

References:

1. *Альтишулер В. Б.* Алкоголизм. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – С. 264.
2. *Гананольский В. П.* Система опиоидов и гормонов стресса при тяжелой механической травме и интоксикации этанолом: автореф. дис. канд. мед. наук. – СПб., 2003. – С. 108.
3. *Курч Н. М.* Эмбрио- и фетотоксические эффекты этаноловой интоксикации у пренатально алкоголизированных животных / Курч Н.М. // Журн. теорет. и практ. мед. – 2011. – Т. 9 (спец. вып.). – С. 175–178.
4. *Пугач П.В.* Особенности строения тимуса и краниальных брыжеечных лимфатических узлов у новорожденных крыс, после пренатального этанола / ., *Круглов С. В., Карелина Н. Р.* // Морфология. – 2013. – Т. 144. – № 4. – С. 30–35.
5. *Jankala H.* Role of acetaldehyde in the induction of heart left ventricular atrial natriuretic peptide gene expression in rats Alcohol / *Eriksson C. J. P., Petersen N. E. et al* // – 2000. – Vol. 35. – № 4. – P. 331–335.
6. *Lemoine P.* Les enfants de parents alcooliques: anomalies observées à propos de 127 cas / P. Lemoine, H. Haronsseus, Y. P. Borteuri et al. // Quest. med. – 1968. – № 5. – P. 476–482.

УДК: 61.343: 612.017.1: 616.34-008.87.- 092.11

Шокиров Б.С., Халимова Ю.С.

**ПИЩЕВАРИТЕЛЬНАЯ ФУНКЦИЯ КИШЕЧНИКА ПОСЛЕ
КОРРЕКЦИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ДИСБАКТЕРИОЗА У КРЫС
БИФИДОБАКТЕРИЯМИ**

Кафедра “Гистология, цитология и эмбриология”

Научный руководитель – д.м.н. Рахматова М.Х

Бухарский государственный медицинский институт

Бухара, Узбекистан

Shokirov B.S., Halimova Yu.S.

**DIGESTIVE FUNCTION OF THE INTESTINAL AFTER CORRECTION OF
EXPERIMENTAL DYSBACTERIOSIS IN RATS WITH BIFIDOBACTERIA**

Department "Histology, Cytology and Embryology"

Scientific adviser - Doctor of Medical Sciences Rakhmatova M.Kh

Bukhara State Medical Institute

Bukhara, Uzbekistan

E-mail: bekozod.shokirov@bk.ru

Аннотация. Исследование было направлено на оценку воздействия местных бифидобактерий на кишечную микробиоту и пищеварительные ферменты на крысиной модели антибиотико-ассоциированного дисбиоза.

Annotation. The study was aimed at assessing the effects of local bifidobacteria on intestinal microbiota and digestive enzymes in a rat model of antibiotic-associated dysbiosis.

Ключевые слова: аутопробиотики, кишечные пищеварительные ферменты, микробиом

Key words: auto-probiotics, intestinal digestive enzymes, microbiome

Введение

Бактерии, принадлежащие к роду *Bifidobacterium*, являются одними из основных компонентов кишечной микробиоты человека и животных [2, 3]. Они участвуют в ферментации пищевых продуктов и эндогенных углеводов и подавляют рост патогенных микроорганизмов путем производства органических кислот, конкурируя за рецепторы на эпителии кишечника, на которых может происходить фиксация патогенных микроорганизмов, и путем деконъюгации желчных кислот [4].

Бифидобактерии участвуют в модуляции иммунной системы (в частности, за счет изменения продукции слизи бокаловидными клетками и деградации защитных гликанов на муцинах) [4] и восстановления измененной микробиоты, существенно влияя на нее. Пробиотические бифидобактерии по отдельности или в сочетании с другими бактериями часто используются для профилактики и коррекции дисбактериоза.

В последние годы большой интерес вызывают аутопробиотики - аборигенные бактерии, выращиваемые в лабораторных условиях, как средства коррекции дисбактериоза кишечника. По сравнению с пробиотическими бактериями представители собственной микробиоты обладают лучшей иммунологической толерантностью, не проявляют выраженной антагонистической активности по отношению к облигатным членам кишечной микробиоты и могут длительно сохраняться в организме. тело, за счет лучшей адаптации к условиям существования в нем.

Цель исследования - данной работы было изучить влияние аутопробиотических бифидобактерий на микробиоту и ферменты кишечной мембраны, участвующие в пищеварении и поддержании гомеостаза, с использованием модели антибиотико-ассоциированного дисбиоза на крысах.

Материалы и методы исследования

Исследование выполнено на 30 самках беспородных белых крыс восьмидневного возраста, содержащихся в стандартных условиях вивария.

Экспериментальный дисбактериоз кишечника индуцировали у крыс ежедневным внутрижелудочным введением (с помощью металлического наконечника) ампициллина (Remedy, СП ООО Узбекско-Британское) в дозе 75

мг / кг и метронидазола (GufikAvitsenna, Беларусь) в дозе 50 мг / кг в течение трех дней [5, 6].

Для приготовления аутопробиотических бифидобактерий фекалии брали у здоровых крыс за семь дней до введения антибиотиков. Индивидуальные клоны *Bifidobacterium* spp. были выделены из бульона Блаурока (Питательная среда, Санкт-Петербург, Россия) после инкубации образцов кала в течение 48 ч при 37 ° С в анаэробных условиях. Пять типичных колоний, выращенных на дне пробирок, пересеивали на свежую культуральную среду для получения чистой культуры.

Крысы были разделены на три группы (n = 10 животных в каждой): контрольная группа А0 (здоровые животные), группа А1 и группа В. Крысы в группах В и А1 после применения антибиотиков в течение 3 дней получали затем в течение 5 дней аутопробиотические бифидобактерии и PBS (вместо аутопробиотика) соответственно. Крысы контрольной группы С0 получали воду вместо антибиотиков и PBS вместо аутопробиотика одновременно.

Важно отметить, что крысы группы В на протяжении всего периода эксперимента (включая период с внесением аутопробиотических бифидобактерий) содержались в отдельных клетках во избежание обмена микробиотой с другими животными этой группы. Кроме того, в рационе крыс в наших экспериментах не было бифидобактерий. Эти факты подтверждают, что в наших экспериментах крысы группы В получали только аборигенные бифидобактерии. Образцы фекалий, собранные в дни 0 и 9 экспериментов у всех животных, использовали для исследования микробиоты с помощью количественной ПЦР анализа.

После аутопсии (девятый день экспериментов) состояние кишечника оценивали макроскопически. Тонкую кишку, толстую кишку и слепую кишку взвешивали отдельно. Образцы слизистой оболочки и химуса были взяты из различных частей тонкой кишки (двенадцатиперстная кишка, тощая кишка, подвздошная кишка) и из толстой кишки. Их хранили при -80 ° С и замораживали для определения активности пищеварительных ферментов кишечного эпителия и химуса.

Активность мальтазы () и щелочной фосфатазы определяли в гомогенатах химуса из различных сегментов кишечника с использованием описанных методов ранее[6]. Образцы химуса были взяты из тонкой кишки, а также из толстой кишки. Для этого просвет каждого отдела кишечника промывали 30 мл холодного раствора Рингера (рН 7,1–7,4). Удельную активность каждого фермента рассчитывали как мкмоль / мин на 1 г сырого веса слизистой оболочки или химуса, взятого из сегмента кишечника.

Результаты исследования и их обсуждение

При введении антибиотиков в течение 3 дней в группах А1 и В у животных наблюдались симптомы диспепсии (которые выражались мягкой консистенцией фекалий). На третьи сутки после начала введения антибиотика количество животных с мягкой консистенцией фекалий составило: в группе А1 - 3/10, в

группе В - 3/10. В отсутствие аутопробиотиков после отмены антибиотиков (группа А1) симптомы диспепсии у крыс исчезли на восьмой день экспериментов, тогда как в присутствии аутопригенных бифидобактерий (группа В) эти симптомы исчезли уже на шестом дне экспериментов.

На четвертые сутки после начала введения антибиотика масса тела крыс в группе А1 не изменилась, а в группе В несколько снизилась по сравнению с первым днем. Однако в контрольной группе А0 масса тела крыс значительно увеличилась с первого по четвертый день ($p < 0,05$). Впоследствии с четвертого по шестой день экспериментов в группе Вf и в группе С1 у крыс наблюдалось увеличение массы тела ($p < 0,01$ и $p < 0,003$ для групп В и А1 соответственно).

В конце экспериментов обнаружены достоверные различия в распределении массы химуса по кишечнику в группах А0, А1 и В. Таким образом, в группе А1 по сравнению с группой А0 наблюдалась тенденция к увеличению массы химуса в двенадцатиперстной кишке, а также в проксимальном и дистальном отделах тощей кишки. В то же время в группе В масса химуса в двенадцатиперстной кишке и в проксимальном отделе тощей кишки была снижена ($p < 0,04$) по сравнению с группой А1 и не отличалась от соответствующих значений в группе А0. Примечательно, что в группе В масса химуса в толстой кишке была значительно увеличена по сравнению с группами С0 и С1.

Содержание *Bifidobacterium* spp. в образцах кала крыс в группе В была выше, чем в контроле А0 и группе А1 ($p < 0,04$).

Наконец, чтобы проанализировать различия в относительной численности этих родов бактерий (*Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Ruminococcus*) и корреляции между ними, мы использовали подход, когда все три группы анализировались вместе. Однако корреляции между представлением отдельных родов бактерий не установлено.

В отсутствие аутопробиотиков после отмены антибиотиков (группа А1) наблюдалась только тенденция к снижению удельной активности мальтазы в слизистой оболочке верхнего отдела кишечника (двенадцатиперстная кишка, тощая кишка) по сравнению с контрольной группой А0. При введении аутопригенных бифидобактерий после отмены антибиотиков (группа В) удельная активность мальтазы в слизистой оболочке этих отделов кишечника восстанавливалась до уровней, близких к контрольной группе А0, и заметных изменений в этом не наблюдалось. параметр в подвздошной и толстой кишке по сравнению с контролем А0. Аналогичные закономерности наблюдались для удельной активности щелочной фосфатазы в слизистой оболочке различных отделов кишечника у крыс в группах А1 и В по сравнению с контрольной группой А0.

Известно, что толстый кишечник является местом деградации пищеварительных ферментов, в том числе мембранных кишечных ферментов, которые попадают в него как часть слущенного эпителия из верхних отделов кишечника. Как протеазы поджелудочной железы, так и бактериальные протеазы участвуют в деградации пищеварительных ферментов [1]. В связи с

этим сравнение активности мембранных пищеварительных ферментов в химусной фракции толстой кишки между группами А0, А1 и В позволило оценить особенности деградации отдельных мембранных ферментов в этих группах.

Наши результаты показали, что применение аборигенных бифидобактерий (автопробиотика) у крыс после отмены антибиотиков (группа В) ускорило исчезновение у них диспептических симптомов дисбактериоза кишечника, не изменяло прибавку веса животных и предотвращало увеличение у них химусная масса в верхнем отделе кишечника, возникшая в отсутствие автопробиотиков (группа А1).

Выводы

В заключение настоящее исследование с использованием модели дисбиоза крыс показало, что местные бифидобактерии могут защищать микробиоту и мембранные ферменты, участвующие в пищеварении и поддержании гомеостаза в кишечнике, от нарушений, вызванных дисбиозом; однако существуют особенности изменения перечисленных параметров и нежелательные последствия в отношении моторной функции толстой кишки, которые необходимо учитывать в случае использования такого автопробиотика.

Список литературы

1. Ермоленко Э. Влияние различных пробиотических молочнокислых бактерий на микробиоту и метаболизм крыс с дисбактериозом / Громова, Л .; Борщев, Ю.; Воейкова, А .; Карасева, А .; Ермоленко, К .; Груздков, А .; Суворов А.А. // *Biosci. Microb. FoodHealth* 2013, 32 , 41–49.
2. Тарасова, Е. Влияние пробиотического штамма *Enterococcus faecium* L5 на микробиоту и экспрессию цитокинов у крыс с дисбактериозом / Ермоленко Э., Донец В., Сундукова З., Бочкарева А., Борщев И.//
3. Энгевик *Bifidobacterium dentium* укрепляет слой кишечной слизи посредством аутофагии и сигнальных путей кальция / Лук, Б .; Чанг-Граха, Алабама; Холл, А .; Herrmann, B.// *mBio* 2019 , 10 , e01087-19.
4. Линг Х. Защитные эффекты бифидобактерий на функцию кишечного барьера при LPS-индуцированном повреждении барьера энтероцитов монослоев Caco-2 и в модели NEC крысы / Linglong, P.; Weixia, D .; Hong, W. // . *PLoS ONE* 2016, 11
5. Lallès JP Взаимодействие микробиоты-хозяина на уровне эпителия кишечника, здоровья и питания / *J. Anim // Sci. Biotechnol.* 2016, 8 , 7–66.
6. Hidalgo-Cantabrana C. Бифидобактерии и их полезные для здоровья эффекты / Delgado, S., Ruiz, L. Ruas-Madiedo P., Sánchez, B., Марголлес, А., // *Microbiol. Спектр.* 2017, - С. 5 .

УДК 616.728.3-007.248-09