001 (0-0,001)	0,003 (0,002-0,005)	0,002 (0,002-0,002)	0,001 (0,001-0,001)
6-ая	0,065 (0,029-0,088)	0,012 (0,009-0,031)	0,004 (0,002-0,014)	0,013 (0,01-0,016)	0,001 (0-0,002)	0,002 (0,001-0,004)	0,001 (0,001-0,002)	0,000 (0,000-0,001)

Изучены корреляционные взаимосвязи между уровнем КЦЖК и количественными параметрами лейкоформулы крови. Выявлен ряд позитивных взаимосвязей. Установлена положительная корреляция между концентрацией изокапроновой кислоты и общим количеством лейкоцитов ($R=0,4325$, $p=0,0444$), а также количеством лимфоцитов ($R=0,5154$, $p=0,0141$).

Концентрация валериановой кислоты позитивно коррелирует с общим количеством лейкоцитов ($R=0,4837$, $p=0,0225$) и количеством лимфоцитов ($R=0,5126$, $p=0,0147$) периферической крови.

В группах животных, не получавших БАД Рекицен-РД (1,3,4), была установлена позитивная корреляция между объемом светлых центров

Пейеровых бляшек и уровнем капроновой кислоты ($R=0,5274$, $p=0,0117$) и уровнем изомасляной кислоты ($R=0,4624$, $p=0,0263$).

Показатель отражающий индивидуальное значение максимального объема белой пульпы селезенки позитивно коррелировал с уровнем мономера масляной кислоты ($R=0,438$, $p=0,047$), с уровнем изомасляной кислоты ($R=0,6099$, $p=0,0033$), и соответственно с общим количеством масляной кислоты в крови ($R=0,5229$, $p=0,015$). Кроме того, данный показатель коррелировал с уровнем уксусной кислоты ($R=0,6872$, $p=0,0008$). Так же, следует отметить, что уровень изомасляной кислоты позитивно коррелировал с показателем, отражающим минимальный объем белой пульпы селезенки ($R=0,5081$, $p=0,0221$). Уровень капроновой кислоты достоверно коррелировал с количеством гепатоцитов с признаками повреждения ($R=0,4416$, $p=0,045$).

Так же, при анализе корреляционных взаимосвязей между концентрацией КЦЖК и показателями лейкоформулы, были выявлены корреляции между уровнем пропионовой кислоты и количеством эозинофилов периферической крови ($R=0,4398$, $p=0,0406$), уровнем изокапроновой кислоты и количеством лейкоцитов ($R=0,4732$, $p=0,0261$), и лимфоцитов ($R=0,509$, $p=0,0154$) периферической крови.

Различия в корреляционных взаимосвязях между группами, находящимися на типовом рационе вивария, и группами, получавшими в

дополнение к основному рациону БАД «Рекицен-РД», связаны с особенностями выработки и метаболизма КЦЖК.

Как видно из изложенного выше, при использовании типового рациона, выявлен широкий спектр позитивно регулирующих влияний метаболитов симбионтного пищеварения на состояние органов лимфоидной системы. Вероятно, это связано с развитием относительного дефицита КЦЖК в этой ситуации. При добавлении в диету натурального комплекса ФПВ и КЦЖК эта закономерность нивелируется. Это положение подтверждается улучшением регенеративного потенциала лимфоидной ткани при дополнении к типовому рациону БАД «Рекицен-РД».

После образования КЦЖК быстро утилизируются (Белобородова Н.В., Белобородов С.М., 2000; Hamer Н.М., 2009), поэтому не выявлено различий их концентраций у различных групп экспериментальных животных.

Глава 5. Влияние натуральных комплексов ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот на уровень устойчивости к стрессу старых крыс в тесте открытого поля.

Как уже обсуждалось ранее, в процессе старения закономерно развивается общее снижение устойчивости к действию стрессорных факторов. Данный процесс имеет полиэтиологическое происхождение. С возрастом развивается нарушение эндокринологических закономерностей регулирования выработки эндогенных глюкокортикоидов, развивается дефицит синтеза эндогенного серотонина (Дильман В.М., 1987; Oliveira-Silva I.F., 2007) и эндогенная провоспалительная гиперцитокинемия (Тодоров И.Н., Тодоров Г.И., 2003).

С возрастом в структурах среднего мозга увеличивается активность моноаминоксидазы (Дильман В.М., 1987), что закономерно ведет к развитию дефицита серотонина и, как следствие, мелатонина. В процессе старения повышается уровень провоспалительных цитокинов, способствующих активации фермента индоламина-2,3-диоксигеназы, который разрушает триптофан, в результате чего, снижается синтез серотонина и мелатонина различными структурами организма, поскольку триптофан является их предшественником. Данные механизмы способствуют развитию повышенной тревожности в условиях эмоционального стресса у лиц пожилого возраста (Козлова С.Н., и др., 2009).

Ранее нами было показано, что применение БАД «Рекицен-РД», способствует уменьшению выраженности патоморфологических проявлений дистресса у старых лабораторных животных. Так же, было показано, что применение диеты, содержащей комплексы ФПВ и КЦЖК, способствуют увеличению количества гранул серотонина в тромбоцитах периферической крови, определяемого гистохимическим методом Фонтан-Массона. Так же, ранее были представлены данные о том, что применение БАД «Рекицен-РД» способствует снижению концентрации IL-1 β в крови пациентов с хроническими воспалительными процессами различной локализации.

Не изучено влияние функционального питания, включающего натуральный комплекс ФПВ и КЦЖК, на проявления эмоционального стресса у старых животных.

Выше представленные материалы свидетельствуют об актуальности изучения влияния комплекса ферментированных пищевых волокон и корокоцепочечных жирных кислот на проявления эмоционального стресса у старых лабораторных крыс в тесте «открытого поля».

В процессе исследования изучали поведение животных в тесте «открытое поле». Были изучены различные показатели, отражающие уровень тревоги экспериментальных животных в новых нетипичных условиях.

Результаты изучения влияния натуральных комплексов ФПВ и КЦЖК на поведение животных в открытом поле представлены в табл. 11. Горизонтальная активность (общее число пересеченных квадратов) и вертикальная активность (число вертикальных стоек) отражают уровень исследовательской активности в новых условиях, реализации которой препятствует чувство тревоги и страха. Большее количество пересеченных квадратов и вертикальных стоек указывает на более низкий уровень тревожности. Изучено время выхода животных из центрального квадрата. Продолжительность времени, проведенного в центральном квадрате, является мерой выраженности тревожности. Длительное пребывание в центральном квадрате отражает высокий уровень страха и тревоги. Общее количество уринаций и дефикаций также является мерой тревожности, чем выше данный показатель, тем более выраженный уровень страха и тревоги у экспериментального животного. Изучены различные варианты груминга. Короткий груминг, характеризующийся 1 – 2 быстрыми круговыми движениями лап вокруг носа и небольшой области около него, отражает наличие стресса, тревоги. Длительный груминг характеризуется умыванием области глаз, заведением лап за уши и переход на умывание всей головы, лап, боков, туловища, аногенитальной области, хвоста. Этот вариант груминга отражает наличие комфорта (Ломако В.В., Шило А.В., 2009;

Симбирцев А.С., и др., 2009; Brown R. E., et al., 1999; Bronikowski A.M., et al., 2001).

Как видно из результатов, представленных в табл. 11, различий горизонтальной активности внутри первой группы, а так же между исходным фоном и 2-ой группой выявлено не было ($pW_{1-1}=0,4967$, $pU_{1-2}=0,2845$).

При анализе размаха в отношении горизонтальной активности в каждой из групп следует отметить более однородные показатели относительно исходного фона в группах после использования функционального питания, включающего натуральные комплексы ферментированных ПВ и КЦЖК ($p_{\text{ТМФ}1-1}=0,0198$, $p_{\text{ТМФ}1-2}=0,0325$).

Это, по-видимому, свидетельствует о модулирующем действии данного варианта диеты.

Исследование вертикальной активности в открытом поле также не позволило выявить достоверных различий между группами ($pW_{1-1}=0,2026$, $pU_{1-2}=0,6965$). При исследовании размаха результатов в выборке, достоверно более однородные результаты были получены во второй группе ($p_{\text{ТМФ}1-2}=0,0325$). Внутри первой группы по однородности данный показатель не различался ($p_{\text{ТМФ}1-1}=0,0867$) с исходным фоном.

Изучено время выхода животных из центрального квадрата. Продолжительность времени, проведенного в центральном квадрате, является мерой выраженности тревожности. Длительное пребывание в центральном квадрате отражает высокий уровень страха и тревожности. Установлено уменьшение времени пребывания животных при использовании функционального питания ($pW_{1-1}=0,007$, $pU_{1-2}=0,0435$).

Как видно из таблицы, при анализе общего количества уринаций и дефекаций достоверных различий между исходным фоном и второй группой

Влияние натуральных комплексов ФПВ и КЦЖК на поведение животных в открытом поле

Показатель	1 группа (исходный фон)	1' группа (через 18 дней кормления БАД «Рекицен- РД») Ме (25-75%)	2-ая группа Ме (25-75%)
Количество пересеченных квадратов	50 (9-59)	19,5 (12-35)	47 (42-60)
Количество вертикальных стоек	13 (3-18)	8,5 (1-13)	13 (13-14,5)
Количество уринаций и дефикаций	3,5 (1-4)	0,5 (0-1)*	2 (0-3)
Время выхода из центрального квадрата (сек)	4,5 (2-8)	1 (1-4)**	1 (1-1)*
Время длительного груминга (сек)	11,5 (3-22)	55 (4-108)*	39 (28-77)**
Количество актов короткого груминга	0 (0-1)	0 (0-1,5)	0,5 (0-1)

Примечание: * $p > 0,05$ в сравнении с исходным фоном, ** $p > 0,01$ в сравнении с исходным фоном.

выявлено не было ($pU_{1-2}=0,2775$). При анализе различий внутри первой группы отмечено уменьшение данного показателя ($pW_{1-1}=0,0495$) после кормления БАД «Рекицен-РД». В отношении однородности данного показателя следует отметить, что достоверные различия получены внутри первой группы ($p_{\text{тмф}1-1}=0,0325$), в отношении второй группы данный показатель не отличался по однородности относительно исходного фона ($p_{\text{тмф}1-2}=0,1409$).

В табл. 11 приведены результаты, отражающие время длительного груминга и количество актов короткого груминга. После применения функционального питания, включающего натуральные комплексы ФПВ и КЦЖК, увеличилось время длительного груминга ($pW_{1-1}=0,0284$, $pU_{1-2}=0,0021$) относительно исходного фона. Количество актов короткого груминга достоверно не различалось ($pW_{1-1}=0,7998$, $pU_{1-2}=0,8965$) в сравнении с исходным фоном. Представленные данные свидетельствуют о снижении тревожности и страха в открытом поле после использования функционального питания.

При анализе достоверности различий между показателями, полученными в первой группе и во второй группе при использовании функционального питания, получены ниже следующие результаты. При анализе горизонтальной активности отмечено увеличение данного показателя во второй группе ($pU_{1-2}=0,0029$). При анализе вертикальной активности достоверных различий выявлено не было ($pU_{1-2}=0,0675$). Время выхода из центрального квадрата ($pU_{1-2}=0,258$) и время груминга ($pU_{1-2}=0,9048$) так же не различались. Количество актов короткого груминга достоверно не различалось ($pU_{1-2}=0,4966$).

Результаты в обеих группах после кормления БАД «Рекицен-РД®» указывают на то, что нет выраженных достоверных различий при повторном или однократном исследовании в условиях открытого поля, за исключением количества пересеченных квадратов и общего количества уринаций и дефекаций. Данное различие, вероятно, связано с повторным помещением животных в условия открытого поля, и с развитием у них стандартной

неспецифической адаптационной реакции, названной реакцией тренировки, возникающей на незначительные по силе воздействия (Гаркави Л. Х., Квакина Е. Б., 1996). В основе данной закономерности может быть снижение актуальности раздражителя при повторном его действии и уменьшение выраженности ориентировочного рефлекса как реакции на новизну.

Механизм действия функционального питания, включающего натуральные комплексы ФПВ и КЦЖК, обусловлен, как уже отмечалось ранее, увеличением резистентности к стрессорным факторам из-за увеличения активности серотонинэргических структур, а также с выраженным модулирующим действием функционального питания в отношении концентрации провоспалительных цитокинов.

Заключение.

Вероятность поддержания здоровья и профилактики заболеваний человека еще Гиппократом рассматривалась как актуальная проблема медицины. В этой связи он писал, что хорошо, когда пища является целебным средством, а целебные средства - пищей. В поддержании здоровья и долголетия большое значение постоянно уделяется роли ценозов микроорганизмов, населяющих кишечник. На это указывал и наш великий соотечественник, нобелевский лауреат, основоположник теории клеточных основ иммунитета Илья Ильич Мечников, который создал продукты питания, нацеленные на восстановление нормофлоры толстого кишечника. Это была первая попытка создания биологически активных добавок, направленных на восстановление симбионтного пищеварения.

Дальнейшие исследования подтвердили, что компоненты пищи действительно могут модулировать различные функции организма, способствовать поддержанию здоровья и уменьшению риска формирования некоторых заболеваний (Покровский В.И. и др., 2002; Roberfroid M.B., 1999; Pelucchi C., et al. 2004; Tedelind S., et al., 2007; Chuang S.C., et al., 2011; Matos D.A., et al., 2011; Pałkowska E., et al., 2012 и др.).

Представленные материалы являются основой для формирования концепции функционального питания, интерес к которой и ее активным компонентам все более возрастает. Важнейшими потенциальными ингредиентами функциональной пищи являются пищевые волокна, поскольку общеизвестно, что в питании современного человека содержание пищевых волокон менее 30% от нормы, которая составляет 25 и более граммов в сутки (Roberfroid M.B., 1999; Milner J.A., 1999; Покровский В.И. и др., 2002). По данным Национальной Академии наук среднее потребление пищевых волокон в США у женщин составляет 13 грамм в день, у мужчин - 18 грамм в день, что меньше чем установленная суточная доза - 25 граммов (Adam-Perrot A., et al., 2009).

Ферментации в толстом кишечнике подвергаются практически все ингредиенты пищи, которые до него доходят. Важнейшим компонентом питания, который переваривается только при участии симбионтной микрофлоры, это пищевые волокна (Белобородова Н.В., Белобородов С.М., 2000; Ардатская М.Д. 2003; Hopkins M.J., et al., 2003; Lupton J.R., 2004; Hamer H.M., 2009). В процессе симбионтного пищеварения рождаются вторичные нутриенты (Уголев А.М., 1987). Важнейшими метаболитами, образующимися при ферментации пищевых волокон, являются короткоцепочечные жирные кислоты, обладающие широким спектром адаптивной активности (см. табл. 12).

Общеизвестны материалы, касающиеся дефицита пищевых волокон в питании современного человека. Это определяет риск формирования ряда важнейших патологических процессов и нозологических форм (Покровский В.И., и др., 2002; Roberfroid M.B., 1999; Milner J.A., 1999; Pelucchi C., et al., 2004; Pereira M.A, 2004; Lupton J.R., 2004; Tedelind S., et al., 2007; Matos D.A., et al., 2011; Pałkowska E., et al., 2012 и др.).

Как уже отмечалось ранее, пищевые волокна без изменений доходят до толстого кишечника, где подвергаются симбионтному пищеварению. Процесс метаболизации пищевых волокон состоит из двух основных этапов.

Первый этап. Включает движение пищевого волокна в толстый кишечник и накопление продуктов симбионтного пищеварения в ходе переваривания их ферментами представителей нормофлоры.

Второй этап. Включает процесс всасывания продуктов симбионтного пищеварения, например, различных вариантов КЦЖК во внутренние среды организма и их использование.

Таким образом, при использовании интактных натуральных пищевых волокон время начала действия короткоцепочечных жирных кислот лимитируется скоростью транзита пищевых волокон по толстому кишечнику и скоростью их ферментации.

Функции короткоцепочечных жирных кислот

1. Устранение дисбиотических процессов, восстановление колонизационной резистентности слизистой кишечника.
2. Нормализация метаболизма половых гормонов.
3. Нормализация двигательной активности толстого кишечника (антидиаррейный и антизапорный эффекты).
4. Нормализация абсорбции кальция, магния, железа, воды.
5. Нормализация дифференцировки и апоптоза, антиканцерогенные эффекты.
6. Регуляция активности генов, обеспечивающих синтез ферментов, вовлеченных в процессы детоксикации ксенобиотиков, эндогенных веществ, продуктов свободно-радикальных процессов.
7. Регуляция активности генов, обеспечивающих синтез ферментов, вовлеченных в процессы липидогенеза.
8. Нормализация иммунных закономерностей (нормализация активности Т-хелперов 1, усиление процессов хемотаксиса, «укрепление» барьеров организма).
9. Восстановление противовоспалительного потенциала (нормализация выработки и блокирование эффектов провоспалительных цитокинов через торможение NF-κB).

Представленная модель используется для устранения дефицита пищевых волокон в эксперименте на животных и в питании человека. Пищевые волокна являются эффективными компонентами функционального питания, используемого в профилактике ряда заболеваний и как дополнение к лекарственной терапии (Покровский В.И., и др., 2002; Roberfroid M.B., 1999; Milner J.A., 1999; Lupton J.R., 2004; Pelucchi C., et al. 2004; Pereira M.A., 2004; Tedelind S., et al., 2007; Matos D.A., et al., 2011; Pałkowska E., et al., 2012 и др.).

Установлено, что применение диеты, обогащенной пищевыми волокнами, препятствует формированию дисбактериоза, воспалительных и онкологических заболеваний желудочно-кишечного тракта (Покровский В.И., и др., 2002; Andoh A., et al., 2002; Bijkerk C.J., et al., 2004; Muris J.W.M., 2004; Tedelind S., et al., 2007).

Эти закономерности обусловлены противовоспалительными и антиканцерогенными эффектами короткоцепочечных жирных кислот, являющихся продуктами обмена анаэробной бактериальной ферментации пищевых волокон. Установлено ингибирующее действие такой короткоцепочечной жирной кислоты, как бутират, на NF- κ B, через который реализуются провоспалительные эффекты цитокинов (Andoh A., et al., 2003). КЦЖК модулируют экспрессию генов, регулирующих клеточный цикл и вызывающих апоптоз в раковых клетках толстой кишки, а также повышают чувствительность раковых клеток толстой кишки к элиминации их иммунными факторами (Andoh A., et al., 2003; Tedelind S., et al., 2007; Al-Lahham S.H., et al., 2010). Ruemmele F.M., et al. (2003) установили, что бутират, являющийся одной из короткоцепочечных жирных кислот, хорошо известен как противоопухолевое средство, которое селективно вызывает апоптоз в раковых клетках толстой кишки, но не в нормальных эпителиальных клетках кишечника.

Stollman N., Raskin J.B. (2004), Korzenik J.R. (2006), установили, что недостаточное потребление пищевых волокон является существенным фактором патогенеза дивертикулезной болезни кишечника.

В работе Pelucchi C., et al. (2004) установлено, что риск формирования рака предстательной железы был противоположно связан с использованием в пищу диеты, обогащенной как растворимыми, так и нерастворимыми пищевыми волокнами. Эта связь не зависела от возраста, истории болезни о раке простаты, массы тела и образования.

Потребление пищевых волокон из круп и фруктов противоположно связано с риском возникновения сердечных коронарных заболеваний (Liese A.D., et al. 2003; Pereira M.A., et al. 2004; Eshak E.S., et al. 2010; Kokubo Y., et al. 2011). Общеизвестна и негативная зависимость потребления пищевых волокон и формирования диабета второго типа (vanDam R.M., 2003; Liese A.D., et al. 2003).

Установлено, что диета, обогащенная пищевыми волокнами, стимулирует абсорбцию кальция, магния и железа, как у людей, так и у животных (van den Neuvel EG, et al. 1999; Shiga K., et al. 2003).

Устранение дефицита пищевых волокон, как установлено в экспериментальных и эпидемиологических исследованиях, снижает риск формирования рака молочных желез из-за подавления бактериального гидролиза конъюгата компонентов желчи и эстрогенов и нормализации уровней циркулирующих эстрогенов (Suzuki R., et al., 2008; Zhang C.X., et al., 2011).

Общеизвестно, что устранение дефицита пищевых волокон в питании оптимизирует метаболизм половых стероидов. Так, продукты ферментации пищевых волокон препятствуют накоплению в процессе их биотрансформации Р-450 зависимыми монооксигеназами метаболитов как мужских, так и женских половых гормонов, обладающих выраженной канцерогенной активностью (Гичев Ю.Ю., Гичев Ю.П., 2001).

Показательны исследования, проведенные Delzenne N.M., Kok N. (2001), Esmael O.A., et al., (2013). У людей и у животных диета, обогащенная ПВ (олигофруктоза и инулин), может регулировать липидемию и триглицеридемию. Действие ПВ происходит благодаря уменьшению синтеза жирных кислот в печени через торможение выработки липидогенных

ферментов, а именно, ацетил-СоА карбоксилазы, синтазы жирных кислот, АТР цитратной лиазы и глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы. КЦЖК, образующиеся при ферментации ПВ, изменяют генную экспрессию липогенных ферментов, снижают уровень глюкозы и инсулина в сыворотке после приема пищи.

Таким образом, диета, обогащенная интактными пищевыми волокнами, обладает высокой эффективностью при ее длительном профилактическом использовании.

В нашей работе использовался БАД «Рекицен-РД» (производство ЗАО «Ягодное», г. Киров), представляющий натуральный комплекс ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот, который является натуральным продуктом ферментации пищевых волокон пшеничных отрубей винными дрожжами. Данная биологически активная добавка к пище применяется для устранения дефицита пищевых волокон и их метаболитов (КЦЖК) в питании человека.

Механизм действия данного продукта отличается от действия интактных пищевых волокон. Энтеральное использование данного продукта на первом этапе обеспечивает заместительную терапию дефицита КЦЖК, являющуюся вполне физиологичной (Кузнецов В.Ф., Кулемин Л.М. Бондаренко В.М., 2007). На втором этапе в толстом кишечнике происходит метаболизация нормофлорой ферментированных пищевых волокон, содержащихся в БАД «Рекицен-РД», с образованием новых порций короткоцепочечных жирных кислот. Таким образом, корпускулы ФПВ являются предшественниками КЦЖК.

Обратимся к данным, представленным в исследовании, проведенном в лаборатории генетики вирулентности бактерий НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН профессором В.М. Бондаренко. Определение содержания КЦЖК осуществляли с использованием метода газожидкостной хроматографии (табл. 13).

Как видно из табл. 13, в БАД «Рекицен-РД» содержатся все виды КЦЖК. Следует отметить, что их соотношение и концентрация находятся в интервалах физиологических норм, соответствующих нормальному содержанию КЦЖК в

просвете толстого кишечника у человека. Как уже отмечалось ранее, основное место производства КЦЖК - кишечник, где ежедневно образуется 200-1000 ммоль КЦЖК (Шендеров Б.А., 1999; Белобородова Н.В., Белобородов С.М., 2000). С фекалиями экскретируется только 5% КЦЖК (Topping D.L., Clifton P.M., 2001), а большая часть кислот утилизируется эпителиальными клетками кишечника как энергетический субстрат. Основная доля кислот всасывается из толстого кишечника и попадает в портальную вену, где концентрация КЦЖК во внутренней среде организма максимальна. Следует отметить, что процесс ферментации углеводов бактериями является универсальным механизмом получения энергии в условиях среды, бедной кислородом.

Исследование спектра эффективности использования данного продукта в качестве компонента функционального питания проведено в экспериментальных моделях *in vivo*, а также в клинических исследованиях у человека, а также у животных в условиях ветеринарной клиники.

Широкий спектр адаптационных эффектов БАД «Рекицен-РД» обусловлен именно содержанием в своем составе ферментированных пищевых волокон. Так в исследовании, проведенном в ГУ «Научно-производственный центр экологической безопасности» МЗ РФ было показано, что ферментированные пищевые волокна обладают более высокой сорбционной активностью в отношении свинца, ксилола, бензола, толуола в сравнении с интактными пищевыми волокнами (Кулемин Л.М., и др., 2004). Однако следует отметить, что основной детоксикационный эффект ферментированных пищевых волокон обусловлен усилением детоксикационной функции печени. В исследовании, проведенном Пермским краевым научно-исследовательским клиническим институтом детской экопатологии, было установлено, что добавление БАД «Рекицен-РД» в диету детей из экологически неблагоприятных районов г. Перми снижало содержание в волосах свинца, хрома и марганца, а так же концентрацию бензола в моче (Кулемин Л.М., и др., 2004).

Таблица 13

Количественное содержание КЦЖК в различных сериях БАД «Рекицен-РД»
(Бондаренко В.М. 2007)

Названия КЦЖК и их количество (в мг/г)	Серия	Серия	Серия
	1	2	3
С2 (уксусная)	0,930	0,943	0,965
С3 (пропионовая)	0,129	0,157	0,162
iС4 (изомасляная)	0,037	0,013	0,032
С4 (масляная)	0,111	0,058	0,061
iС5 (изовалериановая)	0,044	0,084	0,042
С5 (валериановая)	0,058	0,020	0,028
iС6(изокапроновая)	0,011	0,024	0,015
С6 (капроновая)	0,045	0,028	0,044
Общий уровень КЦЖК	1.365	1.303	1.349
Анаэробный Индекс (АИ)	0,054	0,046	0,051

В исследовании, проведенном в Кировской государственной медицинской академии, была доказана высокая эффективность применения БАД «Рекицен-РД» в комплексном лечении острых кишечных инфекций, в частности сальмонеллеза у детей. Это выразилось в более быстром купировании клинических симптомов и снижении повторной высеваемости возбудителя, в сравнении со стандартной комплексной терапией (Золотарев Ю.В., 2000). Данное исследование явилось частью докторской диссертационной работы на соискание ученой степени доктора медицинских наук.

Прокомментируем некоторые из представленных в таблице исследований. В работе, проведенной в Пермской государственной медицинской академии, было установлено, что применение данного продукта способствует выраженному улучшению отдаленных результатов лечения хронического инфекционного простатита после окончания антибактериальной терапии (Давидов М.И., и др., 2012). Так, через 4 месяца после отмены антибиотиков в группе пациентов, получавших в дополнение к основному лечению БАД «Рекицен-РД», симптомы заболевания были менее выражены, а показатели качества жизни были достоверно выше, чем в группе получавших стандартное лечение.

Установлена высокая степень безопасности и эффективности использования функционального питания, включающего ферментированные пищевые волокна и короткоцепочечные жирные кислоты, в дополнение к лекарственной терапии у детей при хроническом пиелонефрите (Косарева П.В., 2010). Данное исследование проведено в нефрологическом отделении городской детской клинической больницы № 9 им. Пичугина П.И., г. Пермь в 2010. Установлено, что добавление к основной терапии натурального комплекса ФПВ и КЦЖК, способствует более быстрому устранению клинических симптомов, таких как интоксикация, поллакиурия, стронгурия,

Виды экспериментальных моделей и клинических исследований, изучения эффективности и безопасности функционального питания с включением Рекицена-РД

№ п\п	Вид исследования (in vitro, экспериментальная модель in vivo, клинические исследования)	Авторы исследования
	I. Сорбционная активность in vitro в тношении:	
1.	- белковых экзотоксинов	Юрченко А.В., Федотов А.К., 1997
2.	- липополисахаридных	
3.	эндотоксинов	-----«-----
4.	- микробных протеаз	-----«-----
	- металлов и ароматических	Кулемин Л.М., и др., 2003
	углеводородов	
5.	II. Экспериментальные модели in vivo:	
6.	- интоксикация ботулиническим	Юрченко А.В., Федотов А.К., 1997
	токсинам типа А	
	- интоксикация трихотеценовым	Кравченко Л.В., Авреньева Л.И., 2002
7.	микотоксином Т-2	
	III. Клинические исследования при:	
8.	- многокомпонентной	Кулемин Л.М., и др., 2004
9.	химической нагрузке;	Кокаев Г.С., Зайцев В.В., 1999
10.	- алкогольной патологии;	Мотовилова В.П., Дейниченко
11.	- туберкулезе, сальмонеллезе;	Е.А., 2001; Золотарев Ю.В., 2000
12.	- неходжкинских лимфомах;	Загоскина Т.П., 2010
	- лучевой терапии пациентов с	Василькова Н.И., Ананьева Е.Н., 2005
13	опухольями брюшной полости и	
14	органов малого таза.	
15	- инфекционном простатите;	Давидов М.И. и др., 2012
	- ВСД у военнослужащих;	Телегин Ю.А., и др., 2002
	- гастроэнтерологической	
16	патологии лиц старческого	Войчук А., и др., 2001
	возраста;	
17	- иммунные дисфункции при	Кузнецов В.Ф., и др. 2006
18	воспалительных заболеваниях	
19	- аллергодерматозы у детей;	Гусева С.Н., и др., 2001
20	- хроническом пиелонефрите у	Косарева П.В. 2010
21	детей;	
22	- дисбактериозе у дететей;	-----«-----
	- гломерулонефрите у детей;	-----«-----

23	<ul style="list-style-type: none">- при беременности;- при стоматологической патологии- воспалительных заболеваниях желудочно-кишечного тракта в ветеринарии	Сандакова Е.А., 2005 Банченко Г.В., Ростокин Ю.Н., 1999 Черанева М.В., 2012
----	--	---

лейкоцитурия. Данное исследование так же явилось частью диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук.

Детоксикационные эффекты использования натурального комплекса ФПВ и КЦЖК установлены при лечении онкологических заболеваний. Исследования были проведены в Кировском областном клиническом онкологическом диспансере, в отделении дистантной лучевой терапии и в Кировском научно-исследовательском институте гематологии и переливания крови. Установлено позитивное влияние натурального комплекса ФПВ и КЦЖК на токсические осложнения лучевой терапии при лечении рака органов брюшной полости и малого таза, а также токсические осложнения при химиотерапии неходжкинских лимфом. Использование функционального питания позволило провести полный комплекс лечебных мероприятий и потенцировало лечебные эффекты лучевой и лекарственной терапии (Василькова Н.И., Ананьева Е.Н., 2005; Загоскина Т.П., 2010).

Материалы, представленные ранее, свидетельствуют о том, что обогащение диеты пищевыми волокнами либо устранение дефицита пищевых волокон, обладает беспрецедентной способностью обеспечивать профилактику целого ряда важнейших заболеваний человека.

При стрессе микробиологический баланс в кишечнике может нарушаться, это приводит к возрастанию популяций патогенных микроорганизмов. Редуцируется анаэробная микрофлора, что проявляется в снижении лактобактерий. Этот процесс коррелирует с увеличением уровня кортикостероидов и усилением роста колиформных бактерий. У поросят при стрессе число лактобактерий снизилось в 1000 раз, а число *E. Coli* существенно возросло (Mathew A.G., et al., 1996; Bosi P., Trevisi P., 2010). Представленные данные указывают на необходимость использования при стрессе диеты, содержащей высокие концентрации пищевых волокон.

При этом не достаточно изучены антистрессорные эффекты устранения дефицита пищевых волокон на уровне макроорганизма, с одной стороны, и их герантопротекторные эффекты – с другой стороны. На наш

взгляд это крайне важно, поскольку важнейшим механизмом старения, как известно (Дильман В.М., 1987; Тодоров И.Н., Тодоров Г.И., 2003), является стресс, который избыточно выражен в количественном отношении.

В соответствии с этим, В.М. Дильманом была сформулирована нейроэндокринная теория старения. Общеизвестно, что гомеостаз обеспечивается системой гипоталамус-гипофиз-кора надпочечников. Деятельность этой системы осуществляется по принципу «обратной связи». Большое значение имеет ингибирование начального стимулирующего импульса обратной связью, когда цель уже достигнута. С возрастом чувствительность гипоталамуса к отрицательной обратной связи снижается. Гипоталамические структуры не отвечают отрицательной обратной связью на избыток кортикостероидов, который в старости может быть даже при отсутствии воздействия стрессоров. По Дильману именно несбалансированный стресс является патогенетической основой старения и дегенеративных болезней (Дильман В.М., 1982, 1987).

С представленной концепцией согласуются результаты исследований В.В. Фролькиса (1991), сформулировавшего представления о стресс-возраст-синдроме, в рамках которого старение рассматривается как вариант хронического стресса.

Молодые животные, содержащиеся в условиях разнополой стаи, испытывают сильный стресс, связанный с социальным и половым поведением (Taylor G.T., et al., 1986; Clougherty J. E., et al., 2010).

Представленные выше адаптационные эффекты пищевых волокон делают крайне актуальным использование функционального питания, обогащенного пищевыми волокнами, для коррекции стресса, как у молодых, так и у старых животных.

Интересно, что подобные исследования начались совсем недавно. Известно, что иммобилизационный стресс и инъекции кортикотропин-релизинг-фактора стимулируют кишечный транзит и двигательную активность кишечника у крыс (Takahasi T., et al., 2008). Эта

экспериментальная модель считается прообразом диареи при синдроме раздраженного кишечника у людей (Takahasi T., et al., 2008; Kanauchi O., et al., 2010). Для коррекции этих нарушений в течение четырех недель использовали диету, обогащенную пищевыми волокнами (Takahasi T., et al., 2008). В качестве пищевых волокон использовали зерновые полисахариды (крахмал), которые почти полностью ферментируются в тонком кишечнике, а также картофельный крахмал, который резистентен к альфа-амилазе и его потребление ведет к усилению ферментации в толстом кишечнике. Использование диеты, обогащенной картофельным крахмалом, увеличивает слепокишечную концентрацию короткоцепочечных жирных кислот в существенно большей степени, чем при использовании зернового крахмала. Ускорение кишечного транзита, индуцированное стрессом и кортикотропин-релизинг-фактором, существенно ослаблялось у животных, получавших картофельный крахмал, в сравнении с животными, получавшими зерновой крахмал.

Таким образом, ежедневное употребление диеты, обогащенной трудно ферментируемыми пищевыми волокнами, предотвращает индуцированное стрессом и кортикотропин-релизинг-фактором (КФР) ускорение кишечного транзита и диареи. Представленный вариант диеты становится важной составляющей как приложение к лекарственной терапии при лечении синдрома раздраженного кишечника (Talley N.J., 2003; Spiller R., 2007; Spiller R., et al., 2007).

При различных вариантах стресса, протекающих в варианте дистресса, (стресс избегания воды, иммобилизационный стресс) (Larauche M., et al., 2012) закономерно изменяются функции толстого кишечника. Происходит увеличение проницаемости стенки кишечника, усиливается моторная функция, развивается висцеральная гиперчувствительность, в зависимости от силы стрессора происходит увеличение или снижение болевых порогов (Gareau M.G., Silva M.A., Perdue M.H., 2008; Larauche M., Kiank C., Taché Y., 2009; Taché Y., Kiank C., Stengel A., 2009). Многие из представленных

изменений деятельности толстого кишечника формируются чрезвычайно быстро. В частности, при стрессе избегания воды происходит усиление выработки КРФ в паравентрикулярных ядрах гипоталамуса и активация оси гипофиз - кора надпочечников. Одновременно происходит образование церебральных КРФ-рецепторов, вызывающих стимуляцию моторной активности толстого кишечника, выявляемую уже через один час после начала стрессорного воздействия (Bonaz B, Taché Y., 1994; Kresse AE, 2001). Это сочетается со снижением порога к висцеральной боли (Yu Y.B., 2010).

Диета, включающая 4% ферментированные рисовые пищевые волокна, в этой ситуации потенцирует висцеральную анальгезию и полностью предотвращает развитие гиперальгезии, что свидетельствует об анальгетическом потенциале пребиотической диеты. Представленная пребиотическая диета снижает стресс-индуцированную висцеральную гиперчувствительность также при иммобилизационном стрессе (Kanauchi O., 2010). Приведенные на фоне пребиотиков антиноцицептивные эффекты, в частности, обусловлены увеличением экспрессии опиоидных и канабиноидных рецепторов на эпителиальных клетках (Ait-Belgnaoui A., et al., 2006; Kamiya T., et al., 2006; Rousseaux C., 2007)

При использовании диеты, обогащенной пищевыми волокнами, в 2.2 раза уменьшается число стресс-индуцированных микроскопических повреждений слизистой кишечника, которые приводили к увеличению проницаемости стенки толстого кишечника (Yang P.C., et al., 2006; Zareie M., et al., 2006) и увеличению бактериальной транслокации (Khalif I.L., et al., 2005; Porras M., et al., 2006). Приведенные позитивные изменения коррелируют с увеличением бутирата и снижением изобутирата (Larauche M., 2012).

Достаточно подробно изучены проявления стресса, формирующиеся у разных видов животных при отъеме от груди. Оказалось, данный феномен является источником физиологического и психологического стресса у многих видов животных и характеризуется стандартной стрессорной реакцией с типичным ответом кортизола на АКТГ с последующим увеличением

этих гормонов в крови. Для нивелирования явлений дистресса при отъеме от груди используют цельное зерно, в шелухе которого содержится большое количество медленно ферментируемых пищевых волокон (Hoffman R.M., et al., 1995).

Кормление диетой, включающей растворимые полисахариды, которые быстро ферментируются, не нашли широкого применения, поскольку ассоциируются с определенными болезнями животных (колики в животе, ламинит, осматическая диаррея), а также с формированием гипертермии или легко возбудимого поведения животных. Замена быстро гидролизуемых углеводов в диете на пищевые волокна, которые медленно и трудно метаболизируются минимизируют некоторые эффекты стресса животных. При этом следует отметить, что в целом ряде работ отмечена низкая эффективность использования пробиотиков при стрессе (Swanson C.A., 2002).

Изучены эффекты диеты, включающей медленно и трудно метаболизируемые пищевые волокна, на стресс у чистокровных жеребят при отъеме от груди. Параллельно у других групп животных использовали диету, включающую быстро и легко ферментируемые пищевые волокна (Swanson C.A., 2002). Использование трудно перевариваемых пищевых волокон приводит к более высоким концентрациям IgA, IgG и альфа-токоферола в сыворотке крови, нивелированию дисбаланса микрофлоры кишечника. Представленные изменения сочетаются с меньшими концентрациями бутирата и валериановой кислоты в фекалиях животных. При использовании диеты, обогащенной легко ферментируемыми пищевыми волокнами, иммуностропных эффектов не установлено, также не выявлено позитивного влияния на дисбиотические эффекты в кишечнике, что сочеталось с более высокими концентрациями КЦЖК в фекалиях. Добавление пробиотиков также не сопровождалось пользой для животных. Соответственно, из полученных данных можно сделать вывод, что физиологические концентрации КЦЖК в условиях макроорганизма достигаются при применении функционального питания, содержащего трудноферментируемые пищевые волокна, например, из пшеничных отрубей.

Изучение влияния функционального питания, содержащего натуральный комплекс ФПВ и КЦЖК (БАД «Рекицен-РД»), проведено в условиях комбинированного стрессового воздействия. В ходе исследования животные испытывали, помимо холодового стресса, социальный стресс (молодые животные) и возрастной стресс (старые животные).

Впервые в эксперименте в возрастном аспекте изучено значение при стрессе таких продуктов симбионтного пищеварения, как КЦЖК, заключающееся в уменьшении морфофункциональных проявлений стресса. Исследование проведено при добавлении в рацион животных натуральных комплексов трудно ферментируемых ПВ (предшественников КЦЖК) и КЦЖК.

При типовой диете у старых животных установлены возрастные особенности протекания комбинированного стресса. Так, в сравнении с молодыми животными, у старых отмечается меньшее содержание в тромбоцитах серотонина, меньший объем белой пульпы селезенки, менее выражена регенеративная активность гепатоцитов, увеличение в крови лейкоцитов происходящее за счет палочкоядерных нейтрофилов (у молодых животных - за счет лимфоцитов).

У старых животных отмечены также проявления стресса, которые соизмеримы с аналогичными показателями молодых животных. К ним относится: относительное увеличение ширины пучковой зоны коры надпочечников, уменьшение объема светлых центров Пейеровых бляшек, увеличение количества поврежденных гепатоцитов.

Использование БАД «Рекицен-РД» привело к ниже следующим сдвигам. Произошла нормализация различий клеточного состава крови. Серотонин в тромбоцитах существенно возрос в обеих группах. Ширина пучковой зоны надпочечников уменьшилась до исходных параметров. Объем белой пульпы селезенки увеличился в обеих группах животных. Количество гепатоцитов с признаками повреждения снизилось в обеих возрастных группах. Регенераторный потенциал гепатоцитов возрос у старых животных до уровня молодых. Последние данные отражены в положительном решении по заявке на

изобретение №2012113449/15 от Кузнецов С.В. и соавторы «Способ профилактики возрастных изменений печеночной ткани в эксперименте» от 06.04.12 г.

Функциональное питание у старых животных при изучении их поведения в открытом поле приводит к уменьшению времени выхода из центрального квадрата, увеличению времени груминга, снижению количества актов уринации и дефекации, уменьшению вариабельности результатов внутри групп. Это свидетельствует об уменьшении степени тревоги и страха в новых нетипичных условиях.

Патогенетической основой протективных эффектов натуральных комплексов ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот является оптимизация активности стресслимитирующих закономерностей.

Как происходит нормализация ширины пучковой зоны коры надпочечников при использовании функционального питания, включающего натуральные комплексы ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот? Можно выделить несколько механизмов, объясняющих эту закономерность.

Во-первых, при дистрессе формируется увеличение проницаемости гематоинтестинального барьера, которое приводит к формированию транслокации микроорганизмов через стенку кишечника в кровь и формированию постстрессорной бактериемии и эндотоксинемии (Долгушин И.И., и др., 1985; Антопольская Е.В., Швейнов И.А., 2006; Косарева П.В., 2010).

Представленные сдвиги приводят и к формированию постстрессорной провоспалительной гиперцитокинемии, на острие которой выступает ИЛ-1 бета. Следует отметить, что увеличение в крови провоспалительных цитокинов является одним из важнейших «маркеров» старения (Тодоров И.Н., Тодоров Г.И., 2003). Провоспалительные цитокины закономерно увеличивают активность системы гипоталамус-гипофиз-кора надпочечников на всех уровнях

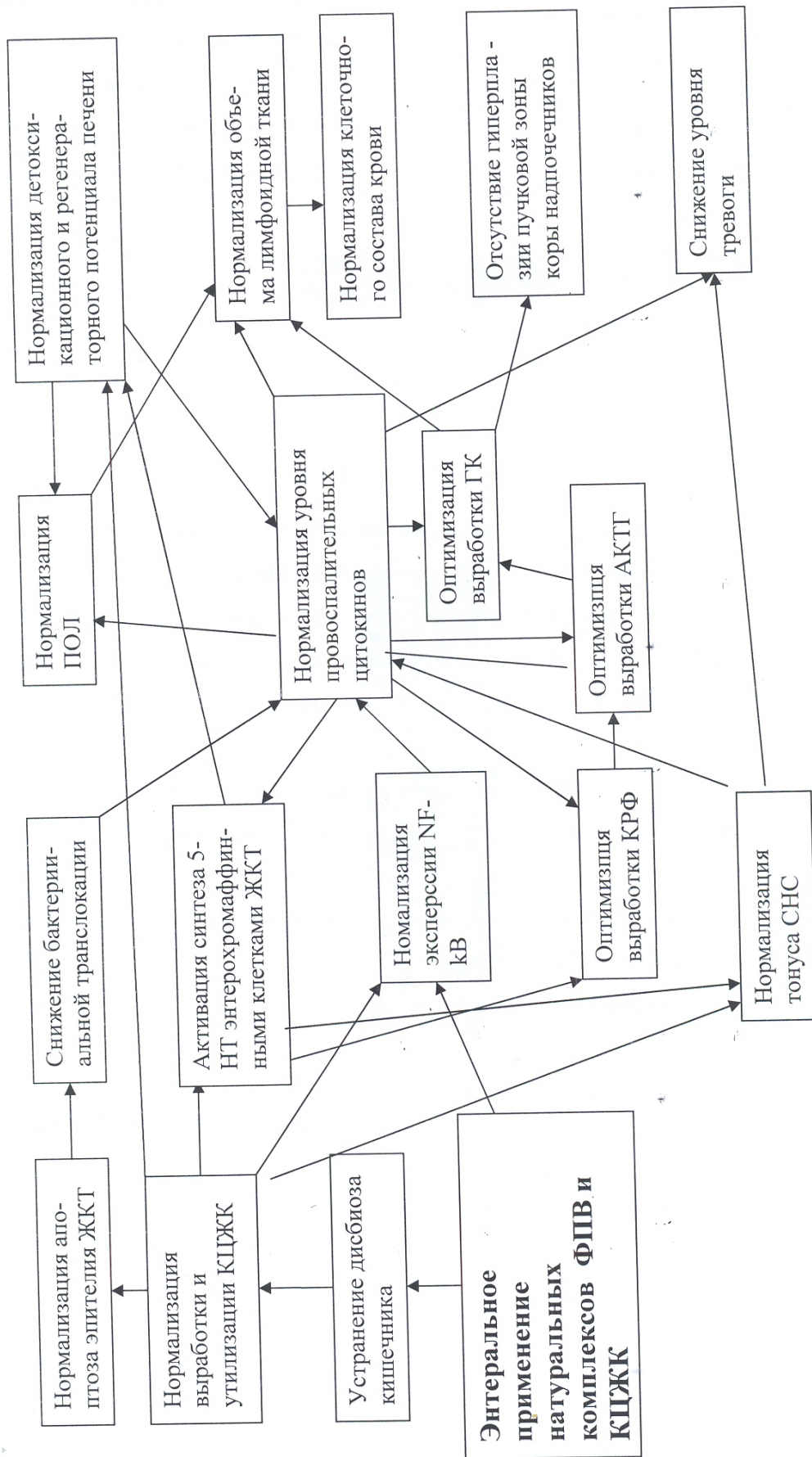
(Silverman M.N., et al., 2003; Vukelic S., et al., 2011), активируя закономерности стресса.

Ранее нами установлено (Кузнецов В.Ф. и др., 2009), что диета, обогащенная комплексом ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных пищевых волокон, способствовала устранению провоспалительной гиперцитокинемии у лиц с часто рецидивирующими воспалительными процессами. Использование этого же продукта способствовало устранению постстрессорной бактериемии, «запускающей» индукцию усиления синтеза провоспалительных цитокинов. Представленная закономерность, на наш взгляд, является одним из возможных механизмов антистрессорных эффектов использованного нами функционального питания.

Далее известно, что продукты симбионтного пищеварения- короткоцепочечные жирные кислоты, в частности бутират, воздействуют на NF- κ B, снижая его активность (Andoh A., et al., 2003; Tedelind S., et al., 2007) (схема 3). Этот механизм препятствует избыточной активности провоспалительных цитокинов (Andoh A., et al., 2003; Place R.F., et al., 2005; Hamer H.M., 2009; Karaki S.-H., Kuwahara A., 2010). Следует отметить, что факторы, снижающие активность NF κ B, повышают резистентность к стрессу и замедляют процессы старения (Москалев А.А., 2008). Именно к таким факторам относятся короткоцепочечные жирные кислоты.

Другим механизмом нормализации ширины пучковой зоны надпочечников под влиянием натуральных комплексов ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот является, установленное нами существенное увеличение количества серотонина в тромбоцитах. Данная закономерность обусловлена, вероятно, усилением выработки серотонина в энтерохромаффинных клетках кишечника прямо или опосредованно под влиянием короткоцепочечных жирных кислот (Karaki S.-H., Kuwahara A., 2010). Установлены возрастные особенности количества серотонина в тромбоцитах при комбинированном стрессе. Так, как на типовой диете, так и при использовании функционального питания, у молодых крыс

Схема 3. Адаптационные эффекты натуральных комплексов ФПВ и КЦЖК



количество тромбоцитарного серотонина было существенно выше, чем у старых животных.

Более высокое количество гранул серотонина в тромбоцитах, установленное нами в обеих возрастных группах, сопровождалось меньшей шириной пучковой зоны коры надпочечников. Возрастание статуса серотонина снижает выработку кортикотропин-релизинг фактора гипоталамическими структурами и препятствует избыточной активации системы гипоталамус-гипофиз-кора надпочечников (Vermes I., et.al., 1973, 1974; Pivac N., et.al., 1997).

Представленные материалы свидетельствуют о возрастании резистентности к формированию дистресса при использовании диеты, обогащенной ферментированными пищевыми волокнами и короткоцепочечными жирными кислотами.

Стресс, избыточно выраженный в количественном отношении, характеризующийся гиперплазией пучковой зоны коры надпочечников и выделением высокого уровня глюкокортикоидных гормонов, закономерно сочетается с постстрессорной альтерацией внутренних органов. Это обусловлено торможением пролиферации, активацией апоптоза, усилением катаболизма и перекисного окисления липидов (Судаков К.В., 1992; Саратиков А.С, 2004).

«Мишенями» стресса является система крови (Горизонтов П.Д., 1976; Гольдберг Е.Д., и др., 1997), кишечник (Söderholm J.D., et al., 2002; Khalif I.L., et al., 2005; Yang P.C., et al., 2006; Zareie M., et al., 2006; Porrás M, et al., 2006). Постстрессорной альтерации подвергаются и другие, в первую очередь, паренхиматозные органы: печень (Цейликман О. Б., 2005), сердце (Меерсон Ф.З., 1984), почки (Косарева П.В., 2010).

В настоящем исследовании изучены возрастные закономерности формирования и коррекции постстрессорной альтерации лимфоидной системы, изменения количественных и качественных параметров периферической крови, а также печени.

При использовании типового рациона изучено влияние комбинированного стрессорного воздействия на параметры лейкоформулы крови. Больше общее количество лейкоцитов при стрессе зафиксировано у молодых животных в сравнении со старыми животными. Увеличение общего количества лейкоцитов у молодых и старых животных отличалось не только по количественным показателям, но и по качественным параметрам лейкоформулы. Так, у молодых животных постстрессорный всплеск количества лейкоцитов характеризовался эмиграцией в сосудистое русло в основном лимфоцитов, а у старых животных – эмиграцией палочкоядерных нейтрофилов. Таким образом, у молодых животных постстрессорная эмиграция лейкоцитов происходит из лимфоидных органов, например, селезенки, а у старых – из костного мозга. При холодовом стрессорном воздействии эмиграция лейкоцитов из органов кроветворения формируется как на усиление выработки глюкокортикоидов, так и на активацию симпатoadреналовой системы.

Применение натурального комплекса ФПВ и КЦЖК в условиях стресса привело к существенным изменениям количественных и качественных параметров эмиграции клеток крови.

Использование функционального питания у старых животных при стрессе кардинально изменило описанные выше закономерности. Так, увеличения общего количества лейкоцитов не происходит. Отмечается увеличение количества нейтрофилов за счет фракции зрелых нейтрофилов, количество лимфоцитов не изменилось.

При использовании функционального питания у молодых животных нивелируются статистические различия со старыми животными, как в отношении общего количества лейкоцитов, так и в отношении нейтрофилов и лимфоцитов.

У молодых животных количество лейкоцитов позитивно коррелирует с величиной пучковой зоны надпочечников и негативно коррелирует с содержанием гранул серотонина в тромбоцитах. У старых животных количество лейкоцитов позитивно коррелирует с величиной пучковой зоны и

отсутствует корреляция с уровнем серотонина. Таким образом, вне зависимости от вида диеты, вида воздействий, возраста увеличение ширины пучковой зоны надпочечников, отражающее уровень глюкокортикоидов, сочетается с лейкоцитозом.

Увеличение количества лейкоцитов при стрессе у старых животных происходит преимущественно за счет «молодых» форм нейтрофилов. Вероятно, это обусловлено большей «сохранностью» в возрастном аспекте функционального потенциала костного мозга. У молодых животных увеличение общего количества лейкоцитов произошло, в основном, за счет лимфоцитов. Вероятно, в нашем исследовании, у этой группы животных зафиксирован начальный этап эмиграции лимфоцитов из органов лимфопоэза. Как известно (Горизонтов П. Д., и др., 1983), в дальнейшем происходит выход этих клеток в ткани с формированием перераспределительной лимфоцитопении.

Установлено (Ярилин А.А., 2003), что у старых животных лимфоидное кроветворение страдает в первую очередь. Вероятно, это и обусловило особенности качественного состава лейкоформулы периферической крови при стрессе в возрастном аспекте в нашем исследовании.

Далее следует отметить, что при использовании натуральных комплексов ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот при стрессе представленные выше возрастные и стрессорные особенности перераспределения клеток крови в периферическом русле нивелировались. Представленные сдвиги сочетались с нормализацией ширины пучковой зоны надпочечников и возрастанием тромбоцитарного серотонина.

Особенности изменения качественного состава клеток периферической крови в возрастном аспекте, вероятно, взаимосвязаны с изменением объема белой пульпы селезенки. При использовании обычной диеты у старых животных при стрессе этот показатель был меньше, чем у молодых животных. Это обусловлено, на наш взгляд, действием предшествующих стрессорных факторов, а также является следствием возрастного стресса (Фролькис В.В.,

1991; Тодоров И.Н., Тодоров Г.И., 2003). Представленные особенности, на наш взгляд, и приводят к менее выраженной лимфоидной эмиграции у старых животных.

Использование натуральных комплексов ФПВ и КЦЖК у старых животных способствовало увеличению как минимального, так и максимального значения объема белой пульпы селезенки в два и более раз. Следует отметить, что если у молодых животных этот показатель возрастал в 1.5-2 раза, то у старых животных – почти в 3 раза. Эту закономерность выявляли вне зависимости от воздействия холодого фактора. Таким образом, при стрессе, при использовании функционального питания нивелировались возрастные и постстрессорные изменения белой пульпы селезенки.

Выявлена положительная корреляция минимального объема белой пульпы и количества гранул серотонина. У старых животных уровни серотонина в крови при стрессе на фоне типовой диеты ниже, чем у молодых.

У старых животных (рацион вивария, холодое воздействие) объем светлых центров Пейеровых бляшек не различался с контролем, а также с аналогичным показателем молодых животных, находящихся на рационе вивария при стрессе. Добавление в корм животных натурального комплекса ФПВ и КЦЖК обеспечило существенное увеличение объема светлых центров Пейеровых бляшек у всех возрастных групп вне зависимости от стресс-воздействия.

Объем светлых центров Пейеровых бляшек отрицательно коррелирует с относительной шириной пучковой зоны и положительно соотносится с количеством гранул серотонина в тромбоцитах. При типовом рационе объем светлых центров позитивно коррелирует с уровнем в крови капроновой и изомасляной кислоты, а на фоне приема Рекицена-РД позитивно коррелирует с уровнем капроновой и изокапроновой кислоты.

В проведенном нами исследовании, удалось проследить возрастные особенности повреждения и регенерации клеток печени при стрессе на фоне различных диет.

На фоне типовой диеты вивария при комбинированном стрессе возрастала ширина пучковой зоны коры надпочечников, что закономерно приводит к увеличению выработки глюкокортикоидов. Последствия этой закономерности были различными у молодых и старых животных.

Так, у молодых животных увеличение выработки глюкокортикоидов приводит к увеличению маркеров повреждения гепатоцитов, что, в свою очередь, компенсаторно приводит к усилению их регенерации.

У старых животных увеличение выработки глюкокортикоидов происходит на фоне возрастной гипоплазии печени, а также, как нами установлено в рамках данной работы, на фоне дефицита серотонина, который, как известно (Lesurtel M. et al, 2006, 2012; Clavien P.-A., 2008), необходим для регенерации гепатоцитов. В этой связи, увеличение концентрации глюкокортикоидов приводит к увеличению маркеров повреждения гепатоцитов, но компенсаторного увеличения регенерации клеток печени у старых животных не происходит.

Использование в дополнение к типовой диете вивария натуральных комплексов ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот кардинально меняет представленную выше ситуацию. Так, у молодых животных при комбинированном стрессе происходит нормализация ширины пучковой зоны коры надпочечников. Во-вторых, существенно возрастает уровень серотонина в тромбоцитах. Не произошло увеличения маркеров повреждения, соответственно у молодых животных не произошло и усиления регенерации гепатоцитов.

У старых животных использование в дополнение к обычной диете натуральных комплексов ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот также приводит к существенным сдвигам. Так, происходит нормализация ширины пучковой зоны коры надпочечников, увеличивается содержание серотонина в тромбоцитах и активируется регенераторный потенциал гепатоцитов. Последние данные отражены в

положительном решении по заявке на изобретение №2012113449/15 от Кузнецов С.В. и соавторы «Способ профилактики возрастных изменений печеночной ткани в эксперименте» от 06.04.12.

После применения функционального питания, включающего натуральные комплексы ФПВ и КЦЖК, увеличилось время длительного груминга в открытом поле. Количество актов короткого груминга не различалось. Представленные данные свидетельствуют о снижении тревожности и страха в открытом поле при использования функционального питания в течение 18 дней.

Механизм действия функционального питания обусловлен увеличением резистентности к стрессорным факторам из-за увеличения активности серотонинэргических структур и нормализации тонуса вегетативной нервной системы.

При старении происходит нарастание в крови провоспалительных цитокинов (Тодоров И.Н., Тодоров Г.И., 2003; Silverman M.N., et al., 2003; Salvioli S., et al., 2006; Vukelic S., et al., 2011). IL-1бета вызывает изменение поведения характерное для депрессии, активацию осей стресса и уменьшение ориентировочно-исследовательской активности в открытом поле (Симбирцев А.С., и др., 2009). Кроме того, следует отметить, что с возрастом возможно развитие нарушений в регуляции провоспалительных цитокинов. Так, пожилых пациентов с наличием нестабильной стенокардии отмечается увеличение в крови концентрации IL-2 (Guinjoan S.M., et al., 2009). Кроме того, установлено, что у пациентов с наличием коронарной патологии отмечается достоверное увеличение данного провоспалительного цитокина (Romanowski W., et al., 2007). Так же в исследовании, проведенном Алхутовой Н.А. (2005), была установлена положительная корреляция биологического возраста и темпов преждевременного старения с уровнем спонтанной и стимулированной секреции ИЛ-2 у ликвидаторов аварии на Чернобыльской АЭС. Провоспалительные цитокины активируют индоламин-2,3-диоксигеназу, разрушающую триптофан. Это приводит к снижению синтеза серотонина

(Козлова С.Н. и др., 2009). Эти механизмы так же могут лежать в основе снижения стрессоустойчивости старых животных. Так же в данном исследовании было установлено, что применение натуральных комплексов ФПВ и КЦЖК нормализует уровень провоспалительных цитокинов и повышает при стрессе количество гранул серотонина в тромбоцитах. Следует отметить, что КЦЖК способны влиять на активность симпатического отдела вегетативной нервной системы. Так имеются данные о наличии на поверхности периферических симпатических нервных волокон рецепторов для КЦЖК, стимуляция которых высокими концентрациями пропионата приводит к увеличению частоты сердечных сокращений (Kimura I., et al., 2011). Однако в клиническом наблюдении было показано, что натуральный комплекс ФПВ и КЦЖК нормализует тонус симпатического отдела вегетативной нервной системы у пациентов с ВСД (Телегин Ю.А., и др., 2002). Данный феномен, вероятно, связан, с нормализацией выработки и утилизации КЦЖК и с увеличением активности серотонинэргических структур головного мозга, оказывающих нормализующее влияние на симпатический отдел нервной при его чрезмерной активации (Saxena P.R., Villalon C.M., 1990). Нормализация тонуса симпатического отдела является еще одним механизмом, препятствующим развитию увеличения концентрации провоспалительных цитокинов в крови (Grebe M.K., et al., 2010). Это, по-видимому, является основой механизма снижения уровня тревожности при тестировании в открытом поле.

Как видно из приведенных в работе материалов, при комбинированном стрессе клетки «органов-мишеней» находятся в сложной системе клеточно-гуморальных взаимосвязей, включающей нейромедиаторные и эндокринные факторы, а также метаболиты симбионтного пищеварения. Результат влияния этого комплекса факторов на органные структуры во многом будет зависеть от прессинга компонентов питания, которые в конечном итоге во многом определяют вероятность возникновения постстрессорных повреждений и, в конечном итоге, будут определять формирование эвстресса или дистресса.

Выводы

1. Установлены возрастные особенности острого холодового стресса у крыс старше 1,5 лет в сравнении с животными в возрасте 6 месяцев, проявляющиеся в снижении активности серотонинэргических структур, объема белой пульпы селезенки и регенеративной активности гепатоцитов, а также увеличении лейкоцитов крови за счет палочкоядерных нейтрофилов. У животных в возрасте 6 месяцев и старше 1,5 лет отмечен и ряд общих признаков стресса, проявляющихся в виде увеличения ширины пучковой зоны коры надпочечников, уменьшения объема светлых центров Пейеровых бляшек, увеличения количества поврежденных гепатоцитов.

2. Установлено, что обогащение типового рациона натуральными комплексами ФПВ и КЦЖК способствует устранению негативных последствий стресса и возрастных различий, проявляющемуся в восстановлении клеточного состава крови, увеличении содержания серотонина в тромбоцитах, уменьшении гиперплазии пучковой зоны коры надпочечников. Объем белой пульпы селезенки увеличивается, а количество гепатоцитов с признаками повреждения снижается в большей степени у старых животных. Регенераторный потенциал гепатоцитов возрос у старых животных.

3. Особенности корреляционных взаимосвязей концентрации короткоцепочечных жирных кислот в крови с морфофункциональными показателями при комбинированном стрессе зависят от наличия или отсутствия в диете натурального комплекса ферментированных пищевых волокон и короткоцепочечных жирных кислот, которые выполняют позитивную или негативную регуляторную роль.

4. Установлено, что функциональное питание у старых животных при изучении их поведения в открытом поле приводит к уменьшению времени выхода из центрального квадрата, увеличению времени груминга, снижению количества актов уринации и дефекации. Это свидетельствует об уменьшении степени тревоги и страха в новых нетипичных условиях.

Список литературы.

1. Акинцева Ю.В. Тромбоцитарный серотонин при синдроме усталости у больных рассеянным склерозом в процессе иммуномодулирующей терапии: автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.11 / Акинцева Юлия Владимировна; ГОУ ВПО Пермская гос. мед. акад. им. ак. Е.А. Вагнера Росздрава.- Пермь, 2011.- 19 с.
2. Алябьев Ф.В. Морфофункциональное взаимодействие зон надпочечников человека при остром летальном отравлении окисью углерода на фоне алкогольной интоксикации / Ф.В. Алябьев, Ю.М. Падеров, В.П. Новоселов, Т.Р. Яушев // Судебно-медицинская экспертиза.- 2007. – №6(50). – С.-6-9.
3. Алхутова Н.А. Клинико-лабораторные критерии ускорения темпов старения участников ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС: автореф. дис. ... канд. биол. наук : 14.00.46 / Алхутова Наталья Александровна; клиническое лабораторно-диагностическое Федеральное государственное учреждение здравоохранение «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины» МЧС России.- Санкт-Петербург, 2005.-24 с.
4. Амелин А.В. Роль серотонина и серотониновых рецепторов в патогенезе мигрени и механизмах действия антимигренозных препаратов / А.В. Амелин, А.А. Скоромец, Ю.Д. Игнатов // Журн. неврологии и психиатрии.— 2000.— № 7.— С. 55-58.
5. Антопольская Е.В. Морфологические изменения в печени и органах иммуногенеза при сердечно-сосудистых заболеваниях / Е.В. Антопольская, И.А. Швейнов // Курский научно-практический вестник "Человек и его здоровье". —2006. — № 4. — 25-28.
6. Ардатская М.Д. Клиническое значение короткоцепочечных жирных кислот при патологии желудочно-кишечного тракта: автореф. дис. ... докт. мед. наук : 14.00.05 / Ардатская Мария Дмитриевна; ФГБУ "Учебно-научный медицинский центр" УД Президента РФ. — Москва, 2003.-45 с.

7. Ардатская М.Д. Дисбактериозы кишечника: эволюция взглядов, современные принципы диагностики и фармакологической коррекции /М.Д. Ардатская, О.Н. Минушкин // Consilium Medicum. Гастроэнтерология. – 2006.– № 2.– С. 4–17.
8. Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций: руководство / Аруин Л.И., Бабаева А.Г., Гельфанд В.Б., [и др.]. - М.: Медицина, 1987. - 448 с.
9. Белобородова Н.В. Метаболиты анаэробных бактерий (летучие жирные кислоты) и реактивность макроорганизма/ Н.В. Белобородова, С.М. Белобородов // Антибиотики и химиотерапия – 2000. – №2.- С. 28-36.
10. Бобкова И.Н. Защитное действие белков теплового шока при заболеваниях почек / И.Н. Бобкова, Н.В. Чеботарева, Л.В. Козловская, Н.В. Непринцева // Клиническая нефрология – 2011.– №6.– С. 59-66.
11. Бондаренко В.М. Метаболитные пробиотики: механизмы терапевтического эффекта при микробиологических нарушениях / В.М. Бондаренко // «Consilium Medicum». – 2005. – Том 07, № 6. – С. 437-444.
12. Бондаренко В.М. Определение уровня короткоцепочечных жирных кислот в препарате Рекицен-РД (производства ЗАО Ягодное г. Киров) [Электронный ресурс] / В.М. Бондаренко.- 2007.-Режим доступа: <http://www.yagodnoe.ru/addfiles/reports/Определение%20уровня%20КЦЖК%20в%20препарате%20Рекицен.pdf>
13. Будихина А.С. Дефензины- мультифункциональные катионные пептиды человека / А.С. Будихина, Б.В. Пинегин // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2008. – №2. – С. 31-40.
14. Будихина А.С. Кателицидины – антимикробные пептиды: свойства и функции, роль в иммунопатологии / А.С. Будихина, Б.В. Пинегин // Российский аллергологический журнал. – 2010– №2– с. 5-12.
15. Василькова Н.И. Отчет о применении биологически активной добавки "Рекицен - РД" при лучевом лечении онкологических больных [Электронный ресурс] / Н.И. Василькова, Е.Н. Ананьева.– 2005.- Режим доступа:

<http://www.yagodnoe.ru/addfiles/reports/Отчет%20о%20применении%20биологически%20активной%20добавки%20Рекицен-РД%20при%20лучевом%20лечении%20онкологических%20больных.pdf>

16. Войчук А. Отчет о применении биологически активной добавки «Рекицен - РД» в комплексной терапии больных терапевтического профиля пожилого и старческого возраста [Электронный ресурс] / А. Войчук, В. Суворов, И. Телегин. – 2001. – Режим доступа: <http://www.yagodnoe.ru/addfiles/reports/Отчет%20о%20применении%20биологически%20активной%20добавки%20Рекицен%20-РД%20в%20комплексной%20терапии%20больных%20терапевтического%20профиля.pdf>.
17. Воробьева О.В. Влияние экспериментального цирроза печени у самок крыс на патологию и регенерацию печени у потомства: автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.15 / Воробьева Ольга Васильевна; ФГОУ ВПО «Чувашский государственный университет имени И.Н.Ульянова»- Ульяновск, 2007 .- 23 с.
18. Гаркави Л. Х. Понятие здоровья с позиции теории неспецифических адаптационных реакций организма / Л.Х. Гаркави, Е.Б. Квакина // Валеология. – 1996. – № 2. – С. 15-20.
19. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц; пер. с англ. – М. Практика, 1998. – 495 с.
20. Горизонтов П.Д. Гомеостаз / П.Д. Горизонтов; Под.ред. П.Д. Горизонтова. – М., «Медицина», 1976. – 464 с.
21. Горизонтов П. Д. Стресс и система крови / П.Д. Горизонтов, О.И. Белоусова, М.И. Федотова. – М., «Медицина», 1983. – 240 с.
22. Гольдберг Е.Д. Роль вегетативной нервной системы в регуляции гемопоза / Е.Д. Гольдберг, А.М. Дыгай, И.А. Хлусов. - Томск: изд-во Томского университета, 1997. – 217 с.
23. Гончарик С.Б. Клинические и морфо-функциональные проявления синдрома лактозной мальабсорбции: автореф. дис. ... канд. мед.

наук : 14.00.05 / Гончарик Сергей Борисович; Военно-медицинская академия – Санкт-Петербург, 1998 .- 14 с.

24. Гичев Ю.Ю. Руководство по биологически активным пищевым добавкам / Гичев Ю.Ю., Гичев Ю.П. М.: Триада-Х, 2001. - 232 с.

25. Гублер Е.В. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях / Е.В. Гублер, А.А. Генкин. – М.,1973. – 142 с.

26. Гусева С.Н. Эффективность применения Рекицена - РД в комплексной терапии аллергодерматозов [Электронный ресурс] / С.Н. Гусева, С.И. Данилов, Л.А. Карякина, И.Д. Радченко. – 2001. – Режим доступа: <http://www.yagodnoe.ru/addfiles/reports/Эффективность%20%20применения%20%20Рекицена%20%20РД%20%20в%20%20комплексной%20%20терапии%20%20аллергодерматозов.pdf>.

27. Дильман В.М. Большие биологические часы (введение в интегральную медицину) / В.М. Дильман. – М.: «Знание», 1982. – 208 с.

28. Дильман В.М. Четыре модели медицины / В.М. Дильман. - Л.: «Медицина», 1987. - 288 с.

29. Дмитрук В.С. Влияние мелатонина на состояние иммунитета при псориазе / В.С. Дмитрук, Л.В. Стрига // Бюллетень сибирской медицины. – 2009. – № 4. – С. 148-152.

30. Долгушин И.И. Иммунология травмы / И.И. Долгушин, Л.Я. Эберт, Р.И. Лившиц. – Свердловское издательство Уральского университета. – 1989. - 188 с.

31. Животова Е. Ю. Влияние даларгина на процессы синтеза ДНК в слизистой оболочке желудка белых крыс / Е.Ю. Животова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2007. - № 9 (Т. 144). - С. 288-290.

32. Золотарев Ю.В. Экспериментальное обоснование и клиническая эффективность применения Рекицена-РД при сальмонеллезе у детей: Метод. рекомендации / Ю.В. Золотарев. - Киров: Минздрав РФ. – 2000.- 18 с.

33. Иванов Д.Г. Взаимосвязь уровня метаболизма коллагена и поведения крыс в тесте «открытое поле» / Д.Г. Иванов, В.Г. Подковкин // Успехи современного естествознания.- 2010.-№5. - С. 16-20.
34. Иззати-Заде К.Ф. Роль серотонина в патогенезе и клинических проявлениях мигренозной атаки / К.Ф. Иззати-Заде // Журнал неврологии и психиатрии. – 2007. - № 3.- С. 51-55.
35. Иконников Н.С., Ардатская М.Д., Бабин В.Н. Патент RU 2145511, кл. В 01 D 15/08, 20.02.2000, «Способ разделения смеси жирных кислот фракции C2-C7 методом газожидкостной хроматографии».
36. Ильина Н.О. Метаболические критерии дисбактериоза кишечника при острых кишечных инфекциях у детей / О.Н. Ильина, Л.Н. Мазанкова, О.А. Кондракова, А.М. Затевало // Педиатрия (приложение к журналу Consilium medicum).-2006.-№1.-С.89-94.
37. Ильяшенко М.Г. Эндогенные антимикробные пептиды и их клинико-патогенетическая значимость при воспалительных заболеваниях кишечника / М.Г. Ильяшенко, Г.Н. Тарасова, А.И. Гусева // Современные проблемы науки и образования. – 2012. - № 2.
38. Кадагидзе З.Г. Цитокины / З.Г. Кадагидзе // Практическа онкология. – 2003. - №4 (Т.3).- С. 131-139.
39. Козлова С.Н. Потенциальная роль провоспалительных цитокинов в развитии тревожно-депрессивных расстройств у больных ишемической болезнью сердца / С.Н. Козлова, А.В. Голубев, Ю.С. Крылова, К.А. Сысоев, Е.В. Шляхто, Н.Г. Незнанов //Артериальная гипертензия.– 2009.– № 4(15). – С. 497-501.
40. Козловская Л. В. Учебное пособие по клиническим лабораторным методам исследования (с элементами программирования) / Л.В. Козловская, М.А. Мартынова — М.: Медицина, 1975.— 352 с.
41. Колдышева Е.В. Ультраструктурные эквиваленты адаптивной реорганизации коры надпочечников при действии экстремальных факторов / Е.В. Колдышева // Бюллетень СО РАМН. — 2008. — № 6 (134). — С. 139-144.

42. Кравченко Л.В. Защитное действие БАД «Рекицен-РД» при алиментарном Т-2 микотоксикозе у крыс / Л.В. Кравченко, Л.И. Авреньева // *Вопр. питания.* - 2002. - № 2.- С. 38-41.
43. Кокаев Г.С. Заключение о клиническом испытании лечебно-профилактического препарата «Рекицен - РД» [Электронный ресурс] / Г.С. Кокаев, В.В. Зайцев. –1999.– Режим доступа: <http://www.yagodnoe.ru/addfiles/reports/Заключение%20о%20%20клиническом%20%20испытании%20%20лечебно-профилактического%20%20препарата%20%20Рекицен%20-%20РД.pdf>.
44. Косарева П.В. Экспериментальное обоснование новых способов патогенетической коррекции пиелонефрита у детей: автореф. дис. ... докт. мед. наук : 14.03.03, 14.01.08 / Косарева Полина Владимировн; ЦНИЛ ГОУ ВПО Пермская гос. мед. акад. им. ак. Е.А. Вагнера Росздрава.- Челябинск, 2010.- 54 с.
45. Кузнецов В.Ф. Ферментированные пищевые волокна (Рекицен-РД) в реабилитации пациентов с патологией иммунной системы / В.Ф. Кузнецов, П.В. Косарева, Н.Л. Негодяева, Т.П. Обернебесова // *Аллергология и иммунология.*- 2009.- №2 (апрель, Т.10). – С. 267-268.
46. Кузнецов В.Ф. Ферментированные пищевые волокна и короткоцепочные жирные кислоты как компоненты функционального питания / В.Ф. Кузнецов, Л.М. Кулемин, В.М. Бондаренко // *Вятский медицинский вестник.*– 2007.– №4.– С. 188-192.
47. Кузнецов В.Ф. Противовоспалительные и иммуотропные эффекты ферментированных пищевых волокон / В.Ф. Кузнецов, Л.М. Кулемин, И.С. Коротких, Н.Л. Негодяева // *Вятский медицинский вестник.* – 2006.– №2.– С. 145-146.
48. Кузнецова Е.Г. Влияние инъекций физиологического раствора в неонатальном периоде на поведение самцов мышей линии DBA/2 / Е.Г. Кузнецова, Ю.А. Скринская, Т.Г. Амстиславская, В.В. Булыгина, Н.К. Попова // *Журнал высшей нервной деятельности.*-2006 (56).-№4-.С.548-555.

49. Кулемин Л.М. Клинико-лабораторное обоснование использования Рекицена – РД при интоксикации металлами и ароматическими углеводородами [Электронный документ] / Л.М. Кулемин, В.Ф. Кузнецов, Г.С. Уланова, М.А. Землянова. – 2004.- Точка доступа: <http://www.yagodnoe.ru/addfiles/reports/Клинико-лабораторное%20обоснование%20использования%20Рекицена%20РД%20при%20интоксикации%20металлами%20и%20ароматическими%20углеводородами.pdf>].
50. Лишманов Ю.Б. Кардиопротекторный эффект активации каппалоидных рецепторов и роль цАМФ в его реализации / Ю.Б. Лишманов, Л.Н. Маслов, Т.В. Ласукова, А.А. Платонов, Н.В.Гузарева // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2007.-N 1.-С.28-31.
51. Лишманов Ю.Б., Маймескулова Л.А., Ускина Е.В., Маслов Л.Н. Опиоидные механизмы кардиопротекторного и антиаритмического действия адаптации. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 1999, Том 127, № 2: 167-70.
52. Ломако В.В. Влияние общего охлаждения на поведение крыс в «открытом поле» / В.В. Ломако, А.В. Шило // Проблемы криобиологии. - 2009.- №4 (19). – С. 421-430.
53. Маев И. В. Болезни двенадцатиперстной кишки / И.В. Маев, А.А. Самсонов. М.: МЕДпресс-информ. – 2005.- 512 с.
54. Малышева А.М. Влияние экстракта эмбриональной печени человека на ядерный состав гепатоцитов при экспериментальном циррозе печени / А.М. Малышева, П.Н. Попков, Е.Л. Куренков, В.Е. Рябинин, С.И. Грибовой // Известия Челябинского научного центра, специальный выпуск. – 2004. - №25. – С. 88-91.
55. Маслов Л.Н. Эндогенные опиоидные пептиды и антиаритмический эффект адаптации к стрессу / Л.Н. Маслов, А.В. Крылатов, Н.В. Нарыжная, Г.ДЖ. Гросс // Патологическая физиология и экспериментальная терапия.- 2004.-№ 4.-С.11-14.

56. Меерсон Ф. З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца / Ф.З. Меерсон. — М.: Медицина, 1984. — 269 с.
57. Меерсон Ф.З., Пшенникова М.Г. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам / Ф.З. Меерсон, М.Г. Пшенникова. -М.:Медицина, 1988.- 256 с.
58. Москалев А. А. Старение и гены / А.А. Москалев. - СПб.: Наука, 2008. — 358 с.
59. Моталов В.Г. Структурно-функциональная характеристика и закономерности морфогенеза селезенки человека в постнатальном онтогенезе: : автореф. дис. ... докт. мед. наук : 14.00.02 / Моталов Владимир Георгиевич; Московская медицинская академия им. И.М.Сеченова.- Москва, 2002.- 48 с.
60. Мотовилова В.П. Отчет о применении биологически активной добавки «Рекицен - РД» в комплексном лечении больных туберкулезом [Электронный документ] / В.П. Мотовилова, Е.А. Дейниченко.- 2001.- Точка доступа: <http://www.yagodnoe.ru/addfiles/reports/Отчет%20о%20применении%20%20биологически%20активной%20добавки%20%20Рекицен%20-%20РД%20%20в%20комплексном%20лечении%20%20больных%20туберкулезом.pdf>.
61. Мохаммед Т.Д.М. Влияние даларгина на содержание гормонов гипофизарно-надпочечникового и гипофизарно-надпочечникового эндокринного комплексов в крови крыс при гипотермии / Т.Д.М. Мохаммед, Н.К. Кличханов // Известия Самарского научного центра Российской академии наук.- 2012.- № 5(14).- С. 273-277.
62. Никитин В.Н. Атлас клеток крови сельскохозяйственных и лабораторных животных / В.Н. Никитин. - М.: Госиздат сельхоз. лит., 1949. - 118 с.
63. Овсянников В. Г. Особенности лейкоцитарной реакции и фагоцитоза у крыс разного возраста при острой соматической боли / В.Г. Овсянников, В.В. Алексеев, А.А. Кутузова // Вестник Санкт-Петербургского университета. — 2008.- № 1 (11). – С. 44-49.
64. Оксюзян А.В. Влияние даларгина на обмен сиалогликопротеинов в тканях

желудка крыс с различной устойчивостью к стрессу при длительной иммобилизации / А.В. Оксужан // Аспирантский вестник Поволжья. – 2011.- № 1-2. С.199-201.

65. Парахонский А.П. Влияние мелатонина на иммунную систему / А.П. Пархонский // Современные наукоемкие технологии.- 2007.- № 11.- С. 59-59.

66. Подковкин В.Г., Иванов Д.Г. Влияние краткосрочной изоляции на поведение в тесте «открытое поле» / В.Г. Подковкин, Д.Г. Иванов // Успехи современного естествознания.- 2009.- №6.- С. 12-16.

67. Покровский В.И. Политика здорового питания. Федеральный и региональные уровни / В.И. Покровский, Г.Г. Онищенко, В.А. Тутельян [и др]. – Новосибирск.- 2002.- 334 с.

68. Пшенникова М. Г. Роль системы простагландинов в кардиопротекторном действии адаптации к гипоксии при стрессе / М.Г. Пшенникова, В.А. Кузнецова, Ю.Н. Копылов, М.В. Шимкович, В.И. Вовк, Д.В. Сапрыгин, Ф.З. Меерсон // Кардиология. - 1992. - №3(32). - С. 61 – 64.

69. Р. Лили. Патогистологическая техника и практическая гистохимия / Лили Р. - Мир, Москва. - 1969.- 646 с.

70. Сандакова Е.А. Использование Рекицена-РД в акушерско-гинекологической практике [Электронный ресурс]/ Е.А. Сандакова.- 2005. – Точка доступа: <http://www.yagodnoe.ru/addfiles/reports/Использование%20Рекицена-РД%20в%20акушерскогинекологической%20практике.pdf>.

71. Саратиков А.С. Коррекция токсичности циклофосфана гепатопротекторами полифенольной природы / А.С. Саратиков, А.В. Ратькин, В.Н. Фролов, В.С. Чучалин // Бюллетень сибирской медицины.- 2004.- №1.- С. 52-56.

72. Саркисов Д.С. Микроскопическая техника. Руководство / Д.С. Саркисов, Д.С. Перов. – М.: Медицина. –1996.-544 с.

73. Селье Г. От мечты к открытию: Как стать ученым / Г. Селье. Пер. с англ. Н. И. Войскунской. М.: Прогресс. – 1987. – 368 с.

74. Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме / Г. Селье. – М.: Медгиз.– 1960.– 255 с.
75. Семенов В.Ф. Стресс и старение человека / В.Ф. Семенов, В.И. Карандашов, Т.А. Михайлова // Вестник Российской академии естественных наук. – 2011. – №4. – С.72-78.
76. Симбирцев А.С. Влияние ИЛ-1бета на поведение крыс в условиях слабой стрессорной нагрузки при тестировании в открытом поле / А.С. Симбирцев, С.С. Перцов, Е.В. Коплик, Л.С. Калиниченко // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2009.– № 11. – С. 488-90.
77. Симоненков А.П. Профилактика и лечение серотониновой недостаточности у хирургических больных / А.П. Симоненков, В.А. Федоров // Хирургия. - 2003.-№ 3.-С.76-80
78. Судаков К.В. Стресс: постулаты, анализ с позиции общей теории функциональных систем / К.В. Судаков // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 1992.- №4.- С. 86-93.
79. Солодкова О.А. Морфофункциональная характеристика надпочечников крыс при холодовом стрессе на фоне приема экстракта и гидролизата из кукумарии японской : автореф. дис. ... мед. наук : 03.00.25 / - М, 2010. : автореф. дис. ... докт. мед. наук : 14.00.02 / Солодкова Оксана Алексеевна; ГОУ ВПО «Владивостокский государственный медицинский университет Росздрава».- Владивосток, 2008.- 48 с.
80. Телегин Ю.А. Эффективность Рекицена - РД при лечении кардиологических больных [Электронный ресурс] / Ю.А. Телегин, И.Ю. Чичерин, Л.М. Кулемин.- 2002.- Точка доступа: [http://www.yagodnoe.ru/addfiles/reports/Эффективность%20%20Рекицена%20-%20РД%20%20%20при%20%20лечении%20%20кардиологическ их %20%20больных.pdf](http://www.yagodnoe.ru/addfiles/reports/Эффективность%20%20Рекицена%20-%20РД%20%20%20при%20%20лечении%20%20кардиологическ%20%20больных.pdf).
81. Тодоров И.Н. Стресс, старение и биохимическая коррекция / И.Н. Тодоров, Г.И. Тодоров. – М.: Наука. –2003.- 479 с.

82. Уголев А.М. Естественные технологии биологических систем / А.М. Уголев. – Л.-1987.- 278 с.
83. Флейшман Е.В. Система гипофиз - кора надпочечников при длительной кортикостероидной терапии: монография / Е.В. Флейшман. - Л.: Медицина, Ленингр. отд-ние.- 1967. - 199 с.
84. Фролькис В.В. Стресс-возраст-синдром / В.В. Фролькис // Физиол. журн.- 1991.- № С. 3-10.
85. Цейликман О. Б. Провоспалительные и противовоспалительные гепатотропные эффекты хронического стресса и монооксигеназная система печени: автореф. дис. ...докт. мед. наук : 14.00.16, 03.00.04 / Цейликман Ольга Борисовна; Институт иммунологии и физиологии УрО РАН г. Екатеринбург, ГБОУ ВПО «Челябинская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию».- Омск, 2005.- 44 с.
86. Черешнев В.А. Морфологические и гематологические критерии эффективности лечения экспериментального пиелонефрита комплексом природных цитокинов и антибактериальных пептидов / В.А. Черешнев, П.В. Косарева, Н.И. Аверьянова, Н.А. Зимушкина, Е.И. Самоделкин, И.А. Логинова // Пермский медицинский журнал. – 2008. - №2.- С.5-13.
87. Черанева М.В. Воспроизведение в эксперименте и терапия химического гастрита у животных: автореф. дис. ...канд. мед. наук: 06.02.01 / Черанева Мария Викторовна; ФГБОУ ВПО «ПГСХА».- Москва, 2012.- 34 с.
88. Шапошников А.В. Канцерогенез и оксидативный стресс / А.В. Шапошников, Л.А. Рядинская // Кубанский научный медицинский вестник.- 2010.- № 3-4.- С.211-215.
89. Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание / Б.А. Шендеров.- Т. 2.-М. Грантъ.- 1998.
90. Шиленок И.Г., Садовникова И.В., Садовникова В.В., Мухина И.В., Панина Н.А., Иванова Н.Л. Способ стимуляции регенерации печеночной ткани. № RU2185835. 27.07.2002.

91. Шилова Ю.А. Влияние пропранолола гидрохлорида при остром стрессе на фагоцитарную активность лейкоцитов периферической крови /Ю.А. Шилова // Успехи современного естествознания.- 2011.- №8.- С.144-145.
92. Юрченко А. Заключение об эффективности разрабатываемых средств защиты от токсинов [Электронный ресурс] / А.Юрченко, А. Федотов.- 1997.- Точка доступа: <http://www.yagodnoe.ru/addfiles/reports/Заключение%20об%20эффективности%20разрабатываемых%20средств%20защиты%20от%20токсинов.pdf>.
93. Ярилин А.А. Старение иммунной системы и тимус / А.А. Ярилин // Клинич.геронтология. - 2003. - № : 3 (Т.9). - С. 8-17.
94. Ait-Belgnaoui A. Acute stress-induced hypersensitivity to colonic distension depends upon increase in paracellular permeability: role of myosin light chain kinase / A. Ait-Belgnaoui, S. Bradesi, J. Fioramont, V. Theodorou, L. Bueno// Pain.- 2005.- №113.-P. 141–147
95. Adachi M. The effects of heat stimulation and cold stress on the rats with cervical sympathectomy / M. Adachi, M. Otsuki, M. Akatsu, C. Tase // Masui.- 2003(Dec).- №52(12).- P. 1293-1299.
96. Al-Ayadhi L.Y. The effect of vitamin E, L-arginine, N-nitro L-arginine methyl ester and forskolin on endocrine and metabolic changes of rats exposed to acute cold stress / L.Y. Al-Ayadhi, A.A. Korish, A.S. Al-Tuwaijri // Saudi Med J.- 2006(Jan).- №27(1).- P. 17-22.
97. Agrawal S. Assessment of Liver Damage in male albino rats after Repetitive Heat Stress of moderate level / S. Agrawal, D. Gupta // National Journal of Physiology, Pharmacy & Pharmacology.- 2013.- Vol 3, Issue 2.- P. 139 – 244.
98. Al-Lahham S.H. Biological effects of propionic acid in humans; metabolism, potential applications and underlying mechanisms / S.H. Al-Lahham, M.P. Peppelenbosch, H. Roelofsen, R.J. Vonk, K. Venema // Biochim Biophys Acta.- 2010 (Nov).- № 1801(11).- P.- 1175-1183.
99. Andoh A. Sodium butyrate enhances complement-mediated cell injury via down-regulation of decay-accelerating factor expression in colonic cancer cells / A.

Andoh, M. Shimada, Y. Araki, Y. Fujiyama, T. Bamba // *Cancer Immunol Immunother.*- 2002.- №50.- P. 663-672.

100. Andoh A. Role of dietary fiber and short-chain fatty acids in the colon / A. Andoh, T. Tsujikawa, Y. Fujiyama // *Current Pharmaceutical Design.*- 2003.-№4 (9).-P.-347-358.

101. Arvans D.L. Luminal bacterial flora determines physiological expression of intestinal epithelial cytoprotective heat shock proteins 25 and 72 / D.L. Arvans, S.R.Vavricka, H. Ren, M.W. Musch, L. Kang, F.G. Rocha, A. Lucioni, J.R. Turner, J. Alverdy, E. B. Chang // *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* - 2005.- №288.- P. 696-704.

102. Avakian E.V. Influence of age and cold stress on plasma catecholamine levels in rats / E.V. Avakian, S.M. Horvath, R.W. Colburn // *J. Auton. Nerv. Syst.*- 1984 (Apr).- №10(2).- P. 127-133.

103. Augenlicht L. Repression of MUC2 gene expression by butyrate, a physiological regulator of intestinal cell maturation / L.Augenlicht, L. Shi, J. Mariadason, C. Laboisse, A.Velcich // *Oncogene.*- 2003.- №22.- P. 4983-4992.

104. Barfield ET. β -endorphin modulates the effect of stress on novelty-suppressed feeding / E.T. Barfield, V.A. Moser, A. Hand, J.E. Grisel // *Front Behav Neurosci.*- 2013.- №7.- P. 19.

105. Berger D.H. Plasmin/plasminogen system in colorectal cancer / D.H. Berger // *World J. Surg.*- 2002.- №26.- P. 767-771.

106. Bijkerk C.J. TitleSystematic review: the role of different types of fibre in the treatment of irritable bowel syndrome / C.J. Bijkerk, J.W.M. Muris, J.A. Knottnerus, A.W. Hoes, N.J. DeWit // *Alimentary Pharmacology & Therapeutics.*- 2004.- Vol 19, Iss 3.- P. 245-251.

107. Bindels L.B. Gut microbiota-derived propionate reduces cancer cell proliferation in the liver / L.B. Bindels, P. Porporato, E.M. Dewulf, J. Verrax, A.M. Neyrinck, J.C. Martin, K. P. Scott, P. Buc Calderon, O. Feron, G.G. Muccioli, P. Sonveaux, P.D. Cani, N.M. Delzenne // *Br. J. Cancer.* - 2012 (Oct 9).- № 107(8).- P. 1337-1344.

108. Blask D.E. Melatonin, sleep disturbance and cancer risk / D.E. Blask // *Sleep Med Rev.*- 2009 (Aug).- №13(4).- P. 257-264.
109. Bordin M. Histone deacetylase inhibitors up-regulate the expression of tight junction proteins / M. Bordin, F. D'Atri, L. Guillemot, S. Citi // *Mol Cancer Res.*- 2004.-№2.- P. 692-701.
110. Böhmig G.A. N-butyrate downregulates the stimulatory function of peripheral blood-derived antigen-presenting cells: a potential mechanism for modulating T-cell responses by short-chain fatty acids / G.A. Böhmig, P.M. Krieger, M.D. Säemann, C. Wenhardt, E. Pohanka, G.J. Zlabinger // *Immunology.*- 1997.- № 92(2).- P. 234–243.
111. Bonaz B. Water-avoidance stress-induced c-fos expression in the rat brain and stimulation of fecal output: role of corticotropin-releasing factor / B. Bonaz, Y. Taché // *Brain Res.*- 1994.- №641.- P. 21–28
112. Bortolin L. Effects of prenatal steroids in the development of necrotizing enterocolitis in Wistar rat neonates / L. Bortolin, M. Boer, S. Christiansen, H. García Rivello, J. Arbat, C. Fustiñana // *Arch. Argent. Pediatr.*- 2011.- № 109(1).- P. 24-29.
113. Bronikowski A.M. Open-Field Behavior of House Mice Selectively Bred for High Voluntary Wheel-Running / A.M. Bronikowski, P.A. Carter, J.G. Swallow, I.A. Girard, J.S. Rhodes, T. Garland Jr.// *Behavior Genetics.*- May 2001.- № 3 (31).
114. Brown R. E. Differences in measures of exploration and fear in MHC-congenic C57BL/6J and B6-H-2K mice / R.E. Brown, S.C. Corey, A.K. Moore // *Behavior Genetics.*- 1999.- №26. – P. 263-271.
115. Buddington K.K. Dietary Oligofructose and Inulin Protect Mice from Enteric and Systemic Pathogens and Tumor Inducers / K.K. Buddington, J.B. Donahoo, R.K. Buddington // *J. Nutr.*-2002.- №132. P. 472–477.
116. Carey A.N. Endogenous Opioid Activation Mediates Stress-Induced Deficits in Learning and Memory / A.N. Carey, A.M. Lyons, C.F. Shay, O. Dunton, J.P. McLaughlin // *The Journal of Neuroscience.*- 2009 (April 1). - №29(13).- P.-4293-4300.
117. Bosi P. New topics and limits related to the use of beneficial microbes in pig feeding / P. Bosi, P. Trevisi // *Benef Microbes.*- 2010 (Nov).- №1(4).- P.-447-454.

118. Cesta M.F. Normal Structure, Function, and Histology of the Spleen / M.F. Cesta // *Toxicologic Pathology*.- 2006.- № 34.- P. 455–465.
119. Chirakkal H. Upregulation of BAK by butyrate in the colon is associated with increased Sp3 binding / H. Chirakkal, S.H. Leech, K.E. Brookes, A.L. Prais, J.S. Waby, B.M. Corfe // *Oncogene*.- 2006.- № 25.- P. 7192-7200.
120. Chuang S.C. The intake of grain fibers modulates cytokine levels in blood / S.C. Chuang, R. Vermeulen, M.T. Sharabiani, C. Sacerdote, S.H. Fatemeh, F. Berrino, V. Krogh, D. Palli, S. Panico, R. Tumino, T.J. Athersuch, P. Vineis // *Biomarkers*.- 2011 (Sep).- №16(6).- P.- 504-510.
121. Clavien P.A. Liver regeneration: spotlight on the novel role of platelets and serotonin. / P.A. Clavien // *Swiss Med Wkly*.- 2008.-№138 (25-26).- P.- 361-370.
122. Clougherty J.E. Chronic social stress and susceptibility to concentrated ambient fine particles in rats / J.E. Clougherty, C.A. Rossi, J. Lawrence, M.S. Long, E.A. Diaz, R.H. Lim, B. McEwen, P. Koutrakis, J.J. Godleski // *Environ Health Perspect*.- 2010 (Jun).-№118(6).-P.-769-75
123. Couch J.A. Light and electron microscopic comparisons of normal hepatocytes and neoplastic hepatocytes of well-differentiated hepatocellular carcinomas in a teleost fish / J.A. Couch // *Diseases of aquatic organisms*.- 1993.- №16.- P.- 1-14.
124. Cuff M. The human colonic monocarboxylate transporter Isoform 1: its potential importance to colonic tissue homeostasis / M. Cuff, J. Dyer, M. Jones, S. Shirazi-Beechey // *Gastroenterology*.- 2005.- №128.-P.-676-686.
125. Cummings J.H. Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood / J.H. Cummings, E.W. Pomare, W.J. Branch, C.P. Naylor, G.T. Macfarlane // *Gut*.- 1987.- № 28.-P.- 1221-1227.
126. D'Argenio G. Butyrate, mesalamine, and factor XIII in experimental colitis in the rat: effects on transglutaminase activity / G. D'Argenio, V. Cosenza, I. Sorrentini, F. De Ritis, A. Gatto, M. Delle Cave, F.P. D'Armiento, G. Mazzacca // *Gastroenterology*.- 1994.- №106.-P.- 399-404.

127. Dashwood R.H. Dietary HDAC inhibitors: time to rethink weak ligands in cancer chemoprevention? / R.H. Dashwood, M.C. Myzak, E. Ho // *Carcinogenesis*.- 2006.-№ 27.-P.-344-349.
128. Davie J.R. Inhibition of histone deacetylase activity by butyrate / J.R. Davie// *J. Nutr.*- 2003.-№133.- P.- 2485-2493.
129. Deplancke B. Microbial modulation of innate defense: goblet cells and the intestinal mucus layer / B. Deplancke, H.R. Gaskins // *Am. J. Clin. Nutr.*- 2001.- №73.- P.- 1131-1141.
130. Delzenne N.M. Effects of fructans-type prebiotics on lipid metabolism / N.M. Delzenne, N. Kok // *Am J Clin. Nutr.* - 2001.- Vol. 73, №2.- P. 456- 458.
131. Duncan A.W. The ploidy conveyor of mature hepatocytes as a source of genetic variation / A.W. Duncan, M.H. Taylor, R.D. Hickey, A.E. Hanlon Newell, M.L. Lenzi, S.B. Olson, M.J. Finegold, M. Grompe // *Nature*.-2010.- № 467.- P. 707–710.
132. Ebert M.N. Expression of glutathione S-transferases (GSTs) in human colon cells and inducibility of GSTM2 by butyrate / M.N. Ebert, A. Klinder, W.H. Peters, A. Schaferhenrich, W. Sendt, J. Scheele, B.L. Pool-Zobel// *Carcinogenesis*.- 2003.- №24.-P.-1637-1644.
133. Engler H. Social stress and T cell maturation in male rats: transient and persistent alterations in thymic function / H. Engler, V. Stefanski // *Psychoneuroendocrinology*. – 2003 (Nov).- №28(8).-P.-951-969.
134. Eshak E.S. Dietary fiber intake is associated with reduced risk of mortality from cardiovascular disease among Japanese men and women / E.S. Eshak, H. Iso, C. Date, S. Kikuchi, Y. Watanabe, Y. Wada, K. Wakai, A. Tamakoshi // *J. Nutr.*- 2010 (Aug).-№140(8).-P.-1445-1453.
135. Esmael O.A. Hypolipidemic effect of fruit fibers in rats fed with high dietary fat / O.A. Esmael, S.N. Sonbul, S.S. Moselhy, T.A. Kumosani // *Benef Microbes*.- 2010 (Nov).- №1(4).- P.447-454.
136. Fazio E. Circulating β -endorphin, adrenocorticotrophic hormone and cortisol levels of stallions before and after short road transport: stress effect of different

distances / E. Fazio, P. Medica, V. Aronica, L. Grasso, A. Ferlazzo // *Acta Veterinaria Scandinavica*.- 2008.-№ 50. P.6.

137. Fechir M. Naloxone inhibits not only stress-induced analgesia but also sympathetic activation and baroreceptor-reflex sensitivity / M. Fechir, M. Breimhorst, S. Kritzmann, C. Geber, T. Schlereth, B. Baier, F. Birklein // *Eur J Pain*.- 2012 (Jan).- №16(1).-P.-82-92.

138. Filipović D. Acute and/or chronic stress models modulate CuZnSOD and MnSOD protein expression in rat liver / D. Filipović, L.M. Mandić, D. Kanazir, S.B. Pajović // *Mol Cell Biochem*.- 2010 (May).-№338(1-2).-P.-167-174.

139. Freeland K.R. Acute effects of intravenous and rectal acetate on glucagon-like peptide-1, peptide YY, ghrelin, adiponectin and tumour necrosis factor-alpha /K.R. Freeland, T.M. Wolever // *Br J Nutr*. 2010 (Feb).-№103(3).-P.-460-466.

140. Furness J.B. Neurons with 5-hydroxytryptamine-like immunoreactivity in the enteric nervous system: their projections in the guinea-pig small intestine / J.B. Furness, M. Costa // *Neuroscience*.- 1982.- №7.- P.- 341-349.

141. Furuyashiki T. Stress responses: the contribution of prostaglandin E₂ and its receptors / T. Furuyashiki, S. Narumiya // *Nature Reviews Endocrinology*.- 2011 (March).-№ 7.- P.- 163-175.

142. Gaudier E. Butyrate specifically modulates MUC gene expression in intestinal epithelial goblet cells deprived of glucose / E. Gaudier, A. Jarry, H.M. Blottiere, P. de Coppet, M.P. Buisine, J.P. Aubert, C. Laboisse, C. Cherbut, C. Hoebler // *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*.- 2004.- №287.-P.1168-1174.

143. Gibson P.R. Butyrate is a potent inhibitor of urokinase secretion by normal colonic epithelium in vitro / P.R. Gibson, O. Rosella, G. Rosella, G.P. Young // *Gastroenterology*.- 1994.-№107.-P.-410-419.

144. Gill H.S. Stimulation of the Immune System by Lactic Cultures / H.S. Gill // *International Dairy Journal*.- Volume 8, Number 5, May 1998.- P.- 535-544.

145. Grebe K.M. Cutting Edge: sympathetic nervous system increases proinflammatory cytokines and exacerbates influenza A virus pathogenesis /

K.M.Grebe, K. Takeda, H.D. Hickman, A.M. Bailey, A.C. Embry, J.R. Bennink, J.W. Yewdell // *J. Immunol.*- 2010.- №184.-P.-540-544.

146. Guerrero J.M. Melatonin-immune system relationships / J.M. Guerrero, R.J. Reiter // *Curr Top Med Chem.*- 2002.- №2.- P.-167-179.

147. Guinjoan SM. Mood, Th-1/Th-2 cytokine profile, and autonomic activity in older adults with acute/decompensated heart failure: preliminary observations / S.M. Guinjoan, D.E. Vigo, M.N. Castro, N. Tateosian, E. Chuluyan, E. Costanzo, R. Fahrner, H. Grancelli, R. Leiguarda, D.P. Cardinali // *World J Biol Psychiatry.*- 2009.- №10(4 Pt 3).-P.-913-918.

148. Guo J.R. Different Duration of Cold Stress Enhances Pro-Inflammatory Cytokines Profile and Alterations of Th1 and Th2 Type Cytokines Secretion in Serum of Wistar Rats / J.R. Guo, S.Z. Li, H.Z. Zhang, J.F. Wang, S. Guo, J.I. Hong, L. Zang, L. Guo, L. Zhen, H.M. Yang // *Journal of Animal and Veterinary Advances.*- 2012.- №11. P.-1538-1545.

149. Gupta N. SLC5A8 (SMCT1)-mediated transport of butyrate forms the basis for the tumor suppressive function of the transporter / N. Gupta, P.M. Martin, P.D. Prasad, V. Ganapathy // *Life Sci.*- 2006.- №78.- P.-2419-2425.

150. Harbach H. Response to delivery stress is not mediated by beta-endorphin / H. Harbach, K. Antrecht, R.H. Boedeker, G. Hempelmann, P. Markart, R. Matejec, J. Muehling, I. Welters, M. Zygmunt // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.*- 2008 (Jan).- №136(1). – P.- 39-45.

151. Hatayama H. The short chain fatty acid, butyrate, stimulates MUC2 mucin production in the human colon cancer cell line, LS174T / H. Hatayama, J. Iwashita, A. Kuwajima, T. Abe // *Biochem Biophys Res Commun.*- 2007.- № 356.-P.-599-603.

152. Hamer H. M. Short chain fatty acids and colonic health /H.Hammer.- *The Top Institute Food and Nutrition.*- 2009.- 168 p.

153. Hara I. Sodium butyrate induces apoptosis in human renal cell carcinoma cells and synergistically enhances their sensitivity to anti-Fas-mediated cytotoxicity / I. Hara, H. Miyake, S. Hara, S. Arakawa, S. Kamidono // *Int J Oncol.*- 2000 (Dec).- №17(6).- P.-1213-1218.

154. Hoffman R. M. 1998. Dietary carbohydrates and fat influence milk composition and fatty acid profile of mare's milk / R.M. Hoffman, D.S. Kronfeld, J.H. Herbein, W.S. Swecker, W.L. Cooper, P.A. Harris // *J. Nutr.*- 1988.- №128.-P.- 2708-2711.
155. Hopkins M.J. Degradation of cross-linked and non-cross-linked arabinoxylans by the intestinal microbiota in children / M.J. Hopkins, H.N. Englyst, S. Macfarlane, E. Furrie, G.T. MacFarlane, A.J. McBain // *Applied and Environmental Microbiology.*- 2003.- Vol 69, Iss 11.- P. 6354-6360.
156. Jones B.D. Toll-like receptor (TLR) response tolerance: a key physiological "damage limitation" effect and an important potential opportunity for therapy / B.D. Jones, J.A. Kirby // *Curr Med Chem.*- 2006.- №13(21).-P.-487-502.
157. Kanauchi O. Preventive effects of enzyme-treated rice fiber in a restraint stress-induced irritable bowel syndrome model / O. Kanauchi, M. Mitsuyama, Y. Komiyama, M. Yagi, A. Andoh, M. Sata // *International J. of molecular medicine.*- 2010.-№ 25.-P.- 547-555.
158. Karaki S.-H. Free fatty acid receptors and their physiological roles in colon / S.-H. Karaki, A. Kuwahara // *Medicina Wet.*- 2010.- № 66 (3). P- 147 – 155.
159. Karandikar N.J. Transient Stress Lymphocytosis / N.J. Karandikar, E.C. Hotchkiss, R.W. McKenna, S.H. Kroft // *Am J Clin Pathol.*- 2002.-№117.-P.-819-825.
160. Kamiya T. Inhibitory effects of *Lactobacillus reuteri* on visceral pain induced by colorectal distension in Sprague-Dawley rats / T. Kamiya , L. Wang, P. Forsythe, G. Goettsche, Y. Mao, Y. Wang, G. Tougas, J. Bienenstock // *Gut.*- 2006.- №55.- P.- 191–196.
161. Khalif I.L. Alterations in the colonic flora and intestinal permeability and evidence of immune activation in chronic constipation / I.L. Khalif, E.M. Quigley, E.A. Konovitch, I.D. Maximova // *Dig Liver Dis.*- 2005.- №37.-P.-838–849.
162. Khanfer R. Reduced neutrophil superoxide production among healthy older adults in response to acute psychological stress / R. Khanfer , D. Carroll, J.M. Lord, A.C. Phillips // *Int J Psychophysiol.*- 2012 (Dec).- №86(3).- P.-238-244.

163. Kimuraa I. Short-chain fatty acids and ketones directly regulate sympathetic nervous system via G protein-coupled receptor 41 (GPR41) / I. Kimuraa, D. Inouea, T. Maedaa, T. Haraa, F. Ichimuraa, S. Miyauchia, M. Kobayashib, A. Hirasawaa, G. Tsujimotoa // PNAS.- 2011.- № 108(19).- P.- 8030-8035
164. Klein D.C. Arylalkylamine N-acetyltransferase: the timezyme / D.C. Klein // Journal of Biological Chemistry.-2007.- № 7(282).-P.- 4233–4237.
165. Klein D.C. Pineal function: impact of microarray analysis / D.C. Klein, M.J. Bailey, D.A. Carter // Molecular and Cellular Endocrinology.-2010- №2 (314).- P.- 170–183.
166. Kokubo Y. Dietary fiber intake and risk of cardiovascular disease in the Japanese population: the Japan Public Health Center-based study cohort / Y. Kokubo, H. Iso, I. Saito, K. Yamagishi, J. Ishihara, M. Inoue, S. Tsugane // Eur J Clin Nutr.- 2011.- 65(11).-P.-1233-1241.
167. Komiyama Y. New prebiotics from rice bran ameliorate inflammation in murine colitis models through the modulation of intestinal homeostasis and the mucosal immune system / Y. Komiyama, A. Andoh, D. Fujiwara, H. Ohmae, Y. Araki, Y. Fujiyama, K. Mitsuyama, O. Kanauchi // Scand J Gastroenterol.- 2011.- №46(1).-P.-40-52.
168. Konturek P.C. Apoptosis in gastric mucosa with stress-induced gastric ulcers / P.C. Konturek, T. Brzozowski, S.J. Konturek, R. Pajdo, J.E. Konturek, S. Kwiecień, A. Taut, E.G. Hahn // J Physiol Pharmacol.- 1999.- №50(2).- P.- 211-225.
169. Korzenik J.R. Case closed? Diverticulitis: epidemiology and fiber / J.R. Korzenik // J Clin Gastroenterol.- 2006.- № 40(3).- P.-112-116.
170. Kresse A.E. Colitis induces CRF expression in hypothalamic magnocellular neurons and blunts CRF gene response to stress in rats / A.E. Kresse, M. Million, E. Saperas, Y. Taché // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.- 2001.-№281.-P.- 1203–1213.
171. Kronfeld D.S. Clinical assessment of nutritional status of the horse / D.S. Kronfeld. W. B. Saunders.- Metabolic and Endocrine Problems of the Horse., New York. -1998.- P.- 185-217.

172. Kurita-Ochiai T. Butyric acid-induced apoptosis of murine thymocytes, splenic T cells, and human Jurkat T cells. / T. Kurita-Ochiai, K. Fukushima, K. Ochiai // *Infect Immun.*- 1997.- №65(1).-P.- 35-41.
173. Kurita-Ochiai T. Volatile fatty acid, metabolic by-product of periodontopathic bacteria, induces apoptosis in WEHI 231 and RAJI B lymphoma cells and splenic B cells / T. Kurita-Ochiai, K.Ochiai, K. Fukushima // *Ibid.*- 1998.- №6(66).-P. 2587-2594.
174. Larauche M. Stress-induced visceral analgesia assessed noninvasively in rats is enhanced by prebiotic diet / M. Larauche, A. Mulak, Pu-Q. Yuan, O. Kanauchi, Y. Tache // *World J. Gastroenterol.*- 2012.-№18(3)ю.-P.-225-236.
175. Larauche M. Corticotropin releasing factor signaling in colon and ileum: regulation by stress and pathophysiological implications / M. Larauche, C. Kiank, Y. Taché // *J Physiol Pharmacol.*- 2009.-№60 (1 7).-P.-33–46.
176. Leston J. Melatonin is released in the third ventricle in humans. A study in movement disorders / J. Leston, C. Harth´e, J. Brun // *Neuroscience Letters.*- 2010.- № 3(469).-P.- 294–297.
177. Lesurtel M. Serotonin: A double-edged sword for the liver? / M. Lesurtel, C. Sol, B. Humar, P.-A. Clavien // *The Surgeon.*- 2012.- № 2(10).- P.-107-113.
178. Lesurtel M. Platelet-derived serotonin mediates liver regeneration / M. Lesurtel, R. Graf, B. Aleil, D.J. Walther, Y. Tian, W. Joshum, C. Gashet, M. Bader, P.-A. Clavien // *Science.*- 2006.- v.312, Issue 5770.- P. 104-107.
179. Li X.H. Central neurobiological mechanism of liver depression and spleen deficiency syndrome based on chronic stress: a review / X.H. Li, J.J. Li, Y.Y. Liu, J.X. Chen // *Journal of Chinese Integrative Medicine.*- 2012.-№ 10(1).-P.- 1-6.
180. Liese A.D. Whole-grain intake and insulin sensitivity: the Insulin Resistance Atherosclerosis / A.D. Liese, A.K. Roach, K.C. Sparks, L. Marquart, R. B. Dagostino, E.J. MayerDavis // *StudtAmerican Journal of Clinical Nutrition.*- 2003.- №5 (78).- P.- 965-971.
181. Loncar M.B. Tumour necrosis factor alpha and nuclear factor kappaB inhibit transcription of human TFF3 encoding a gastrointestinal healing peptide / M.B.

- Loncar, E.D. Al-azze, P.S. Sommer, M. Marinovic, K. Schmehl, M. Kruschewski, N. Blin, R. Stohwasser, P. Gott, T. Kayademir // *Gut*.- 2003.-№52.-P.-1297-1303.
182. Lupton J.R. Microbial degradation products influence colon cancer risk: the butyrate controversy / J.R. Lupton // *J.Nutr.*-2004.-№134.-P.- 479-482.
183. Lushaj E.B. Sarcopenia Accelerates at Advanced Ages in Fisher 344×Brown Norway Rats / E.B. Lushaj, J.K. Johnson, D. McKenzie, J.M. Aiken // *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.*- 2008.- 63(9).- P.- 921–927.
184. Mathew A.G. Influence of weaning age on ileal microflora and fermentation acids in young pigs / A.G. Mathew, M.A. Franklin, W.G. Upchurch, S.E. Chattin // *Nutr. Res.*-1996.- №16.- P.-817-827.
185. Macdonald T.T. Immunity, inflammation, and allergy in the gut / T.T. Macdonald, G. Monteleone // *Science*.- 2005.- №25;307(5717).-P.-1920-1925.
186. Macfarlane G.T. Comparison of fermentation reactions in different regions of the human colon / G.T. Macfarlane, G.R. Gibson, J.H. Cummings // *J Appl Bacteriol.*- 1992.-№72.-P.-57-64.
187. Mariadason JM, Barkla DH, Gibson PR. Effect of short-chain fatty acids on paracellular permeability in Caco-2 intestinal epithelium model. *Am J Physiol* 1997;272:G705-12.
188. Mathew A.G. Influence of weaning age on ileal microflora and fermentation acids in young pigs / A.G. Mathew, M.A. Franklin, W.G. Upchurch, S.E. Chattin // *Nutr. Res.* - 1996.- №16.-P.-817-827.
189. Matos D.A. Are calcium and fiber beneficial for poorly controlled diabetic patients? / D.A. Matos, R.G. Filizzola , M.J. Costa, A.S. Diniz, J. Faintuch // *Nutr Hosp.*-2011 (Mar-Apr).- №26(2).-P.-410-414.
190. McNulty S. Heat shock proteins as dendritic cell-targeting vaccines - getting warmer / S. McNulty, C.A. Colaco, L.E. Blandford, C.R. Bailey, S. Baschieri, S. Todryk // *Immunology*.- 2013 (Apr 2).
191. Mühl H. Expression and release of chemokines associated with apoptotic cell death in human promonocytic U937 cells and peripheral blood mononuclear cells / H.

Mühl, M. Nold, J.H. Chang, S. Frank, W. Eberhardt, J. Pfeilschifter // *Eur J Immunol.*- 1999 (Oct).-№29(10).-P.-3225-3235.

192. Milo L.A. Effects of Short-Chain Fatty Acid-Supplemented Total Parenteral Nutrition on Intestinal Pro-Inflammatory Cytokine Abundance / L.A. Milo, K.A. Reardon, K.A. Tappenden // *Digestive Diseases and Sciences.*-2002.- №9(47).- P.-2049–2055.

193. Milovic V. Effect of structural analogues of propionate and butyrate on colon cancer cell growth / V. Milovic, I.C. Teller, L. Turchanowa, W.F. Caspary, J. Stein // *Int. J. Colorectal Dis.*- 2000 (Nov).- №15(5-6).- P. 264-270.

194. Miragliotta G. Influence of short-chain fatty-acids produced by anaerobic-bacteria on procoagulant activity produced by escherichia-coli and bacteroides-fragilis-stimulated leukocytes - possible role in intraabdominal abscess formation / G. Miragliotta, A. Mosca, G.M. Minoia, R. Del Prete // *Microbios.*- 1993.- № 75. P.-233-240.

195. Mitkov D. Short chain fatty acid-induced hyperventilation is due to PGF₂-alpha / D. Mitkov // *Prostaglandin Leukot Essent Fatty Acids.*- 1993.-№ 49 (5).-P.-833-835.

196. Mozaffarian D. Cereal, fruit, and vegetable fiber intake and the risk of cardiovascular disease in elderly individuals / D. Mozaffarian, S.K. Kumanyika, R.N. Lemaitre, J.L. Olson, G.L. Burke, D.S. Siscovick // *Journal of the American Medical Association.*- 2003.- № 13 (289).- P.- 1659-1666

197. Negri E. Fiber intake and risk of nonfatal acute myocardial infarction / E. Negri, C. LA Vecchia, C. Pelucchi, M. Bertuzzi, A. Tavani // *European Journal of Clinical Nutrition.*- 2003.- № 3 (1 57).- P. 464-470.

198. Ohata A. Short-chain fatty acids alter tight junction permeability in intestinal monolayer cells via lipoxygenase activation / A. Ohata, M. Usami, M. Miyoshi // *Nutrition.*- 2005.-№21.-P.-838-847.

199. Paroder V. Na(+)/monocarboxylate transport (SMCT) protein expression correlates with survival in colon cancer: molecular characterization of SMCT / V. Paroder, S.R. Spencer, M. Paroder, D. Arango, S. Schwartz, J. M. Mariadason, L.H.

- Augenlicht, S. Eskandari, N. Carrasco // Proc Natl Acad Sci USA.- 2006.- №103.-P.- 7270-7275.
200. Pelucchi C. Fibre intake and prostate cancer risk / C. Pelucchi, R. Talamini, C. Galeone, E. Negri, S. Franceschi, L. DalMaso, M. Montella, E. Conti // Full source International Journal of Cancer.- 2004.-№2 (109).-P.- 278-280.
201. Peng L. Effects of butyrate on intestinal barrier function in a caco-2 cell monolayer model of intestinal barrier / L. Peng, Z. He, W. Chen, I.R. Holzman, J. Lin J // Pediatr Res.- 2007.-№61.-P.-37-41.
202. Pereira M.A. Dietary fiber and risk of coronary heart disease - A pooled analysis of cohort studies / M.A. Pereira, E. O'Reilly, K. Augustsson, G.E. Fraser, U. Goldbourt, B.L. Heitmann, G. Hallmans, P. Knekt, S.M. Liu, P. Pietinen, D. Spiegelman, J. Stevens, J. Virtamo, W.C. Willett, A. Ascherio // Archives of Internal Medicine.- 2004.-№4 (164).-P.- 370-376.
203. Porras M. Correlation between cyclical epithelial barrier dysfunction and bacterial translocation in the relapses of intestinal inflammation / M. Porras, M.T. Martín, P.C. Yang, J. Jury, M.H. Perdue, P. Vergara // Inflamm Bowel Dis.- 2006.- №12.- P.-843–852
204. Ruemmele F.M. Butyrate induced Caco-2 apoptosis is mediated via the mitochondrial pathway / F.M. Ruemmele, S. Schwartz, E.G. Seidman, S. Dionne, E. Levy, M.J. Lentze // Gut.- 2003.-№1 (52).-P.- 94-100.
205. Stollman N. Diverticular disease of the colon / N. Stollman, J.B. Raskin // Lancet.- 2004.- №9409 (363).-P.- 631-639.
206. Pałkowska E. The use of low-caloric diet with modified fatty acids pool in the therapy of the metabolic syndrome / E. Pałkowska, E. Bartnikowska, D. Owsiak // Roczniki Państwowego Zakładu Higieny.- 2012.- №63(2).-P.-163-169.
207. Pivac N. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis function and platelet serotonin concentrations in depressed patients / Pivac N., Jakovljević M., Mück-Seler D., Brzović Z. // Psychiatry Res.- 1997 (Dec).- № 5;73(3).- P.- 123-132.
208. Place R.F. HDAC inhibition prevents NF-kappa B activation by suppressing proteasome activity: down-regulation of proteasome subunit expression stabilizes

- Ikappa B alpha / R.F. Place, E.J. Noonan, C. Giardina // *Biochem Pharmacol.*- 2005.- №70.-P.-394-406.
209. Rapport MM, Green AA, Page IH. Serum vasoconstrictor, serotonin; isolation and characterization. *J Biol Chem* 1948; 176: 1243-51.
210. Ranganna K. Gene expression profile of butyrate-inhibited vascular smooth muscle cell proliferation / K. Ranganna, Z. Yousefipour, F.M. Yatsu, S.G. Milton, B.E. Hayes // *Molecular and Cellular Biochemistry.*- 2003.-№254 (1-2).-P.- 21-36.
211. Rehm K.E. The Impact of self-reported psychological stress levels on changes to peripheral blood immune biomarkers in recreational marathon runners during training and recovery / K.E. Rehm, O.U. Elci, K. Hahn, G.D. Marshall G.D.// *Neuroimmunomodulation.*- 2013 (Mar).-№ 20(3).-P.-164-176.
212. Reikvam A.G. Study on the effects of serotonin reuptake inhibitors on platelet function in whole blood and platelet concentrates / A.G. Reikvam.- Centre of Pharmacy, The Gade Institute, Institute of Medicine University of Bergen, Norway.- 2010.- P. 68
213. Ren H. Short-chain fatty acids induce intestinal epithelial heat shock protein 25 expression in rats and IEC 18 cells / H. Ren, M.W. Musch, K. Kojima, D. Boone, A. Ma, E. B. Chang // *Gastroenterology.*- 2001.-№121.-P.-631-639.
214. Roberfroid M.B. Concepts in functional foods: the case of inulin and oligofructose / M.B. Roberfroid// *J Nutr.*- 1999.- №7 (129). P.- 1398-1401.
215. Rodriguez-Cabezas M.E. Dietary fiber down-regulates colonic tumor necrosis factor alpha and nitric oxide production in trinitrobenzenesulfonic acid-induced colitic rats / M.E. Rodriguez-Cabezas, J. Galvez, M.D. Lorente, A. Concha, D. Camuesco, S. Azzouz, A. Osuna, L. Redondo, A. Zarzuelo // *J. Nutr.*- 2002.-№ 132.-P.-3263-3271.
216. Rodriguez-Salvador J. Effect of sodium butyrate on pro-matrix metalloproteinase-9 and -2 differential secretion in pediatric tumors and cell lines / J. Rodriguez-Salvador, C. Armas-Pineda, M. Perezpena-Diazconti, F. Chico-Ponce de Leon, G. Sosa-Sainz, P. Lezama, F. Recillas-Targa, F. Arenas-Huertero // *J Exp Clin Cancer Res.*- 2005.-№24.-P.-463-473.

217. Romanowski W. Does stress test influence Interleukin (IL)-2 and IL-8 concentration in serum patients with stable ischaemic heart disease? / W. Romanowski, J. Szkodzinski, A. Kaszuba, A. Blazelonis, Z. Muryn, A. Pietka-Rzycka, B. Zubelewicz-Szkodzinska // *Endocrine Abstracts*.- 2007.-№ 14.- P.-17.
218. Rosignoli P. Protective activity of butyrate on hydrogen peroxide-induced DNA damage in isolated human colonocytes and HT29 tumour cells / P. Rosignoli, R. Fabiani, A. De Bartolomeo, F. Spinuzzi, E. Agea, M.A. Pelli, G. Morozzi // *Carcinogenesis*.- 2001.-№22.- P.-1675-1680.
219. Rothjizen J. Aging and the hypothalamus-pituitary-adrenocortical axis, with special reference to the dog / J. Rothjizen, J.M. Reul, A. Rijnberk // *Acta endocrinol*.- 1991.-№1 (125).- P.- 73-76.
220. Rousseaux C. Lactobacillus acidophilus modulates intestinal pain and induces opioid and cannabinoid receptors / C. Rousseaux, X. Thuru, A. Gelot, N. Barnich, C. Neut, L. Dubuquoy, C. Dubuquoy, E. Merour, K. Geboes, M. Chamaillard // *Nat Med*.- 2007.-№13.-P.- 35–37.
221. Salvioli S. Inflamm-Aging, Cytokines and Aging: State of the Art, New Hypotheses on the Role of Mitochondria and New Perspectives from Systems Biology / S. Salvioli, M. Capri, S. Valensin, P. Tieri, D. Monti, E. Ottaviani, C. Franceschi // *Current Pharmaceutical Design*.- 2006.- № 12.- P.- 3161-3171.
222. Segal I. *Eur J Cancer* 1998; 7: 5: 387-391
223. Selye H. A Syndrome produced by Diverse Nocuous Agents / H. Selye // *Nature*.- 1936 (July 4).- P. 32.
224. Schauber J. Expression of the cathelicidin LL-37 is modulated by short chain fatty acids in colonocytes: relevance of signalling pathways / J. Schauber, C. Svanholm, S. Termen, K. Iffland, T. Menzel, W. Scheppach, R. Melcher, B. Agerberth, H. Luhrs, G.H. Gudmundsson // *Gut*.- 2003.-№52.- P.-735-741.
225. Schley P.D. The immune-enhancing effects of dietary fibres and prebiotics / P.D. Schley, C.J. Field // *Br J Nutr*.- 2002 (May).- №2(87).-P.-221-230.
226. Schlesinger MJ. Heat shock proteins. *The Journal of Biological Chemistry*.1990;(21): 12111–12114.

227. Schmidt J. Selective orthosteric free fatty acid receptor 2 (ffa2) agonists: identification of the structural and chemical requirements for selective activation of ffa2 versus FFA3 / J. Schmidt , N. J. Smith, E. Christiansen, I. G. Tikhonova, M. Grundmann, B.D. Hudson, R.J. Ward, C. Drewke, G. Milligan, E. Kostenis, T. Ulven // American Society for Biochemistry and Molecular Biology.- 2010.- P. 26.
228. Souza da Silva C. Effects of dietary fibers with different fermentation characteristics on feeding motivation in adult female pigs / C. Souza da Silva, J.E. Bolhuis, W.J. Gerrits, B. Kemp, J.J. van den Borne // *Physiol Behav.*- 2013 (Feb)- №110-111.-P.-148-157.
229. Söderholm J.D. Chronic stress induces mast cell-dependent bacterial adherence and initiates mucosal inflammation in rat intestine / J.D. Söderholm, C. Souza da Silva // *Gastroenterology.*- 2002.-№123.-P.-1099–1108.
230. Shiga K. Ingestion of water-soluble soybean fiber prevents gastrectomy-induced iron malabsorption, anemia and impairment of voluntary running exercise performance in rats / K. Shiga, H. Hara, G. Okano, Y. Aoyama // *Journal of Nutrition.*- 2003.-№ 4(133).- P.-1120-1126.
231. Sugama S. Cold stress induced morphological microglial activation and increased IL-1 β expression in astroglial cells in rat brain / S. Sugama, T. Takenouchi, M. Fujita, H. Kitani, M. Hashimoto // *J Neuroimmunol.*- 2011 (Apr).- № 233(1-2).- P.-29-36.
232. Mozaffarian D. Cereal, fruit, and vegetable fiber intake and the risk of cardiovascular disease in elderly individuals / D. Mozaffarian, S.K. Kumanyika, R.N. Lemaitre, J.L. Olson, G. L. Burke, D.S. Siscovick // *Journal of the American Medical Association.*- 2003.- №13 (289).-P.- 1659-1666.
233. Saxena P.R. Cardiovascular effects of serotonin agonists and antagonists / P.R. Saxena, C.M. Villalon // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* – 1990 – № 7(15). – P.17-34.
234. Schlesinger M.J. Heat shock proteins / M.J. Schlesinger // *The Journal of Biological Chemistry.*- 1990.-№ 265(21).-P.- 12111–12114.
235. Sharp P.E. The laboratory rat / P.E. Sharp, M.C. La Regina. - CRC Press: Boca Raton, London, New York, Washington. -1998 by – p.323.

236. Shi Q.X. κ -opioid Receptor Activation Prevents Against Arrhythmias by Preserving Cx43 Protein Via Alleviation of Intracellular Calcium / Q.X. Shi, L.J. Zhang, Y. Yao, Q.Y. Zhang, W. Wang, J. Li, Y.L. Shang, H. Bi, S.M. Zhang, H.T. Guo, Y.M. Wang, S.Q. Yu, D.H. Yi, F.R. Bueno, A.D. Kaye, J.M. Pei // *Am J Ther.*-2012.
237. Silverman M.N. Cytokines and Mental Health / M.N. Silverman, B.D. Pearce, A.H. Miller // Cytokines and HPA axis regulation. In: Kronfol, Z. (Ed.).- Kluwer, Norwell, Mass.- 2003.- №7.-P.- 85–122.
238. Spiller R. Clinical update: irritable bowel syndrome /R. Spiller // *Lancet.*-2007.- № 369.-P.- 1586-1588.
239. Spiller R. Guidelines on the irritable bowel syndrome: mechanisms and practical management / R. Spiller, Q. Aziz, F. Creed et al // *Gut.*-2007.- №56. P.- 1770-1798.
240. Spiller R. Review article: probiotics and prebiotics in irritable bowel syndrome / R. Spiller // *Aliment Pharmacol Ther.*- 2008.-№28.-P.-385–396.
241. Srinivasan V. Melatonin, immune function and aging / V. Srinivasan, G.J.M. Maestroni, D.P. Cardinali, A.I. Esquifino, S.R. Pandi-Perumal, S.C. Miller SC // *Immunity & Ageing.*- 2005 (November).-P.- 2-17.
242. Stein K. Fermented wheat aleurone induces enzymes involved in detoxification of carcinogens and in antioxidative defence in human colon cells / K. Stein, A. Borowicki, D. Scharlau, M. Gleis // *Br J Nutr.*- 2010 (Oct).- №104(8).-P.-1101-1111.
243. Sudhanshu A. Assessment of Liver Damage in male albino rats after Repetitive Heat Stress of moderate level / A. Sudhanshugrawal, G. Deepika // *National Journal of Physiology, Pharmacy & Pharmacology* 2013.-№2 (3).-P.- 139 – 144.
244. Suzuki R. Dietary fiber intake and risk of postmenopausal breast cancer defined by estrogen and progesterone receptor status--a prospective cohort study among Swedish women / R. Suzuki, T. Rylander-Rudqvist, W. Ye, S. Saji, H. Adlercreutz, A. Wolk // *Int J Cancer.*- 2008 (Jan).-№122(2).-P.-403-412.

245. Sumako Y. Alpha-defensin enhances expression of HSP47 and collagen-1 in human lung fibroblasts / Y. Sumako, H. Mukae, H. Ishii // *Life Sci.* – 2007. – Vol.20. – P.1736-7817.
246. Swanson C.A. Effects of Diet and Probiotic Supplementation on Stress during Weaning in Thoroughbred Foals. Thesis submitted to the Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science in Animal and Poultry Sciences.- 2002.-P.-55.
247. Szabo S. Selye H. and the development of the stress concept / S. Szabo // Special reference to gastroduodenal ulcerogenesis. *Ann N Y Acad Sci.*- 1998 (Jun).- №851.-P.-19-27.
248. Taché Y. A role for corticotropin-releasing factor in functional gastrointestinal disorders / Y. Taché, C. Kiank, A. Stengel // *Curr Gastroenterol Rep.*- 2009.-№11.- P.-270–277.
249. Takahasi T. Daily intake of high dietary fiber slows accelerated colonic transit induced by restrain stress in rates / T. Takahasi, Y. Nakade, H. Fukuda, K. Tsukamoto, C. Mantyh, T.N. Pappas // *Digestive diseases and Sciences.*- 2008.-№ 5 (53).-P.- 1271-1277.
250. Talley N.J. Pharmacologic therapy for the irritable bowel syndrome / N.J. Talley // *Am J Gastroenterol.*-2003.-№ 98.-P.- 750-758.
251. Tazoe H., Y. Otomo I. Kaji, Tanaka R., Karaki S.-I., Kuwahara A. Roles of short-chain fatty acids receptors, GPR 41 and GPR 43 on colonic functions. *Jornal of physiology and pharmacology* 2008, 59, suppl 2 pp. 251-62.
252. Tedelind S. Anti-inflammatory properties of the short-chain fatty acids acetate and propionate: a study with relevance to inflammatory bowel disease / S. Tedelind, F. Westberg, M. Kjerrulf, A. Vidal // *World J Gastroenterol.*- 2007 (May).- №13(20).-P.-:2826-2832.
253. Tricoire H. Melatonin enters the cerebrospinal fluid through the pineal recess / H. Tricoire, A. Locatelli, P. Chemineau, B. Malpoux // *Endocrinology.*- 2002.- № 143 (1).- P.- 84–90.

254. Tseng Y.L. Selective serotonin reuptake inhibitors reduce P2Y₁₂ receptor-mediated amplification of platelet aggregation / Y.L. Tseng, M.L. Chiang, H.Y. Lane, K.P. Su, Y.C. Lai // *Thromb Res.*- 2013 (Apr).-№131(4).-P.-325-332.
255. Ulven T. Short-chain free fatty acid receptors FFA2/GPR43 and FFA3/GPR41 as new potential therapeutic targets / T.Ulven // *Front Endocrinol (Lausanne).*- 2012.- №3.-P.-111.
256. vanDam R.M. The epidemiology of lifestyle and risk for type 2 diabetes / R.M. vanDam // *European Journal of Epidemiology.*- 2003.- № 12 (18).-P.- 1115-1125.
257. van den Heuvel E.G. Oligofructose stimulates calcium absorption in adolescents / E.G. van den Heuvel, T. Muys, W. van Dokkum, G. Schaafsma // *Am J Clin Nutr.*- 1999 (Mar).-№ 3 (69).- P.- 544-548.
258. Van't Veer A. Corticotropin-releasing factor (CRF)-induced disruption of attention in rats is blocked by the κ -opioid receptor antagonist JDTC / A. Van't Veer, J.M. Yano, F.I. Carroll, B.M. Cohen, W.A. Carlezon // *Neuropsychopharmacology.*- 2012 (Dec).- №37(13).-P.-2809-2816.
259. Veld J.H.J. Selection criteria for microorganisms for probiotic use / J.H.J. Veld, R. Havenaar // *Probiotics and Pathogenicity.*- 1993.- P.-11-19.
260. Vermes I. Hypothalamic serotonin content and pituitary-adrenal function following hypothalamic deafferentation / I. Vermes, D. Molnar, G. Telegdy // *Acta physiol Acad Sci hung.*- 1973.-№ 43.-P.- 239-245.
261. Vermes I. Effect of midbrain raphe lesion on diurnal and stress-induced changes in serotonin content of discrete regions of the limbic system and adrenal function in the rat / I. Vermes, Telegdy G, Lissak K // *Acta physiol Acad Sci hung.*- 1974.- № 45.-P.- 217-224.
262. Vukelic S. Cortisol Synthesis in Epidermis Is Induced by IL-1 and Tissue Injury / S. Vukelic, O. Stojadinovic, I. Pastar, M. Rabach, A. Krzyzanowska, E. Lebrun, S.C. Davis, S. Resnik, H. Brem, M. Tomic-Canic // *Biol Chem.*- 2011 (March).- № 286(12).-P.- 10265–10275.

263. Vukobrat-Bijedić Z. Carcinoma in the events of helicobacter pylori positive chronic atrophic gastritis / Z. Vukobrat-Bijedić, S. Radović, A. Husić-Selimović, S. Gornjaković // *Bosnian journal of basic medical sciences* 2006.- №6 (4).-P.-48-53.
264. Walker B.L. Response of rat adrenal cholesteryl esters to cold stress / B.L. Walker, J.A. Carney // *Lipids*.- 1971.-№11 (6).-P.- 797-804.
265. Walsh S.V. Modulation of tight junction structure and function by cytokines / S.V. Walsh, A.M. Hopkins, A. Nusrat // *Adv Drug Deliv Rev*.- 2000.-№41.-P.- 303-313.
266. Walter G.L. Pathologic alterations in adult rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, exposed to dietary 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin / G.L. Walter, P.D. Jones, J.P. Giesy // *Aquatic Toxicology*.-2000.-№50.- P.- 287–299.
267. Wang H. Bifidobacteria may be beneficial to intestinal microbiota and reduction of bacterial translocation in mice following ischaemia and reperfusion injury / H. Wang, W. Zhang, L. Zuo, W. Zhu, B. Wang, Q. Li, J. Li // *Br J Nutr*.- 2012 (Nov).-№ 5.-P.- 1-9.
268. Wilson A.J. Short-chain fatty acids promote the migration of colonic epithelial cells in vitro / A.J. Wilson, P.R. Gibson // *Gastroenterology*.- 1997.-№113.-P.-487-496.
269. Willemsen L.E. Short chain fatty acids stimulate epithelial mucin 2 expression through differential effects on prostaglandin E(1) and E(2) production by intestinal myofibroblasts / L.E. Willemsen, M.A. Koetsier, S.J. van Deventer, E.A. van Tol // *Gut*.- 2003.-№52.-P.-1442-1447.
270. Wu C. Heat shock transcription factors: structure and regulation / C. Wu// *Annual review of cell and developmental biology*.- 1995.- №11.-P.-441–469.
271. Wolfe A.J. The Acetate Switch / A.J. Wolfe // *Microbiol. Mol. Biol. Rev*.- 2005.- №69.-P.-12-50.
272. Wong G.T. Cardioprotection from remote preconditioning involves spinal opioid receptor activation / G.T. Wong, Y. Lu, B. Mei, Z. Xia, M.G. Irwin // *Life Sci*.- 2012 (Oct).- №91(17-18).-P.-860-865.

273. Xiao E. Stimulatory effects of interleukin-induced activation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis on gonadotropin secretion in ovariectomized monkeys replaced with estradiol / E. Xiao, L. Xia, D. Shanen, D. Khabele, M. Ferin // *Endocrinology*.- 1994 (Nov).-№135(5).-P.-2093-2098.
274. Yang P.C. Chronic psychological stress in rats induces intestinal sensitization to luminal antigens / P.C. Yang, J. Jury, J.D. Söderholm, P.M. Sherman, D.M. McKay, M.H. Perdue // *Am J Pathol*.- 2006.- № 168.- P.-104–114.
275. Yildirim N.C. The effect of adrenomedullin and cold stress on interleukin-6 levels in some rat tissues / N.C. Yildirim, M. Yurekli // *Clin Exp Immunol*.- 2010 (July).- № 161(1).-P.- 171–175.
276. Yu Y.B. Transient receptor potential vanilloid-1 (TRPV1) and ankyrin-1 (TRPA1) participate in visceral hyperalgesia in chronic water avoidance stress rat model / Y.B. Yu, J. Yang, X.L. Zuo, L.J. Gao, P. Wang, Y.Q. Li // *Neurochem Res*.- 2010.-№35.-P.-797–803.
277. Zareie M. Probiotics prevent bacterial translocation and improve intestinal barrier function in rats following chronic psychological stress / M. Zareie, K. Johnson-Henry, J. Jury, P.C. Yang, B.Y. Ngan, D.M. McKay, J.D. Soderholm, M.H. Perdue, P.M. Sherman // *Gut*.- 2006.- №55.- P.- 1553–1560.
278. Zeng H. Prolonged butyrate treatment inhibits the migration and invasion potential of HT1080 tumor cells / H. Zeng, M. Briske-Anderson // *J Nutr*.- 2005.- №135.-P.-291-295.
279. Zern M.A. Relationship between serum cortisol, liver function, and depression in detoxified alcoholics / M.A. Zern, U. Halbreich, K. Bacon, M. Galanter, B.J. Kang, F. Gasparini // *Alcohol Clin. Exp. Res*.- 1986.-№ 10(3).-P.- 320-322.
280. Zgouras D. Butyrate impairs intestinal tumor cell-induced angiogenesis by inhibiting HIF-1alpha nuclear translocation / D. Zgouras, A. Wachtershauser, D. Frings, J. Stein // *Biochem Biophys Res Commun*.- 2003.- №300.-P.-832-838.
281. Zhang C.X. Effect of dietary fiber intake on breast cancer risk according to estrogen and progesterone receptor status / C.X. Zhang, S.C. Ho, S.Z. Cheng, Y.M. Chen, J.H. Fu, F.Y. Lin // *Eur J Clin Nutr*.- 2011 (Aug).-№65(8).-P.-929-936.

282. Zlatković J. Stress-induced alternations in CuZnSOD and MnSOD activity in cellular compartments of rat liver / J. Zlatković, D. Filipović// Mol Cell Biochem.-2011 (Nov).-№357(1-2).-P.-143-150.