

Федеральное государственное бюджетное образовательное
Учреждение высшего образования
«Курский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Агейченко Алина Владимировна

**СОСТОЯНИЕ МИКРОБИОЦЕНОЗА ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА,
ЛИПИДНОГО СОСТАВА КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН И
АНТИОКСИДАНТНОГО СТАТУСА ЖИВОТНЫХ ПРИ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ДИСБИОЗЕ**

03.02.03 – микробиология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор биологических наук,
доцент Медведева О.А.

Научный консультант:

доктор биологических наук,
доцент Королев В.А.

Курск – 2016

СОДЕРЖАНИЕ

Список сокращений.....	5
Введение.....	6
Глава 1. Обзор литературы.....	15
1.1 Нормофлора толстого кишечника и ее значение для макроорганизма....	15
1.2 Дисбиоз толстого кишечника и принципы его коррекции.....	18
1.3 Структура и свойства биологических мембран.....	24
1.4 Процессы перекисного окисления липидов.....	30
1.5 Система антиоксидантной защиты организма и антиоксидантная терапия.....	33
Глава 2. Материалы и методы исследования.....	40
2.1 Методика формирования экспериментального лекарственного дисбиоза	40
2.2 Количественное и качественное исследование мукозной микрофлоры толстого кишечника.....	40
2.3 Определение продуктов ПОЛ и ферментов АОЗ макроорганизма.....	41
2.4 Количественное и качественное определение липидных фракций мембран эритроцитов.....	43
2.5 Изучение эффективности профилактического и лечебного использования антиоксиданта и пробиотиков при экспериментальном лекарственном дисбиозе.....	45
2.6 Статистическая обработка полученных данных.....	46
Результаты собственных исследований.....	48
Глава 3. Состояние пристеночной микрофлоры толстого кишечника и молекулярно-биохимических показателей крови и колоноцитов мышей в условиях экспериментального дисбиоза.....	48
3.1 Состояние пристеночной микрофлоры толстого кишечника мышей в условиях экспериментального дисбиоза.....	48

3.2 Изменение молекулярно-биохимических показателей крови и колоноцитов мышей в условиях экспериментального дисбиоза.....	51
Глава 4. Особенности изменения пристеночной микрофлоры толстого кишечника и молекулярно-биохимических показателей крови и колоноцитов мышей при коррекции экспериментального дисбиоза пробиотиками «РиоФлораИммуно Нео» и «Бифиформ».....	59
4.1 Изменения состояния пристеночной микрофлоры толстого кишечника при коррекции экспериментального дисбиоза пробиотиками «РиоФлора Иммуно Нео» и «Бифиформ».....	59
4.2 Изменение молекулярно-биохимических показателей крови и колоноцитов при коррекции экспериментального дисбиоза пробиотиками «РиоФлора Иммуно Нео» и «Бифиформ».....	63
Глава 5. Особенности изменения молекулярно-биохимических показателей крови и ткани толстого кишечника мышей при применении антиоксиданта эмоксипина.....	68
5.1 Изменения состояния пристеночной микрофлоры толстого кишечника и молекулярно-биохимических показателей крови и колоноцитов мышей в условиях профилактического использования антиоксиданта эмоксипина...	69
5.2 Изменения состояния пристеночной микрофлоры толстого кишечника и молекулярно-биохимических показателей крови и колоноцитов мышей в условиях коррекции антиоксидантом эмоксипином	73
Глава 6. Особенности изменения пристеночной микрофлоры толстого кишечника, молекулярно-биохимических показателей крови и колоноцитов мышей при коррекции экспериментального дисбиоза пробиотиком «РиоФлора Иммуно Нео» и антиоксидантом эмоксипином.....	79
6.1 Изменения пристеночной микрофлоры толстого кишечника мышей при коррекции экспериментального дисбиоза пробиотиком «РиоФлора Иммуно Нео» и антиоксидантом эмоксипином.....	79

6.2 Изменение молекулярно-биохимических показателей крови и колоноцитов мышечной ткани при коррекции экспериментального дисбиоза пробиотиком «РиоФлора Иммуно Нео» и антиоксидантом эмоксипином...81	
Заключение.....	86
Выводы.....	94
Практические рекомендации.....	95
Перспективы дальнейшей разработки темы.....	95
Список литературы.....	96

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АГП – ацилгидроперекиси
АОЗ – антиоксидантная защита
АОС – антиоксидантная система
АФК – активные формы кислорода
ДГ – диацилглицеролы
КЛ – кардиолипид
КОЕ – колониеобразующая единица
ЛФХ – лизофосфатидилхолин
МГ – моноацилглицеролы
МДА – малоновый диальдегид
ПОЛ – перекисное окисление липидов
СЖК – свободные жирные кислоты
СМ – сфингомиелин
СОД – супероксиддисмутаза
ТГ – триацилглицеролы
УПМ – условно-патогенные микроорганизмы
ФИ/ФС – фосфатидилинозитол/серин
ФХ – фосфатидилхолин
ФЭ – фосфатидилэтаноламин
ХС – холестерол
ЭД – экспериментальный дисбиоз
ЭХС – эфиры холестерина

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности

Кишечник человека представляет собой экологическую систему, для которой характерно наличие сложного динамического равновесия между системами, обеспечивающими гомеостаз макроорганизма и микробными ассоциациями, заселяющими его различные биотопы [10, 95].

Нормофлора человека выполняет различные жизненно важные функции, в том числе обеспечивает процессы переваривания и всасывания, синтез витаминов, аминокислот, ферментов, оказывает подавляющее действие на патогенную микрофлору, обеспечивает иммунорегулирующую функцию и антиинфекционную защиту, принимает участие в синтезе иммуноглобулинов и в морфогенезе иммунной системы [141, 142, 159]. Микрофлора толстого кишечника считается биогенным фактором, в значительной степени определяющим состояние организма [107, 156].

В норме представители кишечной микрофлоры не оказывают отрицательного влияния на макроорганизм, однако нарушение качественного и/или количественного состава нормофлоры, называемое дисбиозом, может приводить к заболеваниям органов пищеварения, иммунной системы, системы кроветворения, развитию анемии, ферментопатии, гипертрофии [127]. Нарушение состава микробиоценоза приводит к снижению резистентности организма человека кишечным инфекциям [100].

Причинами изменений качественного и количественного состава кишечной микрофлоры являются воздействие на организм различных факторов экзогенного и эндогенного характера (возраста, образа жизни, сезона года, характера питания, в том числе и продолжительный неконтролируемый приём антибиотиков широкого спектра действия) [44, 94, 178].

Патологические изменения, развивающиеся при воздействии ксенобиотиков (в том числе антибактериальных препаратов широкого спектра действия) на организм, могут рассматриваться как проявление дезорганизации его

функционального и структурного состояния, необходимого для нормальной жизнедеятельности. Это в свою очередь может приводить к выраженным нарушениям липидного состава клеточных мембран форменных элементов крови, которые заключаются в изменении соотношения липидных фракций [59, 88, 135]. Структурные перераспределения, приводящие к утрате асимметрии мембранных липидов клетками, в значительной степени могут сказаться на нарушении функций биомембраны, ее вязкоэластических свойств, проницаемости, что влечет за собой снижение стабильности мембран клеток крови и может способствовать нарушению окислительно-восстановительных процессов в организме, развитию гипоксии [28, 56].

Воздействие антибиотиков на организм человека является одним из провоцирующих факторов образования свободных радикалов – активных частиц с неразделенной химической связью, которые вступают в реакции с различными молекулами организма и повреждают их. Некоторая их часть поступает извне, другая часть образуется в результате химических процессов, протекающих в клетках, что в свою очередь приводит к накоплению продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ). При липопероксидации в клетках интенсифицируются патологические процессы, приводящие к повреждению мембран, инаktivации или трансформации активности ферментов, накоплению инертных продуктов полимеризации. Одновременно нарушаются процессы регенерации тканей. Регулятором данных механизмов выступает антиоксидантная система (АОС), которая превращает свободные радикалы в безопасные соединения [50, 60, 80].

Многочисленные клинико-лабораторные исследования, направленные на изучение качественных и количественных изменений состава микробиоценоза толстого кишечника при дисбиозе, позволили выдвинуть концепцию, согласно которой сообщество микроорганизмов в толстом кишечнике человека определяется индивидуальными характеристиками организма, что фактически обуславливает индивидуализацию создания и применения лекарственных и профилактических препаратов для коррекции дисбиотических состояний [62, 199]. В настоящее время для коррекции дисбиоза используются препараты,

которые можно подразделить на три группы: пребиотики, пробиотики и синбиотики [20].

Однако эффективность применения препаратов антиоксидантного ряда для коррекции нарушений молекулярно-биохимических показателей плазмы крови и колоноцитов при дисбиозе, до сих пор не изучена.

Цель исследования

Целью исследования явилось изучение взаимосвязи изменений состава микробиоценоза толстого кишечника животных и молекулярно-биохимических показателей крови, колоноцитов в условиях экспериментального лекарственного дисбиоза, возможности их коррекции с использованием пробиотика и антиоксиданта.

Задачи исследования

1. Исследовать качественный и количественный состав микрофлоры муцинового слоя толстого кишечника мышей в условиях экспериментального дисбиоза, обусловленного введением гентамицина.

2. Исследовать в условиях экспериментального дисбиоза количественный и качественный липидный состав мембран эритроцитов животных.

3. Изучить в условиях экспериментального дисбиоза прооксидантно-антиоксидантный баланс плазмы крови и колоноцитов экспериментальных животных.

4. Оценить в эксперименте эффективность применения пробиотиков «РиоФлора Иммуно Нео» и «Бифиформ» для восстановления количественного и качественного состава микробиоценоза муцинового слоя микробиоценоза толстого кишечника и молекулярно-биохимических показателей крови и колоноцитов мышей при воздействии гентамицина.

5. Оценить влияние антиоксиданта эмоксипина на количественный и качественный состав микробиоценоза муцинового слоя толстого кишечника и молекулярно-биохимические показатели крови и колоноцитов мышей в условиях гентамицинового дисбиоза.

6. Изучить возможность сочетанного использования пробиотика и антиоксиданта для коррекции количественных и качественных нарушений в составе микробиоценоза толстого кишечника и метаболических изменений крови и колоноцитах экспериментальных животных, вызванных воздействием ксенобиотика.

Научная новизна работы

Впервые изучена взаимосвязь между изменениями качественного и количественного состава микробиоценоза толстого кишечника и интенсивностью процессов перекисного окисления липидов, функциональной активностью системы антиоксидантной защиты макроорганизма при воздействии гентамицина.

Впервые изучено взаимовлияние между диверсификацией состава муцинового слоя толстого кишечника и количественной представительностью фракций нейтральных и фосфолипидов клеточных мембран эритроцитов животных в условиях гентамицинового дисбиоза.

В условиях эксперимента обоснованы пути коррекции дисбиоза толстого кишечника и нарушений молекулярно-биохимических показателей крови и колоноцитов пробиотиком «РиоФлора Иммуно Нео» и метаболическим антиоксидантом эмоксипином.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные результаты способствуют расширению существующих представлений о молекулярно-клеточных механизмах развития антибиотико-ассоциированного дисбиоза толстого кишечника. Экспериментальные данные свидетельствуют о взаимосвязях между изменениями качественного и количественного состава микробиоценоза муцинового слоя толстого кишечника, нарушениями скоординированной работы ферментативной системы, обеспечивающей антиоксидантную защиту макроорганизма и изменением химического состава клеток макроорганизма (липидного состава мембран эритроцитов) при воздействии антибиотика гентамицина.

Полученные данные представляют значительный интерес и могут использоваться в практике, терапевтов, гастроэнтерологов, инфекционистов при

выборе стратегии и тактики применения антибиотиков, а также профилактики и избирательной коррекции негативных последствий применения антибиотиков.

Результаты работы могут быть в дальнейшем использованы при изучении курсов микробиологии, биохимии, фармакологии, патофизиологии, где изучаются механизмы обеспечивающие сохранение гомеостаза макроорганизма.

Положения, выносимые на защиту

1. Применение ксенобиотика гентамицина приводит к изменению качественного и количественного состава муцинового микробиоценоза толстого кишечника, липидного состава мембран эритроцитов и снижению активности антиоксидантных ферментов, накоплению продуктов перекисного окисления липидов в плазме крови и колоноцитах экспериментальных животных.

2. Использование антиоксиданта эмоксипина при коррекции дисбиоза стабилизирует молекулярно-биохимические показатели крови и колоноцитов.

3. Сочетанное использование пробиотика «РиоФлора Иммуно Нео» и антиоксиданта эмоксипина эффективно корригирует гентамициновый дисбиоз за счет восстановления состава мукозной микрофлоры толстого кишечника и нормализации процессов перекисного окисления липидов в плазме крови и колоноцитах.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения соответствуют формуле специальности 03.02.03 – «микробиология». Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно – пунктам 2, 6, 8.

Личный вклад автора

Автором определено направление исследования. Проведены экспериментальные серии моделирования дисбиоза и его коррекции у животных, выполнен забой животных, забор материала, изучение качественного и количественного состава микробиоценоза муцинового слоя толстого кишечника мышей, исследование молекулярно-биохимических показателей крови и колоноцитов. Выполнены статистическая обработка, анализ и трактовка

полученных результатов, сформулированы выводы и практические рекомендации. Личный вклад автора составляет 80-85%.

Внедрения результатов исследования

Основные положения и выводы внедрены в учебный процесс кафедры иммунологии и специализированных клинических дисциплин медицинского института ФГБОУ ВПО «Орловский государственный университет»; кафедры медико-профилактических дисциплин медицинского института ФГАОУ «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»; кафедры биохимии ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет; используются в научно-исследовательской работе ФКП «Курская биофабрика».

Степень достоверности и апробация результатов

Научные положения и выводы, сформулированные в диссертации, логически вытекают из результатов проведенных исследований и не противоречат классическим положениям микробиологии. В работе использован широкий набор современных и адекватных задачам диссертационного исследования методов, прежде всего бактериологических, микроскопических, статистических. Диссертация апробирована на совместном заседании кафедр: микробиологии, вирусологии, иммунологии, биологии, медицинской генетики и экологии, биологической химии, патофизиологии ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол №19 от 01 июля 2015 г.).

Материалы диссертационного исследования представлены на Всероссийской научно-практической конференции по трансляционной медицине «Микробиология – практическому здравоохранению», посвященной 70-ию кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии Московского Государственного Медико-стоматологического Университета им. А.И. Евдокимова (Москва, 2013); 79-й Всероссийской научной конференции студентов и молодых учёных с международным участием «Молодёжная наука и современность», посвящённой 79-летию КГМУ (Курск, 2014); III Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные

проблемы медицины и фармации» (Орел, 2014); IX Международной научно-практической конференции молодых ученых-медиков, организуемой Воронежским, Курским и Казанским медицинскими образовательными учреждениями, посвященной 95-летию Казанской государственной медицинской академии (Казань, 2015); Международной научно-практической конференции «Университетская наука: взгляд в будущее», посвященной 81-летию Курского государственного медицинского университета и 50-летию фармацевтического факультета в рамках Недели международной медицинской науки (Курск, 2016).

Публикации

Результаты настоящей диссертации изложены в 21 публикации в научных журналах и сборниках (материалах) конференций, из них 7 – в ведущих российских рецензируемых журналах, входящих в Перечень Высшей аттестационной комиссии при Министерстве образования и науки Российской Федерации («Кубанский научный медицинский вестник», «Ученые записки Орловского государственного университета», «Вестник Башкирского государственного медицинского университета», «Журнал микробиологии, эпидемиологии, иммунобиологии», «Научные ведомости Белгородского государственного университета. Медицина. Фармация.», Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»).

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, четырех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, библиографического списка, включающего 154 отечественных и 45 зарубежных источника. Текст диссертации изложен на 115 страницах машинописного текста, содержит 31 таблицу.

ГЛАВА 1

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Нормофлора толстого кишечника и ее значение для макроорганизма

Нормальная микрофлора организма человека – это открытый биоценоз микроорганизмов, встречающийся у здоровых людей. Микробные популяции различных биотопов в норме выступают в роли симбионтов или сапрофитов, находясь в экологическом равновесии с организмом хозяина. Их взаимное влияние определяется механическими (муциновый слой, гликокаликс, активность ресничек эпителия, перистальтика), биохимическими (уровень рН, парциальное давление кислорода, редокс-потенциал, ферменты, пептиды, жирные кислоты, газы), микробиологическими (качественный и количественный состав микроорганизмов), иммунологическими (активность иммунной системы, связанная со слизистыми оболочками) факторами [100, 114, 142, 156, 159].

Микробиоценозы различных полостей и тканей организма человека включают в себя большое многообразие микроорганизмов, но самое многочисленное их сообщество обнаруживается в толстом кишечнике. В течение суток в организм человека может попадать до 1 млрд. микробов, так как слизистая желудочно-кишечного тракта находится в постоянном контакте с окружающей средой[6, 23].

В настоящее время не существует единой классификации нормальной микрофлоры кишечника. Большая часть исследователей подразделяет кишечную микрофлору на основную (индигенную, резидентную, главную, облигатную), составляющую 90% всей флоры, факультативную (сопровождающую, транзиторную, временную), на долю которой приходится около 10% и остаточную (около 1% всей флоры). Облигатная микрофлора у всех здоровых людей состоит, как правило, из одних и тех же видов, которые постоянно обитают в кишечнике, приспособившись к существующим там условиям и выполняя ведущие биологические функции, полезные для макроорганизма. Транзиторная микрофлора подразделяется на сапрофитную и условно-патогенную. Еввидовой

состав достаточно лабилен, некоторые представители могут обнаруживаться в кишечнике относительно чаще, другие появляются периодически и не проявляют себя с отрицательной стороны [15, 122, 130, 161].

Микрофлора кишечника подразделяется на пристеночную (мукозную) и микрофлору содержимого (просветную). Пристеночная микрофлора, связанная с эпителием кишечника, играет, несомненно, большую роль для организма человека, чем микрофлора содержимого. Для здорового человека характерен определенный собственный тип мукозной микрофлоры кишечника [61, 71, 111].

В таблице 1 представлен состав микрофлоры толстого кишечника, согласно нормативам, которые легли в основу ОСТа 91500.11.0004-2003 «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника».

Таблица 1 – Качественный и количественный состав основной микрофлоры толстого кишечника у здоровых людей (КОЕ/г фекалий). ОСТ 91 500.11.0004-2003

Виды микроорганизмов	Возраст менее 1 года	Возраст 1-60 лет	Возраст 60 лет
Бифидобактерии	$10^{10}-10^{11}$	10^9-10^{10}	10^8-10^9
Лактобактерии	10^6-10^7	10^7-10^8	10^6-10^7
Бактероиды	10^7-10^8	10^9-10^{10}	$10^{10}-10^{11}$
Энтерококки	10^5-10^7	10^5-10^8	10^6-10^7
Фузобактерии	$<10^6$	10^8-10^9	10^8-10^9
Эубактерии	10^6-10^7	10^9-10^{10}	10^9-10^{10}
Пептострептококки	$<10^5$	10^9-10^{10}	$\leq 10^{10}$
Клостридии	$\leq 10^3$	$\leq 10^5$	$\leq 10^6$
E.coli типичные	10^7-10^8	10^7-10^8	10^7-10^8
E.coli лактозонегативные	$<10^5$	$<10^5$	$<10^5$
E.coli гемолитические	0	0	0
Другие условно-патогенные энтеробактерии*	$<10^4$	$<10^4$	$<10^4$
Стафилококк золотистый	0	0	0
Стафилококк (сапрофитный, эпидермальный)	$\leq 10^4$	$\leq 10^4$	$\leq 10^4$
Дрожжеподобные грибы рода Candida	$\leq 10^3$	$\leq 10^4$	$\leq 10^4$
Неферментирующие бактерии**	$\leq 10^3$	$\leq 10^4$	$\leq 10^4$

Примечание: * - представители родов Klebsiella, Enterobacter, Hafnia, Serratia, Proteus, Morganella, Providencia, Citrobacter и др.; ** - Pseudomonas, Acinetobacter и др.

Широкое распространение получила работа отечественного микробиолога С. Митрохина, где он представил среднее количество основных представителей микробиоценоза толстой кишки практически здоровых людей (таблица 2).

Таблица 2 – Частота выделения и среднее количество основных представителей микробиоценоза толстой кишки в 1г фекалий практически здоровых людей

Микроорганизмы	Частота обнаружения, М±m, %	Среднее содержание в 1 г кала, М±m, lg
Бифидобактерии	98,0±1,0	9,6±0,6
Бактероиды	90,0±3,0	9,2±0,5
Лактобациллы	96,0±1,0	6,9±0,3
Эшерихии	100,0	7,7±0,3
из них: лактозоотрицательные гемолитические	50,0±4,0 0	6,5±0,4 0
Протеи	2,0±0,5	3,4±0,2
Другие цитратассимилирующие энтеробактерии	3,0±0,5	4,3±0,3
Неферментирующие бактерии	2,0±0,5	3,9±0,4
из них: синегнойная палочка	0	0
Энтерококки	80,2±2,0	5,6±0,5
из них: гемолитические	0	0
Стафилококки	15,0±3,0	3,2±0,3
из них: коагулазоположительные	0	0
Пептострептококки	55,0±5,0	6,4±0,6
Вейлонеллы	23,0±3,0	4,7±0,7
Клостридии	60,0±4,0	4,8±0,4
Дрожжеподобные грибы	10,0±2,0	2,5±0,5
из них: <i>Candida albicans</i>	0	0

Сравнивая количественные и качественные показатели таблиц 1 и 2, следует обратить внимание на некоторые детали. Например, С. Митрохин выделил синегнойную палочку (*P. aeruginosa*) как самостоятельный представитель группы неферментирующих бактерий, а также выделил из группы дрожжеподобных грибов грибы рода *Candida* и определил их количественный показатель – среднее содержание в 1 г кала [43].

Основное и доминирующее место в кишечной микрофлоре человека занимают бифидобактерии и лактобактерии, которые составляют наибольшую часть микробной массы желудочно-кишечного тракта на протяжении всей жизни. Они образуют основу микрофлоры, потому что надежно прикрепляются к

слизистой оболочке кишечника и обладая антагонистической активностью определяют основные ниши сосуществования для других микроорганизмов. Оба вида бактерий продуцируют молочную кислоту и тем самым определяют уровень кислотности в кишечнике. Кроме того, они продуцируют большое количество кислых продуктов, лизоцим, бактериоцины, спирты, которые обладают антимикробным действием против потенциально патогенных штаммов кишечной микрофлоры [26, 53].

Бифидобактерии препятствуют проникновению микробов в верхние отделы желудочно-кишечного тракта и другие внутренние органы, принимают участие в минеральном обмене, усилении процессов всасывания в стенке кишечника ионов кальция, железа, витамина D за счет продукции молочной и уксусной кислот, продукции муравьиной и янтарной кислот, синтеза аминокислот, белков, витаминов группы B (B_1 , B_2 , B_6 , B_{12}), K, никотиновой, пантотеновой, фолиевой кислот, которые всасываются в кишечнике. Бифидобактерии улучшают процессы гидролиза и всасывания липидов, белков, углеводов, укрепляют барьерную функцию слизистой оболочки кишечника, обладают антианемическим, антирахитическим, антиаллергическим, антихолестеринемическим действием [39, 49].

Лактобактерии обладают антибактериальной активностью, которая связана с выработкой ими в процессе сбраживания углеводов молочной кислоты, спирта, лизоцима, реутерина, плантарицина, лактоцидина и лактолина; индуцируют синтез интерферона и противовоспалительных интерлейкинов, способствуют образованию специфических антител, воздействуют на специфический и неспецифический иммунитет, стимулируя синтез иммуноглобулина A совместно с γ -интерфероном. Лактобактерии играют значительную роль в метаболизме белков, жиров, углеводов, нуклеиновых кислот, желчных кислот, холестерина, гормонов, оксалатов, способны деградировать отдельные токсины, канцерогены, аллергены, препятствовать всасыванию токсичных продуктов метаболизма, в первую очередь аммиака и отдельных аминов [31, 38, 102].

Среди аэробных микроорганизмов важнейшая роль в микробном биоценозе кишечника принадлежит кишечной палочке. *E. coli* вырабатывает витамины (тиамин, рибофлавин, пиридоксин, биотин, никотиновую, фолиевую, пантотеновую кислоты), участвует в обмене холестерина, билирубина, холина, желчных и жирных кислот и опосредованно влияет на всасывание железа и кальция [164].

Факультативная микрофлора кишечника в основном представлена бактероидами, пептококками, стафилококками, стрептококками, дрожжеподобными грибами. Бактероиды принимают участие в пищеварении, расщепляют желчные кислоты, участвуют в процессах липидного обмена. Пептострептококки участвуют в протеолизе молочных белков, ферментации углеводов. Энтерококки осуществляют метаболизм бродильного типа, сбраживают разнообразные углеводы с образованием в основном молочной кислоты, но не газа, в некоторых случаях восстанавливают нитрат, обычно сбраживают лактозу [27, 32]. Пептококки метаболизируют пептон и аминокислоты с образованием жирных кислот, вырабатывают сероводород, уксусную, молочную, лимонную, изовалериановую и другие кислоты. Стафилококки – негемолитические (эпидермальные, сапрофитические) входят в группу сапрофитной микрофлоры, попадающей в организм из объектов окружающей среды. Непатогенные кишечные стрептококки обладают антагонистической активностью по отношению к болезнетворным микроорганизмам, образуют в основном лактат, но не газ. Некоторые дрожжеподобные грибы относят к сапрофитной микрофлоре. Дрожжеподобные грибы рода *Candida*, чаще всего *C. albicans* и *C. stellatoidea*, являются условно-патогенными микроорганизмами, они могут встречаться во всех полостных органах пищеварительной системы и вульвовагинальной области [133, 165].

Условно-патогенные энтеробактерии включают представителей семейства *Enterobacteriaceae* (кишечных бактерий): клебсиеллы, протеи, цитробактеры, энтеробактеры, серрации, фузобактерии и др., которые чаще всего выявляются как транзитная микрофлора [187].

Нормальная микрофлора кишечника оказывает многостороннее положительное влияние на организм человека. Прежде всего, это обеспечение колонизационной резистентности, обеспечивающей предотвращение заселения организма хозяина патогенными либо условно-патогенными микроорганизмами, усиление фагоцитарной активности макрофагов, моноцитов и гранулоцитов, стимуляция пролиферации плазматических клеток, увеличение синтеза IgA, цитокинов и клеточных иммунных механизмов защиты, синтеза иммуноглобулинов, интерферона. Кишечная микрофлора участвует в расщеплении непереваренных азотсодержащих соединений, в гидролизе клетчатки, продуктов метаболизма белков, липидов, углеводов, крахмала, деконъюгации желчных кислот, синтезирует некоторые незаменимые аминокислоты. Под влиянием нормофлоры усиливается активность ферментов, пищеварительной и моторной функции желудочно-кишечного тракта. Микрофлора кишечника продуцирует витамины: К, В₁₂, В₉(фолиевая кислота), В₂(рибофлавин), В₅(пантотеновая кислота), С, синтезирует аминокислоты, летучие жирные кислоты, гормоны, антибиотические вещества, биоактивные амины и другие биологически активные вещества. Нормальная микрофлора кишечника защищает организм от токсического воздействия экзогенных и эндогенных субстратов или метаболитов. Бактерии кишечника улучшают всасывание железа, кальция, витамина D. Изменение микрофлоры ведет к нарушению синтеза короткоцепочечных жирных кислот, что препятствует канцерогенезу [34, 114, 122, 155, 158].

1.2 Дисбиоз толстого кишечника и принципы его коррекции

Состав микробной популяции толстого кишечника неодинаков у разных людей и может изменяться у одного и того же индивидуума на протяжении всей его жизни. Различные воздействия на макроорганизм экзогенных и эндогенных факторов могут приводить к количественным и/или качественным изменениям микробиоценоза толстого кишечника [11, 154, 173]. Нарушение микроэкологии пищеварительного тракта, чаще обозначаемого в отечественной

литературе как дисбиоз, представляет собой состояние микробиоты, при котором происходят нарушения функционирования ее составных частей и механизмов их взаимодействия. Однако, учитывая адаптационные возможности микрофлоры, эти изменения могут быть непродолжительными и не обнаруживаются после устранения провоцирующего фактора [71, 199].

В современной медицине введено понятие об «избыточном бактериальном росте в кишечнике» («bacterial overgrowth») – состоянии, обусловленном нарушением качественного и количественного состава микробного биоценоза кишечника, размножением условно патогенных бактерий в количестве, не свойственном здоровому человеку. Важно, что избыточный бактериальный рост в кишечнике и связанные с ним клинические проявления представляют собой не самостоятельную нозологическую форму, а синдром [143, 145, 162, 177].

Согласно предложенному отраслевому стандарту, под дисбиозом кишечника понимают клинико-лабораторный синдром, возникающий при ряде заболеваний и клинических ситуаций и характеризующийся признаками поражения кишечника; изменением качественного и/или количественного состава нормальной микрофлоры; транслокацией различных видов микрофлоры в несвойственные ей биотопы; избыточным ростом микрофлоры [44, 112, 116].

То есть, в основе изменения качественного и количественного состава микробиоценоза лежит нарушение равновесия между размножающейся, колонизирующей желудочно-кишечный тракт условно-патогенной микрофлорой и защитными факторами организма хозяина, включающими симбионтную микрофлору, которая препятствует этому процессу [94, 138 176].

Микроэкологические нарушения биотопов организма человека формируются под воздействием самых различных факторов и в том числе в воздействии физических, химических и биологических ксенобиотиков. Особое место в ряду ксенобиотиков занимают антимикробные препараты. Детально изучены и описаны механизмы и мишени их негативного влияния на микроорганизмы. Поскольку и болезнетворные и полезные микроорганизмы одинаковы по структуре, воздействие, которое оказывают антибиотики на

микроорганизмы будет губительным как для патогенной, так и для нормофлоры макроорганизма. Установлено, что бифидобактерии, лактобактерии обладают высокой чувствительностью к пенициллинам. Кроме того, длительная антибиотикотерапия вызывает селекцию в кишечнике антибиотикоустойчивых условно-патогенных и патогенных микроорганизмов. Даже оправданное применение антибиотиков может вызвать антибиотико-ассоциированный дисбиоз, крайне тяжелой формой которого является псевдомембранозный колит. При хронических воспалительных заболеваниях практически всегда выявляют дисбиоз различной степени выраженности, который, возникая на фоне заболевания, усугубляет его течение [52, 65, 111, 132, 166, 172].

Основными микробиологическими критериями дисбактериоза кишечника являются: нарастание количества условно-патогенных микроорганизмов одного или нескольких видов при нормальном количестве бифидобактерий; увеличение одного или нескольких видов условно-патогенных микроорганизмов при умеренном (на 1-2 порядка) снижении уровня бифидобактерий; уменьшение содержания бифидо- или лактобактерий при отсутствии увеличения условно-патогенных микроорганизмов и сапрофитов; снижение уровня бифидофлоры в сочетании с выраженными изменениями в аэробной микрофлоре; снижение уровня типичных *E.coli* [42, 174, 197].

Ведущая роль в формировании микрoэкологических нарушений принадлежит преимущественно нарушению популяционного уровня бифидобактерий и лактобактерий, что проявляется их резким снижением, часто вплоть до полного исчезновения. Уменьшение численности бифидо- и лактобактерий приводит к сдвигу рН среды в кишечнике в щелочную сторону и снижению ферментативной активности симбионтных микроорганизмов, изменяется колонизационная резистентность кишечника. На ряду с этим отмечается выраженное увеличение числа условно-патогенных микроорганизмов, которые становятся доминирующими в микрофлоре кишечника. Токсические продукты жизнедеятельности условно-патогенных бактерий нарушают дезинтоксикационную способность печени, изменяют проницаемость кишечной

стенки, процессы регенерации энтеро- и колоноцитов, тормозят перистальтику [21, 107, 185].

Нарушения микробиоценоза толстого кишечника могут являться предвестниками изменений физиологического статуса организма, связанных с угнетением иммунобиологической защиты организма, его аллергизацией, хронической интоксикацией, повышением восприимчивости к инфекционным заболеваниям. При длительно существующем дисбалансе кишечной микрофлоры развиваются изменения слизистой оболочки, липопротеинов межклеточных мембран эпителиоцитов, образуются тканевые антигены [34, 169, 171].

Таким образом, коррекция дисбиотических нарушений, возникающих при воздействии различных ксенобиотиков на макроорганизм, является необходимым компонентом лечебных мероприятий. Коррекцию дисбиоза всегда следует начинать с диагностики и лечения основного заболевания. Терапия, направленная непосредственно на восстановление и коррекцию дисбиотических изменений, будет зависеть от степени, локализации дисбиоза в тонкой или толстой кишке и выраженности клинических проявлений [18, 179]. В настоящее время препараты, применяемые для восстановления качественного и количественного состава микробиоценоза кишечника подразделяют на пробиотики (монокомпонентные, симбиотики и пробиотические комплексы) пребиотики и синбиотики [20, 97, 170, 190].

Применение пробиотиков и пребиотиков приводит к одному и тому же результату – увеличению числа бактерий, естественных обитателей кишечника [63, 181, 188, 195]. Пробиотики (эубиотики) – живые микроорганизмы, которые при попадании в желудочно-кишечный тракт человека в достаточном количестве, сохраняют свою активность, жизнеспособность и оказывают положительное влияние на здоровье человека. Препараты-пробиотики не считаются лекарственными и рассматриваются как средства, полезно влияющие на пищеварение. Микроорганизмы, входящие в состав пробиотиков не патогенны, не токсичны, содержатся в достаточном количестве, сохраняют жизнеспособность при прохождении через желудочно-кишечный тракт и при хранении. Препараты

на основе этих микроорганизмов широко используются в качестве питательных добавок, а также в йогуртах и других молочных продуктах. К монокомпонентным пробиотикам относят: Ацилакт, Бактиспорин, Бактисубтил, Биобактон, Биовестин, Биоспорин, Бифидумбактерин, Бифинорм, Колибактерин, Лактобактерин, Наринэ, Примадофилус, Пробиформ, Регулин, Рела Лайф, Споробактерин, Флонивин БС, Эуфлорин-Л, Эуфлорин-В, Эффицижест. К пробиотикам, содержащим в своем составе несколько видов полезных бактерий (симбиотикам), относятся следующие препараты: РиоФлора Иммуно Нео, Ацидобак, Аципол, Бактериобаланс, Биовестин-Лакто, Бифидин, Бифидобак, Бифидобактерин-Мульти, Бифидум-БАГ, Бификол, Бифилонг, Бифиформ, Линекс, Примадофилус Бифидус, Протозаймс, Симбиолакт, Трилакт, Флорин форте, Энтерол. К препаратам, содержащим пробиотики и сорбенты одновременно (пробиотические комплексы), относятся следующие: Бифидумбактерин-форте, Бификол форте, Пробиофор, Экофлор. Продолжительность курса использования пробиотиков обычно составляет от 2 недель до 1–2 месяцев [81, 89, 96, 150, 167, 168, 175].

К пребиотикам относятся неперевариваемые ингредиенты пищи, которые за счет избирательной стимуляции роста и/или метаболической активности одной или нескольких групп бактерий, обитающих в толстой кишке, способствуют улучшению пищеварения. Чтобы компонент пищи был классифицирован как пребиотик, он не должен подвергаться гидролизу пищеварительными ферментами человека, не должен абсорбироваться в верхних отделах пищеварительного тракта, однако должен являться селективным субстратом для роста и/или метаболической активации одного вида или определенной группы микроорганизмов, заселяющих толстый кишечник, приводя к нормализации их соотношения [180, 186]. Ингредиенты питания, которые отвечают этим требованиям, являются низкомолекулярными углеводами. Свойства пребиотиков наиболее выражены во фруктозо-олигосахаридах, инулине, галакто-олигосахаридах, лактулозе, лактитоле. Пребиотики находятся в молочных продуктах, кукурузных хлопьях, крупах, хлебе, луке репчатом, цикории полевом,

чесноке, фасоли, горохе, артишоке, аспарагусе, бананах и многих других продуктах [7, 63].

Синбиотики – это препараты, полученные в результате рациональной комбинации пробиотиков и пребиотиков, что повышает их эффективность. Это новое поколение бактериальных препаратов комплексного действия, содержащих лактулозу, витамины, сорбенты, антиоксиданты, жирные кислоты, иммуностимуляторы. Такой комплекс повышает резистентность пробиотиков в течение транспортировки в кишечник и избирательно стимулирует рост и активирует метаболизм индигенной микрофлоры, что обеспечивает высокую стабильность микроорганизмов. К синбиотикам относят: Альгибиф, Альгилак, Бион – 3, Биофлор, Бифилар, Бифилиз, Бифистим, Кальсис, Кипацид, Максилак, Нормобакт, Сеньор, Эвиталия, Эубикор [186, 194].

Для коррекции дисбиотических нарушений в нашем исследовании были использованы препараты из группы пробиотиков «РиоФлора Иммуно Нео» и «Бифиформ».

Комплексный препарат «РиоФлора Иммуно Нео» (Nucomed, Германия) выпускается в капсулах по 400 мг, содержит 9 штаммов пробиотических микроорганизмов: *Bifidobacterium lactis* NIZO 3680, *Bifidobacterium lactis* NIZO 3882, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus salivarius*, *Streptococcus thermophilus*. Рекомендуется в качестве источника пробиотических микроорганизмов, способствует повышению иммунитета, участвуя в повышении уровня иммуноглобулинов и цитокинов.

Штаммы *Enterococcus faecium* и *Bifidobacterium longum*, входящие в состав препарата «Бифиформ» («Ферросан А/С», Дания, капсулы, содержащие по 10 млн. микробных клеток), являются естественными симбиотическими бактериями, населяющими желудочно-кишечный тракт. Препарат оказывает нормализующее действие на количественный и качественный состав микрофлоры кишечника. Его действие обусловлено как непосредственным прямым эффектом входящих в состав препарата компонентов (высокая антагонистическая активность в

отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов), так и опосредованным – стимуляция местного кишечного звена иммунитета (активация синтеза иммуноглобулина А, индукция синтеза эндогенного интерферона)[89].

1.3 Структура и свойства биологических мембран

В связи с тем, что практически любая патология реализуется на клеточном уровне, а мембранное построение является универсальным для всех клеток, то становится понятным, что нарушения в структуре цитоплазматических и внутриклеточных биомембран являются общими патогенетическими элементами любого болезненного процесса [99].

Все клеточные и внутриклеточные биологические мембраны устроены сходным образом, а именно основу составляет двойной молекулярный слой липидов, на котором и в толще которого находятся белки. Липидные бислои образуются амфифильными молекулами фосфолипидов и сфингомиелина в водной фазе. Амфифильные молекулы состоят из двух частей различных по своей растворимости в воде: полярной «головки» и «хвоста». Полярная «головка» обладает высоким сродством к воде, т. е. гидрофильна, а «хвост» образуется неполярными углеводородными цепями жирных кислот и обладает низким сродством к воде, т. е. гидрофобен [84, 87].

Мембране эритроцитов присущи общие принципы молекулярной организации плазматических мембран, поэтому закономерности изменений структуры и функции мембраны эритроцитов с определенной долей коррекции, обусловленной, прежде всего, видовой специфичностью клеток, могут быть экстраполированы на иные мембранные системы [103, 104].

Липиды мембран эритроцитов делятся на 3 класса: нейтральные липиды, гликолипиды и фосфолипиды. Нейтральные липиды составляют до 30% (по массе) от всех липидов, включают глицериды, холестерол (ХС) и эфиры холестерола (ЭХС). Гликолипиды составляют около 10% мембранных липидов и являются гликосфинголипидами. Наиболее широко представлен класс фосфолипидов (около 60%), которые могут быть производными либо

сфингозина, либо глицерина. Их делят на сфинголипиды – сфингомиелин (СМ) и глицерофосфолипиды: фосфатидилхолин (ФХ), фосфатидилэтаноамин (ФЭ), фосфатидилсерин (ФС), фосфатидилинозитол (ФИ), фосфатидная кислота [183, 192].

Наиболее представительными липидами в мембранах эритроцитов у человека в норме являются ЭХС и ХС, которые по массе в совокупности составляют около 45% от всех изучаемых липидов. Значительными по количественному содержанию (около 30%) являются фосфолипиды: ФЭ, ФХ, ФИ/ФС. Менее представленными из группы нейтральных липидов являются триацилглицеролы (ТГ). Наименьшим количественным содержанием отличаются фракции из группы фосфолипидов: лизофосфатидилхолин (ЛФХ) и кардиолипин (КЛ), а среди нейтральных липидов: диацилглицеролы (ДГ), моноацилглицеролы (МГ) и свободные жирные кислоты (СЖК) [160].

В эритроцитарных мембранах рассматриваемые липиды во взаимном варьировании их количественного содержания образуют две взаимокоррелируемые системы, при этом каждая из этих групп по отношению друг к другу характеризуется относительной независимостью. Первую группу липидов образовывали кластеры, включающие в себя все рассматриваемые фракции группы фосфолипидов, за исключением КЛ, который обладал независимым характером вариабельности количественного содержания, и ХС. Это объясняется характером построения липидного матрикса мембраны эритроцитов в процессе эритрогенеза, где пул ХС пассивно встраивается в фосфолипидный комплекс, связываясь с остатками жирных кислот. Вторую группу по сопряженности взаимосвязей составляют фракции, относящиеся к группе нейтральных липидов: ТГ, ДГ, МГ, СЖК и ЭХС, что так же указывает на общность их биосинтеза, а так же метаболическую активность [15, 193].

Являясь важным структурным компонентом эритроцитарной мембраны, липиды регулируют активный и пассивный трансмембранный транспорт веществ, определяют чувствительность клеток к действию лигандов, детерминируют активность мембраносвязанных ферментативных систем [109,

148].Красные кровяные клетки обладают специфической газотранспортирующей функцией, способностью принимать участие в регуляции кислотно-основного состояния, водно-электролитного баланса и микрореологического статуса крови. Эритроциты участвуют в иммунных реакциях, связывании и переносе инфектогенов, лекарственных веществ.[21, 103].

Воздействие на клетки тканей и органов разных повреждающих факторов (токсические соединения, свободные радикалы, продукты липидной пероксидации и т.п.) приводит к интенсификации процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), окислительной модификации белковых молекул, активации эндогенных фосфолипаз и протеаз, снижению активности системы антиоксидантной защиты клетки. Инициация этих механизмов сопровождается неспецифическими изменениями структуры и функции клеточных мембран.Изменения морфологической организации мембран под влиянием повреждающих факторов различной этиологии могут быть причиной нарушения их проницаемости, дыхательной функции, повышения их агрегационной способности. Это в свою очередь, приводит к снижению проницаемости для неэлектролитов, ионов и кислорода, что может способствовать развитию гипоксии и нарушению окислительно-восстановительных процессов в организме [56, 74].

Интенсификация процессов пероксидации липидов, действие мембранных фосфолипаз, механического (осмотического) растяжения мембраны, адсорбции на липидном слое полиэлектролитов, включая некоторые белки и пептиды, сопровождается значительным изменением состава и степени окисленности мембранных фосфолипидов, что способствует снижению активности фосфолипидзависимых энзиматических систем, а в конечном итоге приводит к нарушению целостности липидного бислоя клеточных мембран. Усиление перекисного окисления липидов клеточных мембран приводит к уплотнению либо деструкции липидного бислоя, повышению его микровязкости, сокращению площади белок-липидных контактов, нарушению функциональной активности ферментов, изменению мембранной проницаемости и поверхностного заряда,

нарушению функционального состояния мембрано-рецепторного комплекса. В условиях активного течения свободнорадикальных процессов наиболее резко уменьшается количество фосфолипидов, имеющих в своем составе полиненасыщенные жирные кислоты (ФС, ФИ, ФЭ) [19, 69, 82, 139].

Установлено, что при активации перекисного окисления липидов и нарушении антиоксидантной защиты клеток основными мишенями гидроксильных радикалов служат липиды мембраны и нуклеиновые кислоты. Однако механизм повреждающего действия свободных радикалов в ряде случаев может быть связан и с окислительной модификацией клеточных, в том числе мембранных белков. Дезорганизация липидного матрикса мембраны может быть обусловлена внутриклеточной аккумуляцией ионов кальция, при этом не исключается прямое взаимодействие Ca^{2+} с липидными молекулами. С другой стороны, увеличение концентрации Ca^{2+} приводит к активации Ca^{2+} -зависимой фосфолипазы A_2 , результатом действия которой является накопление в мембранах лизофракций фосфолипидов и свободных жирных кислот. Все это, а также угнетение аминофосфолипидной транслоказы и активирование фосфолипидной скрамблазы, закономерные в условиях накопления в клетке Ca^{2+} , нарушают характерную для нормы трансбислойную асимметрию фосфолипидов, индуцируя, в частности, Ca^{2+} -зависимый переход фосфатидилсерина и фосфатидилэтаноламина во внешний монослой мембраны [118, 120, 182]. В условиях усиления липопероксидации происходит увеличение содержания сфингомиелина в мембранах с уменьшением глутатиона и нарушением уровня Ca^{2+} в клетке. При этом не исключена связь мембранного СМ с плазменным, который имеет свойство конкурентно связываться либо с фосфолипазой A_2 , угнетая ее активность, либо с холестерином, освобождая фермент фосфолипазу A_2 [85]. Мощный биологический активатор – лизофосфатидная кислота, предшественниками которой являются фосфатидная кислота и лизофосфатидилхолин плазматической мембраны, при участии фосфолипазы A_2 влияет на рост клеток, злокачественное перерождение клеток, перемещение холестерина и липопротеидов в атеросклеротических участках. Увеличение или

снижение содержания ХС в плазматической мембране приводит к изменению соотношения в содержании щелочной фосфатазы и фосфатидилхолина, что меняет архитектуру мембраны. Повышенное содержание холестерина в мембранах увеличивает ее жесткость [189, 192].

Воздействия на макроорганизм неблагоприятных факторов различного генеза приводит к сдвигам в показателях красной крови, которые вовлекаются в патологический процесс не только при гематологических заболеваниях, что проявляется в нарушении липидного состава мембран. Снижение потенциала на мембране эритроцита приводит к его деструкции, так как напряженность на мембране падает. Это вызывает нарушение взаимодействия между компонентами мембран эритроцитов (ФЛ, ЭХС, ТГ), усиливая процессы перекисного окисления. Такие эритроциты не способны эффективно выполнять функцию переноса кислорода, в итоге снижается содержание эритроцитов в русле крови. Эти изменения мембран эритроцитов приводят к сдвигам их электрических, вязкоупругих характеристик [148, 163, 191].

Обеднение эритроцитов ФЭ, а также ФХ, формирующим внешнюю оболочку липидного матрикса, является характерным признаком бронхолегочных заболеваний и свидетельствует о дезинтеграции мембранных структур, завершающихся их деструкцией. ФХ – это фосфолипид, который проявляет свойства ингибитора процессов перекисного окисления липидов и его истощение в эритроцитах может приводить к ослаблению антиоксидантной защиты клеточных мембран. Одной из причин снижения содержания фракций ФЭ и ФХ может являться усиление их распада в мембране эритроцитов под действием фосфолипазы А₂ с отщеплением жирных кислот, в частности арахидоновой кислоты. Окислительная деструкция ФХ и ФЭ, связанная с большой ненасыщенностью жирнокислотного состава этих фракций, способствует уменьшению активности противорадикальной системы мембраны и снижению активности мембранно-ассоциированных ферментов. Снижение количества ФХ обусловлено, главным образом, повышенной активностью фосфолипаз и перекисного окисления липидов в мембране эритроцитов. Уровни

сфингомиелина, фосфатидилсерина и фосфатидилинозитола, напротив, увеличиваются в мембранах эритроцитов периферической крови больных бронхиальной астмой [157].

Признаки дезорганизации структуры мембраны эритроцитов были выявлены у пациентов с острой пневмонией. Развитие воспалительного бронхолегочного процесса сопровождалось нарушением состава липидов мембраны эритроцитов (возрастание содержания насыщенных жирных кислот при снижении уровня ненасыщенных во фракциях фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина). Кроме того, неспецифические изменения структурных и функциональных свойств мембраны эритроцитов были выявлены при язвенной болезни желудка, атеросклеротическом поражении артерий конечностей, шизофрении, а также при невротических расстройствах и др. [73, 120, 121].

Неспецифические признаки вовлечения эритроцитарной мембраны в сложный комплекс изменений в организме, сопутствующих развитию опухолевого процесса, обнаружены при обследовании больных со злокачественными опухолями различной локализации (рак легкого, опухоли головы и шеи, рак желудка, толстой и прямой кишки). А именно, происходило повышение уровня холестерина и лизофосфатидилхолина, снижение количества общих липидов и относительного содержания арахидоновой кислоты во фракциях фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина мембраны эритроцитов, что может приводить к увеличению вязкости ее липидного бислоя, нарушению межмолекулярных белок-липидных и липид-липидных взаимодействий [131].

Отчетливые молекулярные нарушения эритроцитарной мембраны выявлены у больных сахарным диабетом. Изменения липидной фазы мембраны красных кровяных клеток характеризовались повышением содержания насыщенных жирных кислот при снижении уровня ненасыщенных компонентов во фракциях фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина, увеличением микровязкости глубоких и модификацией наружных слоев мембраны, а также нарушением белок-липидных взаимодействий [8, 67, 184, 196, 198].

Таким образом, очевидно, что развитие различных по патогенезу патологических процессов и состояний сопровождается молекулярными изменениями плазматических мембран клеток, являющихся как непосредственной мишенью повреждающего действия патогенных факторов, так и вовлеченных в патологический процесс в связи с инициацией универсальных механизмов повреждения клетки (дефицит энергопродукции, интенсификация процессов свободнорадикального окисления, активация фосфолипаз, протеаз, нарушение ионного гомеостаза и др.). Сложность установления причинно-следственных связей между различными параметрами, характеризующими состояние мембран и метаболизм клеток, а также оценки удельного веса отдельных молекулярных механизмов в реализации мембранодеструктивных процессов обусловлены тесной взаимосвязью данных факторов между собой. Однако получение обобщающих положений о базисных механизмах и общих закономерностях реагирования разнообразных клеточных систем при патологии разного генеза не только сулит успех для понимания общебиологических законов развития патологических процессов, но и позволяет по-новому взглянуть на методологию их коррекции [75].

Изложенные данные свидетельствуют о том, что состояние липидных компонентов биомембран тесно взаимосвязано с клеточным метаболизмом, ассоциировано с состоянием плазменных липидов, белков, углеводов, опосредуется развитием типовых процессов дезинтеграции клеточных структур при различных патологических состояниях, формируя тяжесть течения и продолжительность болезни [12, 69].

1.4 Процессы перекисного окисления липидов

Кислород, необходимый организму для протекания реакций, является одновременно и токсическим веществом, если из него образуются так называемые активные формы (свободные радикалы). К числу первичных свободных радикалов (СР) относятся супероксидный анион-радикал, окись азота, авторичными СР являются: гидроксильный радикал, синглетный кислород,

перекись водорода и пероксинитрит. В организме человека постоянно образуются активные формы кислорода (АФК) в результате переноса электронов в митохондриальной дыхательной цепи, в реакциях, которые катализируются оксидазами, и образуется перекись водорода. АФК образуются во многих клетках в результате последовательного одноэлектронного присоединения четырех электронов к одной молекуле кислорода. СР и другие токсические метаболиты совместно с медиаторами воспаления оказывают необратимое повреждающее действие на клетки органов и тканей путем перекисного окисления липидной оболочки клеточной мембраны, органелл, денатурации энзимов, структурных белков, ядра и полисахаридного комплекса интерстиция базальной мембраны [54, 83, 119, 124].

Процессам свободно-радикального окисления липидов отводят роль фундаментального молекулярного механизма повреждения биологических мембран, поэтому патогенез многих заболеваний и изменение структуры и функции цитомембран обусловлены процессами свободнорадикального окисления. Проявляется негативное действие свободных радикалов целым рядом изменений в организме: от нарушений структуры липопротеидов мембран, торможением процессов биосинтеза белков, нуклеиновых кислот и других, до разрушения мембран эритроцитов, развития гемолиза, ослабления дыхания, накопления молочной кислоты и других процессов [24, 129].

При интенсификации свободно радикальных процессов, в особенности, ПОЛ, наблюдается развитие общего неспецифического адаптационного стресса. Это происходит при всех острых заболеваниях, обострении хронического процесса, ожогах, травмах, оперативном вмешательстве. Кроме того, к повышенному образованию СР в организме приводят прием препаратов с прооксидантными свойствами, проведение ряда лечебных процедур (кислородотерапия, гипербарическая оксигенация, ультрафиолетовое облучение, лазерная коррекция зрения, лучевая терапия), а также различные экологически неблагоприятные факторы окружающей среды [91, 98, 113, 140].

Процессы ПОЛ в митохондриях, индуцированные низкомолекулярными комплексами железа, вызывают изменения в спектрах мембранных белков. Свободнорадикальные продукты ПОЛ способны вызывать увеличение неспецифической протонной проводимости внутренней мембраны митохондрий. Активация процессов ПОЛ в митохондриях может вызвать нарушение окислительного фосфорилирования, поскольку эффект процесса синтеза АТФ зависит от структурной целостности внутренней мембраны. Поврежденные митохондрии теряют барьерную функцию и способность накапливать ионы кальция. Это приводит к накоплению свободных жирных кислот и лизофосфатидов, нарушающих структурную организацию липидных и белковых комплексов в мембранах, что в свою очередь увеличивает интенсивность процессов перекисного окисления липидов. В результате недостатка энергии может наступить гибель клетки [82, 146].

К продуктам ПОЛ относятся циклические эндоперекиси, алифатические моно- и гидроперекиси, так называемые липопероксиды и диеновые конъюгаты [72].

Диеновые конъюгаты (ДК) являются первичными продуктами ПОЛ. При свободнорадикальном окислении арахидоновой кислоты происходит отрыв водорода в α -положении по отношению к двойной связи, что приводит к перемещению этой двойной связи с образованием ДК. Диеновые конъюгаты относятся к токсическим метаболитам, которые оказывают повреждающее действие на липопротеиды, белки, ферменты и нуклеиновые кислоты [79].

Липопероксиды являются весьма нестойкими и подвергаются дальнейшей окислительной дегенерации. При этом накапливаются вторичные продукты окисления, наиболее важными из которых являются ненасыщенные альдегиды (малоновый диальдегид). Малоновый диальдегид (МДА) образуется только из жирных кислот с тремя и более двойными связями. МДА принадлежит важная роль в синтезе простагландинов, прогестерона и других стероидов. Отрицательная роль малонового диальдегида заключается в том, что он сшивает молекулы липидов и понижает текучесть мембраны. Вследствие этого мембрана становится

более хрупкой, нарушаются процессы, связанные с изменением поверхности мембраны. Продуктами взаимодействия МДА с аминоксодержащими соединениями являются шиффовы основания – кристаллические или маслообразные вещества, нерастворимые в воде, растворимые в органических растворителях. Непрерывное накопление оснований шиффа дестабилизирует мембраны и способствует деструкции клеток [68, 152].

Гидроперекиси, ненасыщенные альдегиды являются мутагенами и обладают выраженной цитотоксичностью. Ацилгидроперекиси (АГП) вызывают клеточный стресс, а именно подавляют активность гликолиза и окислительного фосфорилирования, ингибируют синтез белка и нуклеиновых кислот, нарушают секрецию триглицеридов гепатоцитами, ингибируют различные мембраносвязанные ферменты [137].

Накопление в организме продуктов ПОЛ и развитие эндотоксикоза приводит к стимуляции монооксигеназной системы, изменениям реакции липидного, гормонального, иммунного, микроэлементного, нейромедиаторного статусов, числа мест связывания и средства рецепторов к лигандам [45].

1.5 Система антиоксидантной защиты организма и антиоксидантная терапия

Защита от повреждающего действия свободных радикалов и активных форм кислорода осуществляется на всех уровнях организации: от клеточных мембран до организма в целом. Повреждающему эффекту АФК и СР противостоит система естественной антиоксидантной защиты (АОЗ). В условиях согласованного функционирования системы АОЗ, свободные радикалы являются продуктами физиологического клеточного механизма и не представляют опасности, так как сразу же нейтрализуются антиоксидантной системой (АОС). Важное влияние процессов перекисного окисления липидов проявляется в обновлении состава и поддержании функциональных свойств биомембран, участии в энергетических процессах, клеточном делении, синтезе биологически активных веществ [47, 125].

Главным звеном системы АОЗ являются ферменты-антиоксиданты. Эти соединения способны снижать и тормозить интенсивность свободнорадикальных

процессов, то есть нейтрализовать СР. Находятся эти ферменты как в цитоплазме, так и митохондриях клеток, где образуется большинство внутриклеточных СР. Кроме того, значительная часть этих ферментов находится и экстраклеточно [101].

Таким образом, условно можно различить три уровня защиты (инактивации) свободных радикалов: превентивные антиоксиданты (церулоплазмин, металлотинин, альбумин, трансферрин, ферритин, миоглобин), инактивирующие антиоксиданты (супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза, каталаза и малые молекулы, такие как аскорбат, токоферол, билирубин, мочевиная кислота, каротиноиды и флавоноиды), репарирующие ферменты, восстанавливающие разрушенные биомолекулы, такие как ДНК-репарирующие ферменты [57].

К доминантным ферментам, оказывающим антиоксидантное действие относятся: супероксиддисмутаза, каталаза и пероксидаза, ферменты системы глутатиона и церулоплазмин. Супероксиддисмутаза (СОД) превращает супероксидные анионы в пероксид водорода. Известно 4 изофермента супероксиддисмутаза: цитоплазматическая, внеклеточная и экстрацеллюлярная СОД, в составе гема которых находятся такие металлы, как Zn^{2+} и Cu^{2+} , митохондриальная СОД (содержит Mn^{2+}). Изоферменты СОД находятся и в цитозоле и в митохондриях и являются первой линией защиты, потому что супероксидный анион обычно образуется первым из активных форм кислорода при утечке электронов из дыхательной цепи. СОД – индуцируемый фермент, т.е. синтез его увеличивается, если в клетках активизируется перекисное окисление [80, 136].

Пероксид водорода, который может инициировать образование гидроксильного радикала, разрушается ферментом каталазой. Каталаза находится в основном в пероксисомах, где образуется наибольшее количество пероксида водорода, а также в лейкоцитах, где она защищает клетки от последствий "респираторного взрыва" [57].

Пероксидаза относится к гемсодержащим гликопротеидам, которые не разлагают, но восстанавливают перекись до безопасной воды, используя в качестве доноров электронов различные субстраты. Основной особенностью механизма действия пероксидазы является отсутствие в специфичности выбора ферментом субстрата, проявляемая в реакциях индивидуального окисления, причины которой до сих пор не до конца раскрыты. Однако фермент способен проявлять специфичность в пероксидазных реакциях совместного окисления субстратов, которые более предпочтительны для биологических систем [30].

Важной составляющей антиоксидантной защиты является система глутатиона, нейтрализующая перекиси липидов и поддерживающая в восстановленном состоянии SH-группы белков, что обеспечивает их функциональную активность. Глутатионпероксидаза – важнейший фермент, обеспечивающий инактивацию активных форм кислорода, так как он разрушает и пероксид водорода и гидропероксиды липидов. Он катализирует восстановление пероксидов с помощью трипептида глутатиона (γ -глутамилцистеинилглицин). Сульфгидрильная группа глутатиона (GSH) служит донором электронов и, окисляясь, образует дисульфидную форму глутатиона, в которой две молекулы глутатиона связаны через дисульфидную группу. Окисленный глутатион восстанавливается глутатионредуктазой. Антиоксидантная активность восстановленного глутатиона тесно связана с работой защитных ферментов системы глутатиона. В условиях активации перекисного окисления уровень восстановленного глутатиона снижается, а окисленного глутатиона возрастает. Глутатион-S-трансферазы (Г-S-T) – семейство мультифункциональных белков, использующих GSH для конъюгации с гидрофобными веществами, их восстановления или изомеризации. Биологическая роль Г-S-T в организме заключается в биотрансформации ксенобиотиков, в обезвреживании токсических продуктов ПОЛ, восстановлении гидроперекисей липидов [40, 41].

Супероксид анион-радикал, перекись водорода и другие АФК могут мигрировать из клетки в межклеточное пространство и в плазму крови. Вне клетки свободные радикалы не могут быть уничтожены с помощью ферментов,

поскольку сыворотка крови и тканевые жидкости бедны СОД, каталазой и глутатионпероксидазой. В этих условия основная антиоксидантная роль принадлежит церулоплазмину. Защитное действие этого белка объясняется его способностью связывать ионы Fe^{2+} и катализировать их окисление в Fe^{3+} . Эта способность окислять ионы железа, а также ингибировать ОН-радикалы делает его эффективным сывороточным «перехватчиком» свободных радикалов, циркулирующих в крови [115].

Универсальный характер процессов ПОЛ обуславливает их повсеместное распространение во всех живых и активно метаболизирующих системах. Двойственная роль промежуточных продуктов перекисного окисления липидов, их способность выступать также в качестве катализаторов аутоокисления создают реальную опасность разворачивания свободнорадикальных цепных реакций и, как следствие, полной деструкции мембранных структур клеток при доступе кислорода. Лишь наличие факторов противоположного действия антиоксидантной системы удерживает процессы ПОЛ на стационарном базальном уровне, не препятствующем нормальной жизнедеятельности. Складывающееся тем самым прооксидантно-антиоксидантное равновесие является важнейшим механизмом гомеостаза [36].

Таким образом, сложная многокомпонентная антиоксидантная система является своего рода буфером, препятствующим переходу ПОЛ из физиологического в патологическое состояние. Поэтому сбой в работе системы АОЗ, снижение её эффективности могут быть вызваны не только падением уровня антиоксидантов или ингибированием антиперекисных ферментов, но и блокированием поставляющих водород процессов при действии, к примеру, метаболических ядов или иных факторов [147].

Функциональная активность живых организмов напрямую зависит от процессов свободно-радикального окисления и интенсивности продукции АФК, с которыми связывают развитие многих заболеваний. Предотвратить окислительное повреждение или нормализовать развившийся дисбаланс можно применением природных или синтетических антиоксидантов [126]. Антиоксидант

– это любое вещество, которое присутствуя в низких по сравнению с окисляемым субстратом концентрациях, существенно задерживает или ингибирует его окисление [128].

Существует более широкое понятие «биоантиокислители» – полифункциональные соединения, которые в зависимости от механизма действия подразделяются на антирадикальные ингибиторы, антиокислители, хелаторы и тушители [46]

Именно антиоксиданты являются одним из первых эшелонов неспецифической обороны тканей и органов от негативного действия радикалов, именно они в первую очередь обеспечивают устойчивость живых клеток к свободнорадикальному повреждению. При этом механизмы антиоксидантной защиты универсальны для всех живых клеток, независимо от их структурно-тканевой организации [108].

На сегодняшний день нет сомнений в важности и актуальности химических соединений, которые обладают антиоксидантными свойствами. По химической природе можно выделить следующие классы антиоксидантов: ферментативные антиоксиданты (СОД, глутатионзависимые пероксидазы и трансферазы); соединения, содержащие фенольные группы (токоферолы, хиноны, флавоноиды, каротиноиды, аскорбиновая кислота); SH-содержащие соединения (легкоокисляющиеся пептиды, пролин); хелаторы ионов металлов переменной валентности (металлопротеины, мочева кислота и другие пурины); другие антиоксиданты (гормоны) [128].

С.В. Оковитый предлагает следующую классификацию антиоксидантов:

1. Антирадикальные средства:

А) эндогенные соединения: α -Токоферол (витамин Е), β -каротин (провитамин А), ретинол (витамин А), кислота аскорбиновая (витамин С), глутатион восстановленный (татионил), кислота α -липоевая (тиоктацид), карнозин, убихинон (кудесан).

Б) синтетические препараты: ионол (дибунол), тиофан, ацетилцистеин (АЦЦ), пробукол (фенбутол), сукцинобукол (AGI-1067), диметилсульфоксид

(димексид), тирилазад мезилат (фридокс), эмоксипин, олифен (гипоксен), эхинохром-А (гистохром), церовив (NXY-059).

2. Антиоксидантные ферменты и их активаторы:

А) Препараты супероксиддисмутазы: эрисод, орготеин (пероксинорм).

Б) Препараты ферроксидазы церулоплазмина: церулоплазмин.

В) Активаторы антиоксидантных ферментов: натрия селенит (селеназа).

Г) Блокаторы образования свободных радикалов: аллопуринол/милурит, оксипуринол, антигипоксанты [3, 9].

Механизм действия наиболее распространённых антиоксидантов состоит в обрыве реакционных цепей. Молекулы антиоксиданта взаимодействуют с активными радикалами с образованием малоактивных радикалов, окисление замедляется также в присутствии веществ, разрушающих гидроперекиси (диалкилсульфиды и др.). В этом случае падает скорость образования свободных радикалов [58].

В настоящее время в качестве антиоксидантной терапии широко используется антиоксидант эмоксипин. В связи с этим для коррекции изменений молекулярно-биохимических показателей плазмы крови и колоноцитов в нашем исследовании мы использовались данный антиоксидант. Эмоксипин (Московский эндокринный завод) выпускается в ампулах 1%, 1 мл, действующее вещество – метилэтилпиридинола гидрохлорид. Эмоксипин обладает свойствами антиоксиданта и антигипоксанта, а также сосудопротектора и антиагреганта. Антиоксидантные свойства эмоксипина обеспечивают нейтрализацию свободных радикалов, прекращение цепных окислительных реакций, а, следовательно, предотвращают повреждение жизненно-важных биологических молекул. Свойство антигипоксанта позволяет предотвращать кислородное голодание внутренних органов и тканей за счет доставки большего количества газа и усиления его проникновения через сосудистую стенку и мембрану клеток. Сосудопротекторное свойство выражено в способности придавать прочность, гладкость и эластичность стенке сосуда. Одновременно с увеличением прочности сосудистой стенки снижается ее проницаемость. Гладкая поверхность сосудов

позволяет снизить "склеивание" клеточных элементов крови, а также предотвратить их фиксацию на стенках вен и артерий, что позволяет обеспечить антиагрегантное свойство эмоксипина. Благодаря данному эффекту также улучшается текучесть крови, то есть уменьшается ее вязкость. Помимо уменьшения "склеивания" клеток крови, эмоксипин усиливает процессы рассасывания тромбов, снижает проницаемость сосудов и предотвращает кровоизлияния, а также способствует скорейшему рассасыванию последних. В целом антиоксидант эмоксипин увеличивает устойчивость тканей организма к недостатку кислорода и кровообращения [3, 5, 35, 48].

В результате положительного действия антиоксидантов наблюдается: замедление процессов старения и износа клеточных мембран и самих клеток, следовательно, и всего организма в целом, повышение устойчивости к воздействию радиации и других вредных факторов внешней среды, усиление иммунитета, нормализация функций сердца, сосудистой и нервной систем; кроме того, большинство антиоксидантов обладают антиканцерогенным действием [4, 33, 70].

ГЛАВА 2

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Методика формирования экспериментального лекарственного дисбиоза

Экспериментальный лекарственный дисбиоз моделировали путём внутрибрюшинного введения в течение 5 дней раствора гентамицина в концентрации 80 мкг/мл в пересчёте на массу тела животного [64].

Гентамицина сульфат – основной аминогликозид второго поколения, нарушает синтез белка микроорганизмами, оказывает бактерицидное действие в отношении многих грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, в том числе стафилококков, устойчивых к пенициллину, эшерихий, клебсиелл, энтеробактеров, синегнойной палочки [10].

Название группы аминогликозидов связано с содержанием в их молекуле аминсахаров, соединенных гликозидной связью с агликоновым фрагментом молекулы. Гентамицин плохо всасывается в желудочно-кишечном тракте, хорошо проникает в ткани и жидкости организма, оказывает повреждающее действие на клеточную и цитоплазматическую мембрану клеток, приводящее к выводу в среду важных низкомолекулярных внутриклеточных продуктов (нуклеотидов, ионов калия), подавляет окисление различных субстратов клетки, нарушает синтез белка на уровне 30S-субъединиц рибосом, путем нарушения процесса транскрипции и-РНК в рибосомах бактерий, что приводит к их гибели. Гентамицин обладает устойчивостью к действию микробных ферментов и резистентность у микробов формируется медленно, что определяет его преимущество перед другими аминогликозидами [64].

2.2 Количественное и качественное исследование мукозной микрофлоры толстого кишечника

Количественное и качественное исследование мукозной микрофлоры толстого кишечника мышей проводилось по методике Кафарской Л.И. и Коршунова В.М. [17, 106]. Биоптаты слизистой оболочки толстого кишечника

освобождались от химуса и взвешивались в стерильных условиях. После этого материал помещался в стерильный раствор фосфатного буфера рН 7,0 в соотношении 1:10 и выдерживался в нём 2 часа для разжижения муцина. Затем из исследуемого материала готовились мазки, которые окрашивались по Граму, и производилось разведение исследуемого материала до концентраций 10^{-2} - 10^{-4} . По 0,1 мл каждого разведения взвеси засеивали газоном на поверхность питательных сред (Эндо, Сабуро, SSA-агар, ЦПХ-агар, кровяной агар, желточно-солевой агар, висмут-сульфит агар, лактоагар, бифидоагар) и инкубировали при температуре 37⁰С в аэробных и анаэробных условиях. Идентификацию микроорганизмов проводили с помощью микробиологического анализатора «Multiskan-Ascent» и коммерческих тест систем: ЭНТЕРОтест-16, СТАФИтест-16, Стрептотест-16, Эн-КОККУСтест-16 («Лахема» (Чехия)); API 50 CHL – для идентификации лактобацилл и бифидобактерий («Биомерье»). Количество бактерий в 1 грамме материала рассчитывали исходя из числа выросших колоний микроорганизмов – колониобразующих единиц (КОЕ) при посеве из максимального разведения, где отмечался рост не менее 10 колоний, учитывая при этом объём посевного материала. Для расчёта использовали формулу: $K = E/k * v * n$, где К – колониобразующая единица, Е – общее количество бактерий, к – количество внесённого материала, v – количество чашек Петри, n – разведение. Удельное содержание микроорганизмов вычисляли как количество микроорганизмов, выделенных из биопроб, и выражали как lg КОЕ/г массы биологического материала [55, 93, 106, 144].

2.3 Определение продуктов ПОЛ и ферментов АОЗ макроорганизма

Подготовка материала для исследования

Плазма крови. Забор крови животных производили в чистую пробирку, предварительно добавляя 1-2 капли гепарина, распределяя его по стенкам, после добавляли 2 мл крови. Центрифугировали при 1500 оборотах 20 минут. Плазму забирали и помещали в эппендорф, V=1,5 мл. Хранили в холодильнике при температуре -25⁰С.

Ткань толстого кишечника. 120 мг ткани толстого кишечника взвешивали на аналитических весах, помещали в гомогенизатор, измельчали до однородной массы, добавляли 1 мл 0,025 М трис-HCl буфера (pH 7,4). Получившуюся смесь помещали в эппендорф, V=1,5 мл. Хранили в холодильнике при температуре - 25°C.

Определение промежуточных и конечных продуктов ПОЛ

Ацилгидроперекиси. Промежуточный продукт перекисного окисления липидов. Определение производили используя смесь гептана и изопропана с добавлением соляной кислоты. Образовавшийся гептановый слой измеряли спектрофотометрически при длине волны 233 нм против контрольной пробы. Измерение проводилось в условных единицах. К 0,2 мл гомогената ткани толстого кишечника или плазмы крови добавляли 6 мл смеси гептана и изопропанола, а затем 1 мл соляной кислоты и интенсивно встряхивали. После расслоения фаз отбирали гептановый слой, в котором спектрофотометрическим методом с использованием спектрофотометра «Arel 330 PD» (Япония), измеряли содержание ацилгидроперекисей при длине волны 233 нм против контрольной пробы и выражали в условных единицах [90, 92].

Малоновый диальдегид. Конечный продукт перекисного окисления липидов. Для определения малонового диальдегида к 0,02 мл исследуемой пробы добавляли 0,5 мл смеси тиобарбитуровой и уксусной кислоты в соотношении 1:1, а затем инкубировали 60 минут при температуре 100°C. Измеряли оптическую плотность при 532 нм с использованием спектрофотометра «Arel 330 PD» (Япония) и рассчитывали количество малонового диальдегида с помощью наборов «ТБК-Агат». Результаты выражали в мкмоль/г белка ткани в гомогенате ткани кишечника и мкмоль/л в плазме крови [37, 90, 92].

Определение ферментов антиоксидантной системы макроорганизма

Супероксиддисмутаза. Активность супероксиддисмутазы определяли спектрофотометрическим методом, основанным на определении степени торможения реакции восстановления нитросинего тетразолия. Для этого 0,02 мл экстракта гомогената ткани толстого кишечника или плазмы крови вводили в 3 мл

инкубационной среды, содержащей 0,41 мМ нитросинего тетразолия, 0,33 мМ ЭДТА, 0,01 мМ N-метилфеназония метилсульфата. Измеряли оптическую плотность на спектрофотометре «Arel 330 PD» (Япония) при длине волны 540 нм, затем добавляли в кювету 0,1 мл 0,8 мМ НАД-Н, перемешивали и оставляли в темноте на 10 мин, после чего повторно измеряли оптическую плотность. О реакции судили по разнице между первым и вторым показаниями спектрофотометра. За условную единицу активности супероксиддисмутазы принимали 50% торможение реакции восстановления нитросинего тетразолия [90, 92].

Каталаза. Активность каталазы определяли методом, основанным на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс, для чего к 0,1 мл гомогената ткани толстого кишечника или плазмы крови добавляли 2,0 мл 0,03% раствора перекиси водорода. После 10-минутной инкубации при 37°C останавливали реакцию добавлением 1,0 мл 4% раствора молибдата аммония. Интенсивность окраски измеряли фотометрическим методом при длине волны 410 нм с использованием спектрофотометра «Arel 330 PD» (Япония). Активность каталазы рассчитывали по формуле A (мкат/л) = $\frac{E_{хол} - E_{оп} \cdot 3,1}{T \cdot V \cdot 22,2 \cdot 10^3}$, выражали в мкат/г ткани в гомогенате ткани толстого кишечника или мкат/мл в плазме крови [92].

2.4 Количественное и качественное определение липидных фракций мембран эритроцитов

Экстракция липидов мембран эритроцитов

Экстракцию липидов проводили из чистой эритроцитарной массы в количестве 0,5 мл при помощи последовательного добавления 0,5 мл дистиллированной воды, 5,5 мл изопропанола и 3,5 мл хлороформа с промежутком времени в один час, интенсивно перемешивали на вибротрибке. После чего, полученный экстракт фильтровали через бумажный фильтр [78].

Нанесение образца

Полученный фильтрат липидов мембран эритроцитов использовали для фракционирования фосфолипидов: лизофосфатидилхолина (ЛФХ), сфингомиелина (СМ), фосфатидилинозитол/серина (ФИ/ФС), фосфатидилхолина (ФХ), кардиолипина (КЛ), фосфатидилэтаноламина (ФЭ) и нейтральных липидов: холестерина (ХС), моноацилглицеролов (МГ), диациоглицеролов (ДГ), свободных жирных кислот (СЖК), триацилглицеролов (ТГ), эфиров холестерина (ЭХС). Перед нанесением, липидный экстракт упаривали на водяной бане при температуре 70°C. Сухой остаток растворяли в 0,5 мл хлороформ-метанольной смеси (3:1) и отбирали в пластиковую пробирку с крышкой объемом 1,5 мл. С целью очистки от загрязнителей и инактивации пластин во время нанесения образца их помещали в камеру со смесью хлороформ-метанол (1:1) до подъема растворителя до верхнего края, после чего высушивали пластины при комнатной температуре. Экстракт наносили при помощи микрошприца «Galmelton» в виде узкой полоски длиной в 1 см, по 8 образцов на одну пластину «Sorbfil» (Россия) в количестве 20 мкл. Предварительно, пластины размечали, определив линию старта (1,5 см от основания пластины) и линию финиша (1 см от верхнего края пластины) [105].

Метод тонкослойной хроматографии

Хроматографирование проводили по методу Крылова В.И. [66, 76] в насыщенных парах растворителей четырехгранных камерах размером 180 мм × 6 мм × 160 мм, в которых пластины устанавливали вертикально. Для хроматографирования фосфолипидов использовали систему элюэнтов: хлороформ:метанол:аммиак в соотношении 65:35:5, а для нейтральных липидов – гептан:петролельный эфир:ледяная уксусная кислота в соотношении 60:40:4. Фракционирование липидов проводили при комнатной температуре: фосфолипидов дважды, а нейтральных липидов однократно до поднятия растворителя до линии финиша. Далее, пластины высушивали в вытяжной камере в течение 10 минут. Фракции выявляли путем опрыскивания пластин 5% раствором фосфорно-молибденовой кислоты в 96% растворе этанола, с

последующим нагреванием пластин в сушильном шкафу при температуре 150°C в течение 7 минут [66, 76, 78, 123].

Идентификация липидных фракций

Для идентификации применяли стандартные образцы нейтральных липидов и фосфолипидов производства фирмы «Sigma» (USA), путем определения относительной подвижности фракций.

Количественное определение липидов мембран эритроцитов

Уровень содержания липидов определяли денситометрическим методом на ПВМ IBM PA/AT с использованием программы «OneDscan» в отраженном свете. Распределение липидного материала в пятне практически соответствовало гауссовской кривой и обеспечивало пропорциональность между количеством липидов и площадью их пиков. При анализе определяли относительную оптическую плотность данного вещества. Для точного количественного выражения (в мг/дл), строили калибровочные графики, отражающие зависимость относительной оптической плотности от количественного содержания вещества [2, 66, 76, 78].

2.5 Изучение эффективности профилактического и лечебного использования антиоксиданта и пробиотиков при экспериментальном дисбиозе

Эксперимент проводили на 400 мышах линии BALB/c массой тела 18-20 граммов. Содержание, питание, уход за животными и выведение их из эксперимента проводили с соблюдением принципов, изложенных в Конвенции по защите прав позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей (Страсбург, Франция, 1986), правил лабораторной практики РФ (приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003). Выбор экспериментальных животных, протоколы проведения экспериментальных исследований, вывод животных из эксперимента утверждены на проблемной комиссии и региональным этическим комитетом (протокол № 2 от 16.06.2014 г.).

Для решения поставленных задач животные были разделены на 8 групп (по 50 мышей в каждой). Первая группа – контрольная (интактные мыши). Вторую

группу составили животные, у которых моделировали лекарственный дисбиоз путём однократного ежедневного (в течение 5 дней) внутрибрюшинного введения раствора гентамицина. Концентрация вводимого антибиотика составляла 80 мкг/мл в пересчёте на массу животного. В третью группу входили мыши, которым с профилактической целью внутримышечно вводили антиоксидант эмоксипин в рекомендуемой дозе 167,18 мг/кг в пересчёте на массу животного в течение 10 суток до начала моделирования дисбиоза. Четвертой группе животных с целью коррекции внутримышечно вводили антиоксидант эмоксипин в дозе 167,18 мг/кг в пересчёте на массу животного в течение 10 суток после формирования дисбиоза. Мышам пятой группы по окончании введения антибиотика интрагастрально вводили пробиотик «РиоФлора Иммуно Нео» в течение трех недель. Шестую группу составили животные, которым после формирования лекарственного дисбактериоза вводили антиоксидант эмоксипин (внутримышечно в течение 10 суток) и пробиотик «РиоФлора Иммуно Нео» (интрагастрально в течение 21 дня). Мыши седьмой группы после формирования дисбиоза интрагастрально получали пробиотик «Бифиформ» в терапевтической дозе в течение 21 дня. Восьмую группу составили животные, которым после формирования лекарственного дисбактериоза вводили антиоксидант эмоксипин (внутримышечно в течение 10 суток) и пробиотик «Бифиформ» (интрагастрально в течение 21 дня).

По окончании сроков эксперимента изучали количественный и качественный состав микробиоценоза муцинового слоя толстого кишечника, состояние прооксидантно-антиоксидантного баланса в плазме крови и ткани толстого кишечника, состояние липидного состава мембран эритроцитов крови мышей.

2.6 Статистическая обработка полученных данных

Обработка данных осуществлялась по стандартным методикам вариационной статистики. Проводилась проверка всех данных на нормальность распределения признака. Для этого использовали критерий Колмагорова-

Смирнова. Если полученные p для данного статистического теста были выше критического ($p=0,05$), то распределение считали, подчиняющемся закону нормального распределения. Из этого следовало, что для дальнейшего статистического анализа использовались параметрические методы обсчета данных. При описании количественных признаков использовались параметры нормального распределения: среднее значение (M), стандартная ошибка среднего значения ($\pm m$), стандартное отклонение (σ), дисперсия (σ^2). Для проверки статистических гипотез использовали критерий Стьюдента (t). Пороговый уровень статистической значимости принимали равный 0,05 [117].

Все вычисления выполнялись с помощью аналитического пакета приложения Excel Office 2010, лицензией на право использования которой обладает ГБОУ ВПО КГМУ Минздрава РФ.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

ГЛАВА 3

СОСТОЯНИЕ ПРИСТЕНОЧНОЙ МИКРОФЛОРЫ ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА И МОЛЕКУЛЯРНО-БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ И КОЛОНОЦИТОВ МЫШЕЙ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ДИСБИОЗА

3.1 Состояние пристеночной микрофлоры толстого кишечника мышей в условиях экспериментального дисбиоза

Микроэкологическая система организма – это сложный филогенетически сложившийся динамичный комплекс, включающий в себя разнообразные по количественному и качественному составу ассоциации микроорганизмов и продукты их биохимической активности в определённых условиях среды обитания[49, 51].

Состав микрофлоры каждого биотопа пищеварительного тракта различается, но остаётся постоянным, что связано со способностью бактерий фиксироваться к строго определённым рецепторам эпителиальных клеток слизистой оболочки, локализованным в толще гликокаликса, покрывающего апикальную плазмолемму эпителиоцитов [154].

Первым этапом нашего исследования явилось изучение состава кишечной микрофлоры интактных мышей, составляющих контрольную группу.

При исследовании количественного и качественного состава мукозной нормофлоры толстого кишечника интактных животных было установлено, что в составе микрофлоры преобладали облигатные представители микробиоценоза – бифидобактерии, IgКОЕ которых составил $7,93 \pm 0,93$ (таблица 3).

Таблица 3 – Количественный состав мукозной микрофлоры кишечника мышей в условиях экспериментального дисбиоза

Выделенные микроорганизмы	Количество микроорганизмов, lgКОЕ/г (M±m)	
	Группы животных	
	Контроль (интактные мыши)	Дисбиоз
<i>E. colic</i> нормальной ферментативной активностью	6,77±0,78	3,95±0,53**
<i>E. colico</i> сниженной ферментативной активностью	4,37±0,76	7,03±0,95*
<i>Enterobacter</i> spp.	4,47±0,79	2,37±0,56*
<i>Salmonella</i> spp.	5,65±0,66	6,44±0,86
<i>Citrobacter</i> spp.	4,37±0,92	0±0***
<i>Enterococcus</i> spp.	3,42±0,90	0±0***
<i>Streptococcus</i> spp.	2,93±0,60	6,17±1,09*
<i>Staphylococcus</i> (коагулазоотрицательные)	2,74±0,60	4,10±0,75
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	3,40±0,62***
<i>Proteus</i> spp.	0	4,01±0,66***
<i>Candida</i> spp.	1,26±0,32	4,94±0,74***
<i>Lactobacillus</i> spp.	6,15±0,70	3,73±0,77*
<i>Bifidobacterium</i> spp.	7,93±0,93	4,24±0,72**

Примечание: * - $p \leq 0,05$ по сравнению с контрольной группой, ** - $p \leq 0,01$ по сравнению с контрольной группой, *** - $p \leq 0,001$ по сравнению с контрольной группой.

В несколько меньшем количестве обнаруживались *E. colic* нормальной ферментативной активностью (lg 6,77±0,78) и лактобактерии, численность которых составила lg 6,15±0,70.

Кроме того, в составе микрофлоры животных контрольной группы обнаруживались представители рода *Salmonella* (lg 5,65±0,66), а содержание кишечных палочек со сниженной ферментативной активностью составило lg 2,74±0,60.

Количество представителей условно-патогенных энтеробактерий – микроорганизмов рода *Enterobacter* было lg 4,47±0,79. *Citrobacter* и *Enterococcus* были обнаружены в составе мукозной микрофлоры экспериментальных животных в количестве lg 4,37±0,92 и lg 3,42±0,90 соответственно.

Несколько ниже было число представителей факультативной флоры – коагулазоотрицательных стафилококков, lg КОЕ которых составил 2,74±0,60 и бактерий рода *Streptococcus* (lg 2,93±0,60).

Грибы рода *Candida* присутствовали в незначительном количестве ($\lg 1,26 \pm 0,32$). При этом в составе мукозной микрофлоры интактных мышей не определялись золотистые стафилококки и микроорганизмы рода *Proteus*.

Экспериментальный дисбиоз толстого кишечника, обусловленный введением гентамицина, характеризовался уменьшением численности доминантных представителей микрофлоры интактных животных (таблица 3).

Содержание бифидобактерий снизилось в 1,9 раза и составило $\lg 4,24 \pm 0,72$ против $\lg 7,93 \pm 0,93$ в контроле.

Количество кишечных палочек с нормальной ферментативной активностью и лактобактерий уменьшилось в 1,7 раза и составило $\lg 3,95 \pm 0,53$ и $\lg 3,73 \pm 0,77$ соответственно. При этом число эшерихий со сниженной ферментативной активностью увеличилось в 1,6 раза, \lg КОЕ которых составил $7,03 \pm 0,95$ против $4,37 \pm 0,76$ в группе интактных животных.

Численность факультативных микроорганизмов – стрептококков возросла в 2,1 раза по отношению к контролю и составила $\lg 6,17 \pm 1,09$.

Содержание условно-патогенных бактерий рода *Enterobacter* в контроле составляло $\lg 4,47 \pm 0,79$, а после воздействия антибиотика широкого спектра действия гентамицина их количество уменьшилось в 1,9 раза и составило $\lg 2,37 \pm 0,56$.

В составе микробиоценоза данной экспериментальной группы не выявлено бактерий рода *Citrobacter* и *Enterococcus*, тогда как отмечалось появление отсутствующих в контроле золотистых стафилококков и бактерий рода *Proteus*, \lg КОЕ которых составил $3,40 \pm 0,62$ и $4,01 \pm 0,66$ соответственно.

На фоне применения гентамицина в составе микробиоценоза толстого кишечника мышей количество грибов рода *Candida* увеличилось в 3,9 раза и составило $\lg 4,94 \pm 0,74$ против $\lg 1,26 \pm 0,32$ в контрольной группе интактных животных.

Что касается коагулазонегативных стафилококков и сальмонелл, то изменения их численности были недостоверны по отношению к контролю.

3.2 Изменение молекулярно-биохимических показателей крови и колоноцитов мышей в условиях экспериментального дисбиоза

В настоящее время в генезе многих заболеваний важное значение придается мембрано-патологическим процессам. При воздействии ксенобиотиков (в том числе антибактериальных препаратов широкого спектра действия) отмечаются выраженные нарушения липидного состава клеточных мембран форменных элементов. Так как синтез и метаболизм липидов в клеточных мембранах очень чувствителен к воздействию токсических факторов, влияющих на организм, нарушения проявляются в изменении соотношения липидных фракций клеточных мембран [59, 88].

Эритроцит является универсальной моделью для изучения процессов, происходящих в клеточной мембране под действием различных ксенобиотиков. Детальное исследование изменений морфофункциональных показателей эритроцитов под влиянием различных химических агентов, с которыми сталкивается человек, позволяет полнее установить возможные последствия и определить наиболее эффективные пути их коррекции [135].

Мембрана эритроцита играет ключевую роль в функциональной способности клетки и детерминации гомеостаза. От физико-химического состояния эритроцитарной мембраны зависят особенности функционирования мембраноассоциированных ферментов, процесс активного транспорта ионов, характер взаимодействия клетки со средой, тогда как организация мембраны красных клеток крови напрямую зависит от представительности в ней белков и липидов [12].

Учитывая вышеизложенное, было проведено изучение состава фракций фосфо- и нейтральных липидов мембран эритроцитов крови животных.

При изучении количественных показателей фракций фосфолипидов мембран эритроцитов в группе интактных мышей были получены следующие данные (таблица 4).

Таблица 4 – Количественные характеристики фосфолипидов мембран эритроцитов крови мышей

Фосфолипиды (M±m) Группы животных	Контроль (интактные мыши)	Дисбиоз
Лизофосфатидилхолин	2,92±0,73	5,97±0,78**
Сфингомиелин	7,23±0,27	11,52±1,09**
Фосфатидилинозитол/серин	16,93±1,19	11,35±0,95***
Фосфатидилхолин	14,75±1,01	11,57±1,10*
Кардиолипин	2,51±0,23	1,41±0,17***
Фосфатидилэтаноламин	15,82±0,96	11,28±1,17**

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, ** - $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой, *** - $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой.

Доминирующими фракциями фосфолипидов были: ФИ/ФС, ФЭ и ФХ, числовые значения которых составили 16,93±1,19, 15,82±0,96 и 14,75±1,01 соответственно. В меньшем количестве определялась фракция СМ – 7,23±0,27, а минорными компонентами были: ЛФХ – 2,92±0,73 и КЛ – 2,51±0,23.

После формирования экспериментального дисбиоза, обусловленного введением гентамицина, были выявлены следующие изменения липидного состава клеточных мембран эритроцитов крови мышей (таблица 4). Отмечалось увеличение количественного содержания фракций ЛФХ в 2 раза и СМ в 1,6 раза, также наблюдалось снижение фракций КЛ в 1,8 раза, ФИ/ФС в 1,5 раза, ФЭ в 1,4 раза и ФХ в 1,3 раза.

В исследовании также было проведено изучение мембранных нейтральных липидов (таблица 5).

Таблица 5 – Количественные характеристики мембранных нейтральных липидов эритроцитов крови мышей

Нейтральные липиды (M±m) Группы животных	Контроль (интактные мыши)	Дисбиоз
Холестерол	47,27±1,12	55,40±1,17***
Моноацилглицеролы	2,89±0,24	3,51±0,40
Дигациллицеролы	2,09±0,24	2,65±0,24

Свободные жирные кислоты	1,91±0,18	1,47±0,16
Триацилглицеролы	6,79±0,69	9,52±0,84*
Эфиры холестерина	27,75±1,79	38,52±1,84***

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, ** - $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой, *** - $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой.

Количественный показатель ХС составил $47,27 \pm 1,12$, ЭХС – $27,75 \pm 1,79$, в меньшем количестве были обнаружены фракции: ТГ – $6,79 \pm 0,69$, МГ – $2,89 \pm 0,24$, ДГ – $2,09 \pm 0,24$ и СЖК – $1,91 \pm 0,18$.

Из представленных данных видно, что при гентамициновом дисбиозе увеличилось содержание фракции ЭХС и ТГ в 1,4 раза, а ХС в 1,2 раза. Изменения количественного содержания фракций МГ, ДГ и СЖК были ниже уровня достоверности.

Нарушения состава нормобиоценоза кишечника могут приводить к сдвигу рН среды, снижению ферментативной активности симбионтных микроорганизмов, изменению колонизационной резистентности кишечника. Продукты метаболизма и токсины условно-патогенных бактерий нарушают дезинтоксикационную функцию печени, изменяют проницаемость кишечной стенки, процессы регенерации колоноцитов, тормозят перистальтику кишечника [94, 143].

Известно, что одним из пусковых механизмов функционально-метаболических нарушений является декомпенсация антиоксидантной защиты организма, которая регулирует процессы перекисного окисления липидов, уровень активных форм кислорода, являющихся повреждающими факторами [1, 46]. Поэтому состояние АОЗ является важным фактором, влияющим на состояние микрофлоры.

В таблице 6 представлены результаты определения СОД и каталазы в плазме крови и гомогенате ткани кишечника мышей.

Таблица 6 – Активность ферментов АОЗ мышей в условиях экспериментального дисбиоза

Группы животных	Активность каталазы (M±m)		Активность супероксиддисмутазы (M±m)	
	Плазма, мкат/мл	Гомогенат ткани кишечника, мкат/г белка ткани	Плазма, у.е.	Гомогенат ткани кишечника, у.е
Контроль (интактные мыши)	12,86±0,87	14,11±0,88	14,24±1,03	14,23±1,03
Дисбиоз	10,20±0,78*	10,12±1,62*	11,50±0,77*	7,79±1,22***

Примечание: * - $p \leq 0,05$ по сравнению с контрольной группой, ** - $p \leq 0,01$ по сравнению с контрольной группой, *** - $p \leq 0,001$ по сравнению с контрольной группой.

В контрольной группе животных активность каталазы составила $12,86 \pm 0,87$ в плазме крови и $14,11 \pm 0,88$ в ткани кишечника, активность СОД – $14,24 \pm 1,03$ и $14,23 \pm 1,03$ соответственно.

Развитие лекарственного дисбиоза сопровождалось снижением активности обоих изученных ферментов антиоксидантной защиты колоноцитов мышей (таблица 6). Причём более выраженными были изменения активности супероксиддисмутазы в гомогенате ткани толстого кишечника. Полученные данные показывают, что у мышей при экспериментальном дисбиозе отмечается снижение активности ферментов: каталазы и СОД в плазме крови в 1,3 раза и в 1,2 раза соответственно по сравнению с контрольной группой. В ткани кишечника также обнаружено достоверное снижение данных показателей – каталазы в 1,4 раза и СОД в 1,8 раза.

Под действием ксенобиотиков на макроорганизм происходят изменения состава микрофлоры кишечника, которая в виде биоплёнки препятствует проникновению патогенов. Наряду с этим повышается уровень активных форм кислорода, интенсифицируются процессы перекисного окисления липидов, наблюдается развитие общего неспецифического адаптационного стресса, что влечёт за собой повреждение клеточных мембран [18, 36].

Исследованием, результаты которого ранее представлены в этой главе, было установлено, что лекарственный дисбиоз кишечника сопровождается нарушениями в АОЗ макроорганизма, что может приводить к стимуляции процессов липопероксидации. Принимая во внимание данное положение, было проведено изучение содержания продуктов ПОЛ (МДА и АГП) в плазме крови и колоноцитах. У интактных мышей были получены следующие данные (таблица 7).

Таблица 7 – Содержание продуктов ПОЛ мышей в условиях экспериментального дисбиоза

Группы животных	Содержание малонового диальдегида (M±m)		Содержание ацилгидроперекисей (M±m)	
	Плазма, мкмоль/л	Гомогенат ткани кишечника, мкмоль/г ткани	Плазма, у.е.	Гомогенат ткани кишечника, у.е.
Контроль (интактные мыши)	2,46±0,95	3,57±0,57	0,81±0,09	0,31±0,03
Дисбиоз	3,95±0,41**	6,82±0,72***	1,13±0,07**	0,70±0,08***

Примечание: * - $p \leq 0,05$ по сравнению с контрольной группой, ** - $p \leq 0,01$ по сравнению с контрольной группой, *** - $p \leq 0,001$ по сравнению с контрольной группой.

Содержание МДА в плазме крови составило $2,46 \pm 0,95$, в ткани кишечника – $3,57 \pm 0,57$. Содержание АГП в плазме – $0,81 \pm 0,09$, а в колоноцитах – $0,31 \pm 0,03$.

После введения гентамицина у животных происходило увеличение концентрации продуктов ПОЛ в плазме крови и ткани кишечника (таблица 7). При этом содержание МДА в плазме увеличивалось в 1,6 раза, АГП – в 1,4 раза относительно контрольных величин. В колоноцитах содержание МДА увеличивалось в 1,9 раза, а АГП – в 2,3 раза по сравнению с группой контроля.

Воздействие антибиотика широкого спектра действия (гентамицина) привело к существенным изменениям в составе кишечного микробиоценоза, так как были зарегистрированы качественные и количественные изменения состава микрофлоры. А именно, отмечено снижение количества бифидобактерий, лактобактерий, микроорганизмов рода *Enterobacter*. Представители родов

Citrobacter и *Enterococcus* не идентифицировались. Одновременно со снижением количества кишечных палочек с нормальной ферментативной активностью возрастало количество эшерихий со сниженной ферментативной активностью, стрептококков, грибов рода *Candida*. При этом в составе микробиоценоза толстого кишечника обнаруживались золотистые стафилококки и протей.

Введение гентамицина привело к нарушению липидного состава мембран красных клеток крови, которые в свою очередь являются универсальной моделью для изучения липидного состава клеточных мембран [134]. Так, при экспериментальном дисбиозе кишечника в мембранах эритроцитов происходило уменьшение содержания ФХ и ФЭ, которые обладают свойствами ингибиторов процессов перекисного окисления липидов и их истощение может приводить к ослаблению антиоксидантной защиты клеточных мембран эритроцитах [24, 86]. Уменьшение содержания этих фракций может быть связано с их частичным гидролизом фосфолипазой А₂, на что указывает одновременное возрастание моноцильного лизопродного – ЛФХ, содержание которого увеличивалось в эритроцитах периферической крови мышей после введения антибиотика. Накопление в мембранах эритроцитов ЛФХ является непосредственным результатом усиленного распада структурных ФЛ в органах и тканях, откуда гидрофильные метаболиты могут легко поступать в кровь. Накапливающиеся лизоформы являются токсическими для клеточных мембран и могут вызывать гемолиз эритроцитов [56, 79]. Увеличение содержания ФИ/ФС может быть опосредовано повышением занятости скавенджер-рецепторов, вследствие чего осложняется выведение из кровотока поврежденных клеток и модифицированных липопротеидов, приводящее к возникновению воспалительных процессов в организме [86]. С другой стороны накопление ФИ/ФС является проявлением адаптационно-компенсаторных механизмов в структуре и функции клеточных мембран [153].

Как известно, СМ не подвергается действию фосфолипаз и, возможно, замещает ФХ, что в какой-то мере направлено на сохранение структурной целостности эритроцитарной мембраны [28].

Снижение общего содержания ФЛ в мембране эритроцитов, происходящее за счет уменьшения доли ФХ, ФЭ, КЛ и ФИ/ФС является одним из признаков старения эритроцитов. При этом снижение содержания этих фракций обуславливает нарушение внутриэритроцитарного гомеостаза, угнетение антиокислительной активности липидов [22].

В мембране эритроцитов выявлены изменения и в спектре нейтральных липидов, что, в свою очередь, сказывается и на организации мембраны в целом. Так, повышенный уровень ХС и ЭХС может уменьшать подвижность жирных кислот, снижать латеральную диффузию липидов и белков [29].

Воздействие антибиотика широкого спектра действия может снижать потенциал на мембране эритроцита, вызывая его деструкцию, так как напряженность поля на мембране падает. Это приводит к нарушению взаимодействия между компонентами мембран эритроцитов (повышение количества холестерина, эфиров холестерина и снижению количества триацилглицеролов), усиливая процессы перекисного окисления. Такие эритроциты не способны эффективно выполнять функцию переноса кислорода [148]. Выявленная модификация фосфолипидного бислоя эритроцитарной мембраны может явиться существенным фактором нарушения процессов, связанных с явлениями деструкции мембраны, ее барьерных функций, проницаемости, процессов активного переноса веществ, трансмембранных градиентов [151].

Гентамициновый дисбиоз толстого кишечника сопровождался снижением активности антиоксидантных ферментов в плазме крови и ткани кишечника (каталаза, СОД), указывающих на напряженность их антирадикальной защиты. При этом нарушения в антиоксидантной защите эпителиоидных клеток кишечника выражены интенсивнее, чем в плазме крови. Динамика данных показателей может быть результатом воздействия качественных и количественных изменений состава кишечной микрофлоры на метаболизм колоноцитов, которые и являются непосредственно контактирующей зоной с микроорганизмами. Важно отметить тот факт, что микроорганизмы способны

выделять в окружающую среду жирные кислоты, свободные радикалы, пероксиды, в результате чего происходит накопление продуктов их метаболизма, обладающих токсическим действием на различные биологические системы макроорганизма [149].

Увеличение концентрации продуктов перекисного окисления липидов (МДА и АГП) в колоноцитах свидетельствует о степени риска нарушения целостности клеточных мембран непосредственно в зоне обитания микроорганизмов и обусловлено, как действием самого антибиотика, так и увеличением численности стрептококков, золотистых стафилококков, протей, грибов рода *Candida* в результате развития дисбиоза.

Достоверно высокое содержание МДА и АГП может указывать на возможное повреждение клеточных мембран, которое сочетается со снижением активности каталазы и СОД относительно контрольных значений.

Таким образом, изменения качественного и количественного состава микробиоценоза муцинового слоя толстого кишечника можно расценивать как триггер выявленных метаболических нарушений молекулярно-биохимических показателей крови и колоноцитов.

ГЛАВА 4

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИСТЕНОЧНОЙ МИКРОФЛОРЫ ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА И МОЛЕКУЛЯРНО-БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ И КОЛОНОЦИТОВ МЫШЕЙ ПРИ КОРРЕКЦИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ДИСБИОЗА ПРОБИОТИКАМИ «РИОФЛОРА ИММУНО НЕО» И «БИФИФОРМ»

4.1 Изменения состояния пристеночной микрофлоры толстого кишечника при коррекции экспериментального дисбиоза пробиотиками «РиоФлора Иммуно Нео» и «Бифиформ»

В последнее время коррекция дисбиоза кишечника вошла в практику клинициста как важная часть в плане ведения больных с различными заболеваниями.

Клинические последствия дисбиоза кишечника обусловлены в первую очередь утратой таких полезных свойств нормобиоты как терминального (толстокишечного) пищеварения, синтеза биологически активных веществ, колонизационной резистентности (сдерживает рост оппортунистической микробиоты), позитивного иммуномодуляторного эффекта. Впоследствии могут возникнуть: кишечная диспепсия (бродильная и гнилостная), метаболические нарушения, бактериальная и микотическая эндогенная интоксикация и сенсбилизация, отягощенное течение иммунодефицитных, аллергических и аутоиммунных синдромов [14, 110]

С целью коррекции дисбиоза кишечника традиционно используют биотерапевтические средства, которые можно подразделить на три группы: пробиотики, пребиотики и синбиотики.

После коррекции экспериментального дисбактериоза пробиотиками «РиоФлора Иммуно Нео» и «Бифиформ» были зарегистрированы следующие изменения количественного и качественного состава микробиоценоза толстого кишечника (таблица 8).

Таблица 8 – Влияние пробиотиков «РиоФлора Иммуно Нео» и «Бифиформ» на состав мукозной микрофлоры толстого кишечника мышей

Выделенные микроорганизмы	Количество микроорганизмов, lgКОЕ/г (M±m)			
	Группы животных			
	Контроль (интактные мыши)	Дисбиоз	Коррекция «РиоФлора Иммуно Нео»	Коррекция «Бифиформ»
E. colic нормальной ферментативной активностью	6,77±0,78	3,95±0,53 ^{**}	7,20±0,66 ^{xxx}	6,51±0,64 ^{xx}
E. colico сниженной ферментативной активностью	4,37±0,76	7,03±0,95 [*]	2,67±0,61 ^{xxx}	2,38±0,64 ^{xxx}
Enterobacter spp.	4,47±0,79	2,37±0,56 [*]	5,92±0,74 ^{xxx}	6,42±0,94 ^{xxx}
Salmonella spp.	5,65±0,66	6,44±0,86	3,97±0,81 ^x	2,97±0,44 ^{xxx***}
Citrobacter spp.	4,37±0,92	0±0 ^{***}	3,78±0,79 ^{xxx}	3,21±0,63 ^{xxx}
Enterococcus spp.	3,42±0,90	0±0 ^{***}	4,71±0,79 ^{xxx}	5,14±0,69 ^{xxx}
Streptococcus spp.	2,93±0,60	6,17±1,09 [*]	3,48±0,49 ^x	3,10±0,48 ^x
Staphylococcus (коагулазоотрицательные)	2,74±0,60	4,10±0,75	3,02±0,70	2,91±0,56
Staphylococcus aureus	0	3,40±0,62 ^{***}	2,31±0,62 ^{***}	1,80±0,31 ^{x***}
Proteus spp.	0	4,01±0,66 ^{***}	2,60±0,58 ^{***}	2,13±0,54 ^{x***}
Candida spp.	1,26±0,32	4,94±0,74 ^{***}	1,06±0,38 ^{xxx}	0±0 ^{xxx***}
Lactobacillus spp.	6,15±0,70	3,73±0,77 [*]	6,43±0,90 ^x	6,16±0,78 ^x
Bifidobacterium spp.	7,93±0,93	4,24±0,72 ^{**}	8,20±1,22 ^{xx}	9,12±0,94 ^{xxx}

Примечание: * - $p \leq 0,05$ по сравнению с контрольной группой, ** - $p \leq 0,01$ по сравнению с контрольной группой, *** - $p \leq 0,001$ по сравнению с контрольной группой; ^x - $p \leq 0,05$ по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xx} - $p \leq 0,01$ по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xxx} - $p \leq 0,001$ по сравнению с группой «дисбиоз».

При использовании пробиотика «РиоФлора Иммуно Нео» численность бифидо- и лактобактерий возросла и превысила значения определяемого показателя в группе «дисбиоз» в 1,9 и 1,7 раза соответственно.

В биоценозе кишечника мышей, получавших данный препарат, численность эшерихий с нормальной ферментативной активностью составила lg 7,20±0,66, что в 1,8 раза превысило их количество в экспериментальной группе «дисбиоз» (lg 3,95±0,53), и при этом достигла показателя контроля (lg 6,77±0,78). Кишечные палочки со сниженной ферментативной активностью были обнаружены в количестве lg 2,67±0,61, что в 2,6 раза меньше значения определяемого показателя в группе «дисбиоз» (lg 7,03±0,95) и 1,6 раза в контрольной группе (lg 4,37±0,76).

Увеличилось количество КОЕ бактерий рода *Enterobacter*, lg КОЕ которых составил $5,92 \pm 0,74$, что в 2,5 раза выше, чем в группе экспериментального дисбиоза и превысило показатель в контрольной группе. *Citrobacterspp.* и *Enterococcuspp.*, не выявленные при дисбиозе, были идентифицированы к количеству lg $3,78 \pm 0,79$ и lg $4,71 \pm 0,79$ соответственно.

Количество стрептококков снизилось в 1,8 раза, но не достигло значения определяемого показателя в группе интактных животных. Показатель КОЕ/г для золотистых стафилококков и бактерий рода *Proteus* снизился в 1,5 раза в сравнении с опытной группой гентамицинового дисбиоза, но не достиг контрольных значений, где данные представители отсутствовали. Количество сальмонелл после коррекции снизилось в 1,6 раза, но определяемый показатель не достиг значений группы интактных животных.

Lg КОЕ грибов рода *Candida* снизился в 4,7 раза и достиг значения (lg $1,06 \pm 0,38$), близкого контролю (lg $1,26 \pm 0,32$).

Изменение количества коагулазоотрицательных стафилококков было ниже уровня достоверности.

После курса приема пробиотика «Бифиформ» отмечено повышение количества бифидо- и лактобактерий до значений Lg КОЕ контрольной группы, что является достоверным в сравнении с определяемым показателем в группе «дисбиоз».

Среди микроорганизмов муцинового слоя кишечника мышей в опытной группе количество эшерихий с нормальной ферментативной активностью увеличилось в 1,6 раза, но не достигло контрольных значений. Численность эшерихий со сниженной ферментативной активностью снизилась в 3 раза, что было ниже показателя в контрольной группе.

Также нормализовалось содержание стрептококков. Микроорганизмы рода *Citrobacter* и *Enterococcus*, которые не определялись в группе мышей с экспериментальным дисбиозом, идентифицировались в количестве $3,21 \pm 0,63$ и $5,14 \pm 0,69$ соответственно. Стафилококки и бактерии рода *Proteus* по-прежнему присутствовали в составе мукозной микрофлоры животных. Число

представителей рода *Enterobacter* увеличилось в 2,7 раза и превысило значение определяемого показателя в контрольной группе, а количество сальмонелл уменьшилось в 1,9 раза по сравнению с группой интактных животных.

Грибы рода *Candida* не выявлялись после применения пробиотика «Бифиформ».

После коррекции гентамицинового дисбактериоза пробиотиками «РиоФлора Иммуно Нео» и «Бифиформ» была отмечена стабилизация большинства исследуемых количественных показателей микробиоценоза толстого кишечника, в некоторых случаях превышающих значения у интактных животных.

Сравнивая данные пробиотики, следует отметить, что на количественный состав бифидобактерий наибольшее влияние оказал пробиотик «Бифиформ», а на численность лактобактерий – «РиоФлора Иммуно Нео». Количество КОЕ кишечных палочек с нормальной ферментативной активностью было выше при использовании пробиотика «РиоФлора Иммуно Нео», а эшерихий со сниженной ферментативной активностью при применении пробиотика «Бифиформ». Коррекция дисбиотических нарушений микробиоценоза толстого кишечника пробиотиком «РиоФлора Иммуно Нео» привела к нормализации численности сальмонелл, стрептококков, бактерий родов *Enterococcus*, *Enterobacter* и *Citrobacter*, грибов рода *Candida*. Применение «Бифиформа» для коррекции гентамицинового дисбиоза нормализовало количество энтерококков, стрептококков и бактерий рода *Citrobacter*.

Обращая внимание на видовой состав микроорганизмов в используемых пробиотиках, следует отметить, что после применения «РиоФлора Иммуно Нео», состав которого представлен бактериями родов *Streptococcus*, *Bifidobacterium* и *Lactobacillus* количество бифидо- и лактобактерий увеличилось в сравнении с группой «дисбиоз» и превысило значения в контрольной группе. LgКОЕ стрептококков снизился, но не достиг значений определяемого показателя в группе контроля. Коррекция гентамицинового дисбиоза пробиотиком «Бифиформ», в составе которого присутствуют микроорганизмы родов *Bifidobacterium* и *Enterococcus*, выявлено увеличение численности

бифидобактерий, превышающей значения в группе интактных животных. Количество энтерококков, отсутствующих в группе «дисбиоз» после применения «Бифиформа» было выше, чем в контрольной группе в 1,5 раза.

4.2 Изменение молекулярно-биохимических показателей крови и колоноцитов при коррекции экспериментального дисбиоза пробиотиками «РиоФлора Иммуно Нео» и «Бифиформ»

Результатами исследования показано, что гентамициновый дисбиоз кишечника приводит к изменениям не только качественного и количественного состава микроорганизмов, обитателей толстого кишечника, но и характеризуется изменениями в составе липидных фракций мембран эритроцитов, поэтому продолжением работы стало изучение представительности липидных фракций у животных, получавших пробиотики «РиоФлора Иммуно Нео» и «Бифиформ».

После применения пробиотиков с целью коррекции экспериментального дисбиоза не было отмечено достоверного изменения состава изученных фосфолипидных фракций мембран эритроцитов экспериментальных животных (таблица 9).

Таблица 9 – Количественные характеристики фосфолипидов мембран эритроцитов крови мышей в условиях экспериментального дисбиоза и его коррекции пробиотиками

Группы животных Фосфолипиды (M±m)	Контроль (интактные мыши)	Дисбиоз	Коррекция «РиоФлора Иммуно Нео»	Коррекция «Бифиформ»
Лизофосфатидилхолин	2,92±0,73	5,97±0,78 ^{**}	6,03±0,67 ^{**}	5,33±0,80 [*]
Сфингомиелин	7,23±0,27	11,52±1,09 ^{**}	11,07±1,3 [*]	10,05±1,23
Фосфатидилинозитол/серин	16,93±1,19	11,35±0,95 ^{***}	12,56±0,97 ^{**}	10,24±1,82 ^{***}
Фосфатидилхолин	14,75±1,01	11,57±1,10 [*]	12,41±0,88	12,40±1,00
Кардиолипидин	2,51±0,23	1,41±0,17 ^{***}	1,52±0,21 ^{**}	1,63±0,30 [*]
Фосфатидилэтаноламин	15,82±0,96	11,28±1,17 ^{**}	11,13±0,70 ^{***}	11,66±0,55 ^{***}

Примечание: ^{*} - p<0,05 по сравнению с контрольной группой, ^{**} - p<0,01 по сравнению с контрольной группой, ^{***} - p<0,001 по сравнению с контрольной группой.

Анализируя данные о содержании мембранных нейтральных липидов эритроцитов крови мышей, также не было выявлено достоверных изменений в составе изученных фракций (таблица 10).

Таблица 10 – Количественные характеристики мембранных нейтральных липидов эритроцитов крови мышей в условиях экспериментального дисбиоза и его коррекции пробиотиками

Нейтральные липиды (M±m) / Группы животных	Контроль (интактные мыши)	Дисбиоз	Коррекция «РиоФлора Иммуно Нео»	Коррекция «Бифиформ»
Холестерол	47,27±1,12	55,40±1,17 ^{***}	54,58±1,17 ^{***}	55,04±1,01 ^{***}
Моноацилглицеролы	2,89±0,24	3,51±0,40	3,76±0,27 [*]	3,47±0,38
Диацилглицеролы	2,09±0,24	2,65±0,24	2,61±0,30	2,41±0,21
Свободные жирные кислоты	1,91±0,18	1,47±0,16	1,71±0,15	1,72±0,14
Триацилглицеролы	6,79±0,69	9,52±0,84 [*]	8,67±0,70	8,83±0,59 [*]
Эфиры холестерина	27,75±1,79	38,52±1,84 ^{***}	37,03±1,30 ^{***}	36,48±1,43 ^{***}

Примечание: ^{*} - p<0,05 по сравнению с контрольной группой, ^{**} - p<0,01 по сравнению с контрольной группой, ^{***} - p<0,001 по сравнению с контрольной группой.

Учитывая способность некоторых видов бактерий вырабатывать собственные СОД и псевдокаталазу или каталазу [80], было проведено исследование активности антиоксидантных ферментов плазмы крови и колоноцитов у животных, получавших пробиотики «РиоФлора Иммуно Нео» и «Бифиформ».

Применение пробиотика «РиоФлора Иммуно Нео» с целью коррекции гентамицинового дисбиоза привело к достоверному увеличению содержания СОД в ткани кишечника мышей в 1,6 раза, однако, данный показатель не достиг значений определяемого показателя в контрольной группе (таблица 11).

Таблица 11 – Активность ферментов АОЗ в условиях экспериментального дисбиоза и его коррекции пробиотиками

Группы животных	Активность каталазы (M±m)		Активность супероксиддисмутазы (M±m)	
	Плазма, мкат/мл	Гомогенат ткани кишечника, мкат/г белка ткани	Плазма, у.е.	Гомогенат ткани кишечника, у.е
Контроль (интактные мыши)	12,86±0,87	14,11±0,88	14,24±1,03	14,23±1,03
Дисбиоз	10,20±0,78*	10,12±1,62*	11,50±0,77*	7,79±1,22***
Коррекция «РиоФлора Иммуно Нео»	12,24±0,95	12,15±0,64	12,33±1,06	12,63±1,01 ^{xx}
Коррекция «Бифиформ»	10,97±0,78	10,01±0,97	10,48±0,90*	9,60±0,84

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, ** - $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой, *** - $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой; ^x - $p < 0,05$ по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xx} - $p < 0,01$ по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xxx} - $p < 0,001$ по сравнению с группой «дисбиоз».

Изменения содержания каталазы были не достоверны. Применение пробиотика «Бифиформ» не оказало достоверного влияния на исследуемые показатели (каталаза, СОД) в плазме и колоноцитах экспериментальных животных.

Так как при экспериментальном дисбиозе зарегистрировано повышение содержания продуктов ПОЛ, было проведено исследование содержания МДА и АГП в плазме крови и колоноцитах экспериментальных животных, получавших выбранные нами пробиотики.

При изучении влияния пробиотиков «РиоФлора Иммуно Нео» и «Бифиформ» на содержание продуктов ПОЛ было выявлено снижение количества МДА в колоноцитах в 2,1 и 2 раза соответственно при сравнении со значениями у мышей в группе «дисбиоз». Отмечено, что полученные значения превосходят соответствующие показатели в контрольной группе (таблица 12).

Таблица 12 – Содержание продуктов ПОЛ в условиях экспериментального дисбиоза и его коррекции пробиотиками

Группы животных	Содержание малонового диальдегида, мкмоль/г ткани (M±m)		Содержание ацилгидроперекисей, у.е (M±m)	
	Плазма, мкат/мл	Гомогенат ткани кишечника, мкат/г белка ткани	Плазма, у.е.	Гомогенат ткани кишечника, у.е
Контроль (интактные мыши)	2,46±0,95	3,57±0,57	0,81±0,09	0,31±0,03
Дисбиоз	3,95±0,41**	6,82±0,72***	1,13±0,07**	0,70±0,08***
Коррекция «РиоФлора Иммуно Нео»	3,68±0,26**	3,26±0,20 ^{xxx}	0,95±0,19	0,52±0,06**
Коррекция «Бифиформ»	4,68±0,37***	3,49±0,25 ^{xxx}	1,09±0,06*	0,55±0,06

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, ** - $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой, *** - $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой; ^x - $p < 0,05$ по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xx} - $p < 0,01$ по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xxx} - $p < 0,001$ по сравнению с группой «дисбиоз».

Изменения содержания МДА в плазме, а также содержания АГП в плазме и колоноцитах были ниже уровня достоверности и отличались от данного показателя у интактных животных.

Таким образом, использование пробиотиков «РиоФлора Иммуно Нео» и «Бифиформ» привело к восстановлению количественного содержания представителей толстокишечного мукозного микробиоценоза. При применении «Бифиформа» отмечена положительная динамика в отношении содержания 7 из 11 разбалансированных в результате введения гентамицина представителей микрофлоры (бифидобактерий, лактобактерий, кишечных палочек с нормальной и сниженной ферментативной активностью, энтерококков, стрептококков и бактерий рода *Citrobacter*). Использование пробиотика «РиоФлора Иммуно Нео» нормализовало 10 из 11 разбалансированных представителей микрофлоры (бифидобактерий, лактобактерий, кишечных палочек с нормальной и сниженной

ферментативной активностью, сальмонелл, стрептококков, бактерий родов *Enterococcus*, *Enterobacter* и *Citrobacter*, грибов рода *Candida*).

Выявленные различия в нормализации количественного состава микробиоты толстого кишечника, по нашему мнению, связаны с качественным и количественным составом тест-штаммов микроорганизмов использованных пробиотиков.

Важно отметить, что использование пробиотиков «РиоФлора Иммуно Нео» и «Бифиформ» не оказало достоверно значимого влияния на количественный состав фосфо- и нейтральных липидов мембран эритроцитов мышей. При этом использование пробиотиков оказало положительное влияние на активность ферментов АОЗ колоноцитов, стабилизацию содержания МДА в ткани толстого кишечника, что может быть результатом восстановления микробного равновесия в микробиоценозе кишечника.

Сравнивая полученные результаты по изучению количественного и качественного состава микрофлоры толстого кишечника, молекулярно-биохимических показателей крови и колоноцитов следует отметить, что пробиотик «РиоФлора Иммуно Нео» является более эффективным, а следовательно был выбран нами для комплексной коррекции выявленных нарушений в результате воздействия ксенобиотика гентамицина.

ГЛАВА 5

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИСТЕНОЧНОЙ МИКРОФЛОРЫ ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА И МОЛЕКУЛЯРНО-БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ И КОЛОНОЦИТОВ МЫШЕЙ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ АНТИОКСИДАНТА ЭМОКСИПИНА

Выявленные в динамике экспериментального дисбиоза изменения в состоянии прооксидантно-антиоксидантной системы макроорганизма, позволяют говорить о том, что использование для коррекции дисбиоза только пробиотических препаратов недостаточно. Рациональным дополнением для нормализации работы системы антиоксидантной защиты могут явиться препараты-антиоксиданты, из группы которых изучался эмоксипин.

Эмоксипин успешно применяют при лечении заболеваний, сопровождающихся усилением перекисного окисления липидов и гипоксией. Благодаря своему механизму действия и широкому спектру фармакологических эффектов препарат оказывает влияние на основные звенья патогенеза различных заболеваний, связанных с процессами свободнорадикального окисления и кислородзависимыми патологическими состояниями. Применение эмоксипина способствует снижению содержания продуктов свободнорадикального окисления в крови и активацией показателей антиокислительной системы. Известно, что эмоксипин эффективно предотвращает свободнорадикальное окисление, активно реагирует с перекисными радикалами фосфолипидов в биомембран. Кроме того, он также является антигипоксантом прямого энергизирующего действия, активизирует функции митохондрий. Препарат повышает внутриклеточный синтез белка и нуклеиновых кислот, способствует синтезу и внутриклеточному накоплению АТФ, улучшает реологические свойства крови, улучшает деятельность иммунной системы [5, 36, 48].

5.1 Изменения состояния пристеночной микрофлоры толстого кишечника и молекулярно-биохимических показателей крови и колоноцитов мышей в условиях профилактического использования антиоксиданта эмоксипина

При профилактическом применении антиоксиданта эмоксипина до начала формирования экспериментального дисбиоза в микробиоценозе толстого кишечника было отмечено появление отсутствующих при экспериментальном дисбиозе энтерококков. LgКОЕ микроорганизмов рода *Enterococcus* составил $1,38 \pm 0,28$, но значения определяемого показателя не достигли контрольных (таблица 13).

Таблица 13 – Влияние профилактического использования антиоксидантана состав мукозной микрофлоры толстого кишечника мышей

Выделенные микроорганизмы	Количество микроорганизмов, IgКОЕ/г (M±m)		
	Группы животных		
	Контроль (интактные мыши)	Дисбиоз	Профилактика «Эмоксипин»
<i>E. colic</i> нормальной ферментативной активностью	6,77±0,78	3,95±0,53**	5,52±0,80
<i>E. colico</i> сниженной ферментативной активностью	4,37±0,76	7,03±0,95*	5,40±0,99
<i>Enterobacterspp.</i>	4,47±0,79	2,37±0,56*	4,19±0,70
<i>Salmonella spp.</i>	5,65±0,66	6,44±0,86	6,27±0,89
<i>Citrobacter spp.</i>	4,37±0,92	0±0***	0±0***
<i>Enterococcus spp.</i>	3,42±0,90	0±0***	1,38±0,28* ^{xxx}
<i>Streptococcus spp.</i>	2,93±0,60	6,17±1,09*	5,93±0,94*
<i>Staphylococcus</i> (коагулазоотрицательные)	2,74±0,60	4,10±0,75	4,03±0,87
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	3,40±0,62***	3,51±0,54***
<i>Proteus spp.</i>	0	4,01±0,66***	4,27±0,71***
<i>Candida spp.</i>	1,26±0,32	4,94±0,74***	4,48±0,68***
<i>Lactobacillus spp.</i>	6,15±0,70	3,73±0,77*	5,03±0,81
<i>Bifidobacterium spp.</i>	7,93±0,93	4,24±0,72**	5,17±0,86*

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, ** - $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой, *** - $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой; ^x - $p < 0,05$ по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xx} - $p < 0,01$ по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xxx} - $p < 0,001$ по сравнению с группой «дисбиоз».

Содержание в толстокишечном микробиоценозе бифидобактерий, лактобактерий, кишечных палочек с нормальной и сниженной ферментативной активностью, представителей родов *Enterobacter*, *Citrobacter*,

Enterococcus, сальмонелл, стрептококков, золотистых и коагулазоотрицательных стафилококков, а также протей и грибов рода Candida было ниже уровня достоверности.

Использование эмоксипинас профилактической целью привело к изменению состава фракции фосфолипидов мембран эритроцитов экспериментальных животных. Количественное содержание ЛФХ составило $3,74 \pm 0,44$, что в 1,6 раза ниже относительно значения определяемого показателя в группе гентамицинового дисбиоза (таблица 14).

Таблица 14 – Количественные характеристики фосфолипидов мембран эритроцитов крови мышей в условиях профилактического использования антиоксиданта

Группы животных Фосфолипиды (M±m)	Контроль (интактные мыши)	Дисбиоз	Профилактика «Эмоксипин»
Лизофосфатидилхолин	$2,92 \pm 0,73$	$5,97 \pm 0,78^{**}$	$3,74 \pm 0,44^x$
Сфингомиелин	$7,23 \pm 0,27$	$11,52 \pm 1,09^{**}$	$9,03 \pm 1,01$
Фосфатидилинозитол/серин	$16,93 \pm 1,19$	$11,35 \pm 0,95^{***}$	$15,71 \pm 0,94^{xx}$
Фосфатидилхолин	$14,75 \pm 1,01$	$11,57 \pm 1,10^*$	$15,28 \pm 1,00^x$
Кардиолипин	$2,51 \pm 0,23$	$1,41 \pm 0,17^{***}$	$2,14 \pm 0,30^x$
Фосфатидилэтаноламин	$15,82 \pm 0,96$	$11,28 \pm 1,17^{**}$	$14,82 \pm 1,16^x$

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, ** - $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой, *** - $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой; ^x - $p < 0,05$ по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xx} - $p < 0,01$ по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xxx} - $p < 0,001$ по сравнению с группой «дисбиоз».

Количество фракции ФИ/ФС увеличилось в 1,4 раза по сравнению с группой «экспериментальный дисбиоз» и достигло значений контроля. Фракции ФХ и ФЭ увеличились в 1,3 раза, а КЛ в 1,5 раза в сравнении с группой экспериментального дисбиоза, но не достигли значений определяемого показателя группы интактных животных. Изменение количественного содержания СМ было ниже уровня достоверности.

В исследовании также было проведено изучение мембранных нейтральных липидов (таблица 15).

Таблица 15 – Количественные характеристики мембранных нейтральных липидов эритроцитов крови мышей в условиях профилактического использования антиоксиданта

Нейтральные липиды (M±m) / Группа животных	Контроль (интактные мыши)	Дисбиоз	Профилактика «Эмоксипин»
Холестерол	47,27±1,12	55,40±1,17***	49,35±1,86 ^x
Моноацилглицеролы	2,89±0,24	3,51±0,40	3,46±0,40
Диацилглицеролы	2,09±0,24	2,65±0,24	2,58±0,21
Свободные жирные кислоты	1,91±0,18	1,47±0,16	1,49±0,17
Триацилглицеролы	6,79±0,69	9,52±0,84*	7,50±0,81
Эфиры холестерина	27,75±1,79	38,52±1,84***	32,77±1,63 ^x

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, ** - $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой, *** - $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой; ^x - $p < 0,05$ по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xx} - $p < 0,01$ по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xxx} - $p < 0,001$ по сравнению с группой «дисбиоз».

Данные представленные в таблице 15 свидетельствуют о снижении содержания фракций мембранных нейтральных липидов ХС и ЭХС в 1,1 и 1,2 раза соответственно в сравнении с группой «экспериментальный дисбиоз», при этом количественные значения ХС и ЭХС оставались выше, чем у интактных животных.

Анализируя влияние профилактического применения эмоксипина на систему АОЗ, следует отметить, что активность каталазы увеличилась в плазме крови в 1,3 раза и в 1,4 раза в ткани кишечника (таблица 16).

Таблица 16 – Активность ферментов АОЗ в условиях профилактического использования антиоксиданта

Группы животных	Активность каталазы (M±m)		Активность супероксиддисмутазы (M±m)	
	Плазма, мкат/мл	Гомогенат ткани кишечника, мкат/г белка ткани	Плазма, у.е.	Гомогенат ткани кишечника, у.е.
Контроль (интактные мыши)	12,86±0,87	14,11±0,88	14,24±1,03	14,23±1,03
Дисбиоз	10,20±0,78*	10,12±1,62*	11,50±0,77*	7,79±1,22***
Профилактика «Эмоксипин»	13,54±0,71 ^{xx}	14,33±0,99 ^x	13,27±1,00	14,80±0,86 ^{xxx}

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, ** - $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой, *** - $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой; ^x - $p < 0,05$ по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xx} - $p < 0,01$ по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xxx} - $p < 0,001$ по сравнению с группой «дисбиоз».

При этом значения изучаемого показателя достигли значений группы интактных животных. Статистически значимое повышение активности фермента СОД в (1,9 раза) было зарегистрировано только в колоноцитах.

Использование антиоксиданта с профилактической целью снижало количество продуктов ПОЛ. Содержание МДА в плазме крови и колоноцитах уменьшилось в 1,4 раза по сравнению с показателями группы животных в условиях экспериментального дисбиоза, а АГП в 1,2 раза в плазме крови и в 1,7 раза в ткани кишечника (таблица 17).

Таблица 17 – Содержание продуктов ПОЛ в условиях профилактического использования антиоксиданта.

Группы животных	Содержание малонового диальдегида, мкмоль/г ткани (M±m)		Содержание ацилгидроперекисей, у.е (M±m)	
	Плазма, мкат/мл	Гомогенат ткани кишечника, мкат/г белка ткани	Плазма, у.е.	Гомогенат ткани кишечника, у.е
Контроль (интактные мыши)	2,46±0,95	3,57±0,57	0,81±0,09	0,31±0,03
Дисбиоз	3,95±0,41 ^{**}	6,82±0,72 ^{***}	1,13±0,07 ^{**}	0,70±0,08 ^{***}
Профилактика «Эмоксипин»	2,73±0,39 ^x	4,67±0,42 ^x	0,95±0,05 ^x	0,42±0,05 ^{xx}

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, ** - $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой, *** - $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой; ^x - $p < 0,05$ по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xx} - $p < 0,01$ по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xxx} - $p < 0,001$ по сравнению с группой «дисбиоз».

Полученные значения количественного содержания продуктов ПОЛ у мышей при профилактическом использовании антиоксиданта не были сопоставимы с данными интактных животных.

5.2 Изменения состояния пристеночной микрофлоры толстого кишечника и молекулярно-биохимических показателей крови и колоноцитов мышей в условиях коррекции антиоксидантом эмоксипином

Использование эмоксипина после воспроизведения экспериментального дисбиоза привело к увеличению численности кишечных палочек с нормальной ферментативной активностью в 1,5 раза. Количество эшерихий со сниженной ферментативной активностью снизилось до значений lg КОЕ $4,23 \pm 0,76$, что в 1,7 раза ниже численности определяемых бактерий группы гентамицинового дисбиоза (таблица 18).

Таблица 18 – Влияние антиоксиданта эмоксипина на состав мукозной микрофлоры толстого кишечника мышей

Выделенные микроорганизмы	Количество микроорганизмов, lg КОЕ/г ($M \pm m$)		
	Группы животных		
	Контроль (интактные мыши)	Дисбиоз	Коррекция «Эмоксипин»
<i>E. colic</i> нормальной ферментативной активностью	$6,77 \pm 0,78$	$3,95 \pm 0,53^{**}$	$5,88 \pm 0,72^x$
<i>E. colico</i> сниженной ферментативной активностью	$4,37 \pm 0,76$	$7,03 \pm 0,95^*$	$4,23 \pm 0,76^x$
<i>Enterobacterspp.</i>	$4,47 \pm 0,79$	$2,37 \pm 0,56^*$	$4,32 \pm 0,88$
<i>Salmonella spp.</i>	$5,65 \pm 0,66$	$6,44 \pm 0,86$	$6,54 \pm 0,81$
<i>Citrobacter spp.</i>	$4,37 \pm 0,92$	$0 \pm 0^{***}$	$0 \pm 0^{***}$
<i>Enterococcus spp.</i>	$3,42 \pm 0,90$	$0 \pm 0^{***}$	$1,19 \pm 0,30^{*xxx}$
<i>Streptococcus spp.</i>	$2,93 \pm 0,60$	$6,17 \pm 1,09^*$	$5,79 \pm 0,71^{**}$
<i>Staphylococcus</i> (коагулазоотрицательные)	$2,74 \pm 0,60$	$4,10 \pm 0,75$	$4,38 \pm 0,87$
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	$3,40 \pm 0,62^{***}$	$4,09 \pm 0,62^{***}$
<i>Proteus spp.</i>	0	$4,01 \pm 0,66^{***}$	$4,10 \pm 0,69^{***}$
<i>Candida spp.</i>	$1,26 \pm 0,32$	$4,94 \pm 0,74^{***}$	$5,09 \pm 0,72^{***}$
<i>Lactobacillus spp.</i>	$6,15 \pm 0,70$	$3,73 \pm 0,77^*$	$5,64 \pm 0,84$
<i>Bifidobacterium spp.</i>	$7,93 \pm 0,93$	$4,24 \pm 0,72^{**}$	$5,88 \pm 1,14$

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, ** - $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой, *** - $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой; ^x - $p < 0,05$ по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xx} - $p < 0,01$ по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xxx} - $p < 0,001$ по сравнению с группой «дисбиоз».

Зарегистрировано появление представителей рода *Enterococcus*, lg КОЕ которых составил $1,19 \pm 0,30$, при этом полученные значения не достигли контрольных.

Число стрептококков и грибов рода *Candida* превышало значение контроля и не имело достоверных отличий от группы животных, у которых моделировали дисбиоз. Вместе с тем у мышей опытной группы в составе микробиоценоз толстого кишечника идентифицировались золотистые стафилококки и бактерии рода *Proteus*, отсутствовали представители рода *Citrobacter*.

Не было отмечено статистически значимых количественных различий в популяции бифидо- и лактобактерий, коагулазоотрицательных стафилококков, бактерий рода *Salmonella* и *Enterobacter*.

При коррекции выявленных при экспериментальном дисбиозе изменений состава клеточных эритроцитов антиоксидантом эмоксипином происходит достоверная нормализация содержания всех исследуемых фракций фосфолипидов (таблица 19).

Таблица 19 – Количественные характеристики фосфолипидов мембран эритроцитов крови мышей в условиях коррекции антиоксидантом

Группы животных Фосфолипиды (M±m)	Контроль (интактные мыши)	Дисбиоз	Коррекция «Эмоксипин»
Лизофосфатидилхолин	2,92±0,73	5,97±0,78 ^{**}	2,87±0,32 ^{xxx}
Сфингомиелин	7,23±0,27	11,52±1,09 ^{**}	6,80±0,79 ^{xxx}
Фосфатидилинозитол/серин	16,93±1,19	11,35±0,95 ^{***}	15,89±1,17 ^{xx}
Фосфатидилхолин	14,75±1,01	11,57±1,10 [*]	15,38±1,31 ^x
Кардиолипид	2,51±0,23	1,41±0,17 ^{***}	2,83±0,29 ^{xxx}
Фосфатидилэтаноламин	15,82±0,96	11,28±1,17 ^{**}	16,46±1,10 ^{xx}

Примечание: * - p<0,05 по сравнению с контрольной группой, ** - p<0,01 по сравнению с контрольной группой, *** - p<0,001 по сравнению с контрольной группой; ^x - p<0,05 по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xx} - p<0,01 по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xxx} - p<0,001 по сравнению с группой «дисбиоз».

В сравнении с группой экспериментального дисбиоза количественное содержание фракций ЛФХ и СМ снизилось в 2,1 и 1,7 раза соответственно. Отмечено достоверное повышение содержания КЛ в 2 раза, ФЭ в 1,5 раза, ФИ/ФС в 1,4 раза, ФХ в 1,3 раза. Все числовые показатели исследуемых фракций, за исключением ФИ/ФС, достигли значений контрольной группы.

Анализируя количественные характеристики мембранных нейтральных липидов, следует отметить изменения состава их фракций (таблица 20).

Таблица 20 – Количественные характеристики мембранных нейтральных липидов эритроцитов крови мышей в условиях коррекции антиоксидантом

Группы животных Нейтральные липиды (M±m)	Контроль (интактные мыши)	Дисбиоз	Коррекция «Эмоксипин»
Холестерол	47,27±1,12	55,40±1,17 ^{***}	48,89±1,59 ^{xx}
Моноацилглицеролы	2,89±0,24	3,51±0,40	2,55±0,19 ^x
Диацилглицеролы	2,09±0,24	2,65±0,24	2,51±0,16
Свободные жирные кислоты	1,91±0,18	1,47±0,16	1,78±0,13
Триацилглицеролы	6,79±0,69	9,52±0,84 [*]	7,19±0,67 ^x
Эфиры холестерина	27,75±1,79	38,52±1,84 ^{***}	31,29±1,35 ^{xx}

Примечание: ^{*} - p<0,05 по сравнению с контрольной группой, ^{**} - p<0,01 по сравнению с контрольной группой, ^{***} - p<0,001 по сравнению с контрольной группой; ^x - p<0,05 по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xx} - p<0,01 по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xxx} - p<0,001 по сравнению с группой «дисбиоз».

Выявлено снижение ХС в 1,1 раза, ЭХС в 1,2 раза, ТГ в 1,3 раза и МГ в 1,4 раза в сравнении с группой «экспериментальный дисбиоз». Количественные изменения фракций ДГ и СЖК были ниже уровня достоверности.

Зарегистрировано повышение активности ферментов АОЗ у животных, которым вводился эмоксипин после формирования лекарственного дисбиоза (таблица 21). Отмечено повышение активности фермента каталазы в плазме крови и в ткани кишечника в 1,7 раза и 1,5 раза соответственно.

Таблица 21 – Активность ферментов АОЗ в условиях коррекции антиоксидантом.

Группы животных	Активность каталазы (M±m)		Активность супероксиддисмутазы (M±m)	
	Плазма, мкат/мл	Гомогенат ткани кишечника, мкат/г белка ткани	Плазма, у.е.	Гомогенат ткани кишечника, у.е.
Контроль (интактные мыши)	12,86±0,87	14,11±0,88	14,24±1,03	14,23±1,03
Дисбиоз	10,20±0,78 [*]	10,12±1,62 [*]	11,50±0,77 [*]	7,79±1,22 ^{***}
Коррекция «Эмоксипин»	17,10±1,49 ^{xxx}	14,76±1,15 ^x	16,58±1,21 ^{xxx}	16,15±1,00 ^{xxx}

Примечание: ^{*} - p<0,05 по сравнению с контрольной группой, ^{**} - p<0,01 по сравнению с контрольной группой, ^{***} - p<0,001 по сравнению с контрольной группой; ^x - p<0,05 по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xx} - p<0,01 по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xxx} - p<0,001 по сравнению с группой «дисбиоз».

сравнению с группой «дисбиоз», ^{xx}- p<0,01 по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xxx}- p<0,001 по сравнению с группой «дисбиоз».

Статистически значимое повышение активности фермента СОД обнаружено в плазме и в колоноцитах мышей в 1,4 раза 2 раза соответственно. Важно отметить, что полученные значения активности ферментов АОЗ достигли значений группы контроля(интактные животные).

При определении содержания продуктов ПОЛ было выявлено снижение МДА в плазме крови в 1,6 раза, а в колоноцитах в 2,2 раза по сравнению с показателями группы животных с экспериментальным дисбиозом (таблица 22). Отмечено уменьшение АГП в плазме крови в 1,4 раза и в ткани кишечника в 2,4 раза. Содержание МДА и АГП в колоноцитах, а также АГП в плазме крови не отличались от значений в контрольной группе.

Таблица 22 – Содержание продуктов ПОЛ в условиях коррекции антиоксидантом

Группы животных	Содержание малонового диальдегида, мкмоль/г ткани (M±m)		Содержание ацилгидроперекисей, у.е (M±m)	
	Плазма, мкат/мл	Гомогенат ткани кишечника, мкат/г белка ткани	Плазма, у.е.	Гомогенат ткани кишечника, у.е
Контроль(интактные мыши)	2,46±0,95	3,57±0,57	0,81±0,09	0,31±0,03
Дисбиоз	3,95±0,41 ^{**}	6,82±0,72 ^{***}	1,13±0,07 ^{**}	0,70±0,08 ^{***}
Коррекция «Эмоксипин»	2,49±0,18 ^{xx}	3,08±0,62 ^{xxx}	0,76±0,04 ^{xxx}	0,29±0,03 ^{xxx}

Примечание: * - p<0,05 по сравнению с контрольной группой, ** - p<0,01 по сравнению с контрольной группой, *** - p<0,001 по сравнению с контрольной группой; ^x- p<0,05 по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xx}- p<0,01 по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xxx}- p<0,001 по сравнению с группой «дисбиоз».

Профилактическое использование антиоксиданта эмоксипина привело к появлению в составе кишечного микробиоценоза бактерий рода *Enterococcus*, отсутствующих при лекарственном дисбиозе, тогда как при применении антиоксиданта с целью коррекции изменений качественного и количественного состава муцинового слоя толстого кишечника отмечено

увеличение количества кишечных палочек с нормальной ферментативной активностью, снижение численности эшерихий со сниженной ферментативной активностью, появление энтерококков.

Введение экспериментальным животным эмоксипина до формирования гентамицинового дисбиоза позволило нормализовать изменения в количественном содержании фракций фосфолипидов (ЛФХ, ФИ/ФС, ФХ, КЛ и ФЭ) и нейтральных липидов (ХС, ЭХС). Также вызвало нормализацию активности СОД в кишечнике, но не оказало существенного влияния на активность фермента в плазме крови экспериментальных животных. Повышение активности каталазы обнаружено как в плазме крови, так и в ткани кишечника. Профилактическое применение антиоксиданта снижало концентрацию продуктов перекисного окисления липидов, но полученные значения определяемых показателей не достигли контрольных.

При проведении антиоксидантной терапии эмоксипином с целью коррекции нарушений липидного обмена, вызванных применением антибиотика широкого спектра действия, происходило восстановление количественных показателей всех изученных фракций фосфолипидов мембран эритроцитов и некоторых фракций нейтральных липидов, а именно ХС, ЭХС, МГ и ТГ.

Коррекция эмоксипином изменений активности ферментов АОЗ, выявленных при дисбиозе, вызвала достоверное повышение активности ферментов СОД и каталазы, как в плазме крови, так и в колоноцитах экспериментальных животных. Важно отметить, что полученные данные достигли значений в группе интактных животных. Также отмечена нормализация содержания продуктов ПОЛ (МДА и АГП) в плазме крови и колоноцитах мышей.

Следовательно, использование эмоксипина с целью коррекции изменений молекулярно-биохимических показателей колоноцитов и плазмы крови экспериментальных животных, приводит к повышению адаптивно-компенсаторных возможностей макроорганизма при экспериментальном дисбиозе в большей степени выраженности, нежели применение данного препарата для профилактики.

Таким образом, результаты наших исследований свидетельствуют о том, что эмоксипин не оказывает ингибирующего действия на качественный и количественный состав микробиоценоза толстого кишечника, стабилизирует липидный обмен, уменьшая выраженность мембрано-деструктивных явлений и восстанавливая функциональное состояние клеток крови. Это может быть обусловлено выраженным антиоксидантным, антигипоксическим и мембранопротекторным действием препарата антиоксидантного ряда [35].

ГЛАВА 6

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИСТЕНОЧНОЙ МИКРОФЛОРЫ ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА, МОЛЕКУЛЯРНО-БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ И КОЛОНОЦИТОВ МЫШЕЙ ПРИ КОРРЕКЦИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ДИСБИОЗА ПРОБИОТИКОМ «РИОФЛОРА ИММУНО НЕО» И АНТИОКСИДАНТОМ ЭМОКСИПИНОМ

6.1 Изменения пристеночной микрофлоры толстого кишечника мышей при коррекции экспериментального дисбиоза пробиотиком «РиоФлора Иммуно Нео» и антиоксидантом эмоксипином

Сочетанное применение антиоксиданта эмоксипина и пробиотика «РиоФлора Иммуно Нео» с целью коррекции нарушений качественного и количественного состава микробиоценоза толстого кишечника оказало положительное влияние на представительность мукозной микрофлоры экспериментальных животных.

Одновременное использование вышеупомянутых препаратов привело к увеличению численности облигатных представителей толстокишечного микробиоценоза. Количество бифидобактерий и эшерихий с нормальной ферментативной активностью возросло в 2,1 раза и составило $1g\ 8,89 \pm 0,56$ и $1g\ 8,13 \pm 0,86$ соответственно, а лактобактерий в 2,2 раза и составило $1g\ 8,14 \pm 0,82$ (таблица 27).

Таблица 27 – Влияние пробиотика «РиоФлора Иммуно Нео» и антиоксиданта эмоксипина на состав мукозной микрофлоры толстого кишечника мышей

Выделенные микроорганизмы	Количество микроорганизмов, lgКОЕ/г (M±m)		
	Группы животных		
	Контроль (интактные мыши)	Дисбиоз	Коррекция «Эмоксипин» и «РиоФлора Иммуно Нео»
E. colic нормальной ферментативной активностью	$6,77 \pm 0,78$	$3,95 \pm 0,53^{**}$	$8,13 \pm 0,86^{xxx}$
E. colico сниженной ферментативной активностью	$4,37 \pm 0,76$	$7,03 \pm 0,95^*$	$1,93 \pm 0,51^{*xxx}$
Enterobacterspp.	$4,47 \pm 0,79$	$2,37 \pm 0,56^*$	$7,21 \pm 1,00^{*xxx}$

Salmonella spp.	5,65±0,66	6,44±0,86	4,12±0,73
Citrobacter spp.	4,37±0,92	0±0 ^{***}	4,02±0,89 ^{xxx}
Enterococcus spp.	3,42±0,90	0±0 ^{***}	4,95±0,65 ^{xxx}
Streptococcus spp.	2,93±0,60	6,17±1,09 [*]	3,26±0,67 ^x
Staphylococcus (коагулазоотрицательные)	2,74±0,60	4,10±0,75	2,86±0,56
Staphylococcus aureus	0	3,40±0,62 ^{***}	2,09±0,39 ^{***}
Proteus spp.	0	4,01±0,66 ^{***}	1,07±0,30 ^{***xxx}
Candida spp.	1,26±0,32	4,94±0,74 ^{***}	1,29±0,40 ^{xxx}
Lactobacillus spp.	6,15±0,70	3,73±0,77 [*]	8,14±0,82 ^{xxx}
Bifidobacterium spp.	7,93±0,93	4,24±0,72 ^{**}	8,89±0,56 ^{xxx}

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, ** - $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой, *** - $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой; ^x - $p < 0,05$ по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xx} - $p < 0,01$ по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xxx} - $p < 0,001$ по сравнению с группой «дисбиоз».

Количество кишечных палочек со сниженной ферментативной активностью на фоне терапии пробиотиком и антиоксидантом снизилось в 3,6 раза, что составило $\lg 1,93 \pm 0,51$.

Содержание условно-патогенных микроорганизмов рода Enterobacter повысилось в 3 раза по сравнению с группой «экспериментальный дисбиоз» и составило $\lg 7,21 \pm 1,00$. Важно отметить, что полученные значения достигли значений группы интактных животных.

Численность бактерий рода Proteus после коррекции составила $\lg 1,07 \pm 0,30$ (снизилась в 3,7 раза), но полученные данные были выше контрольных.

Зарегистрировано появление в составе микробиоценоза толстого кишечника представителей родов Citrobacter и Enterococcus, \lg КОЕ которых составил $4,02 \pm 0,89$ и $4,95 \pm 0,65$ соответственно, в результате чего содержание энтерококков достигло значений животных контрольной группы.

Количественный показатель факультативных микроорганизмов рода Streptococcus снизился в 1,9 раза в сравнении с группой «экспериментальный дисбиоз» и составил $\lg 3,26 \pm 0,67$, в результате чего эти показатели достигли значений группы контроля.

Количество грибов рода Candida после введения антиоксиданта и пробиотика уменьшилось в 3,8 раза, \lg КОЕ которых составил $1,29 \pm 0,40$, но полученные данные не достигли контрольных.

Достоверных изменений содержания коагулазоотрицательных, золотистых стафилококков и сальмонелл зарегистрировано не было.

6.2 Изменение молекулярно-биохимических показателей крови и колоноцитов мышей при коррекции экспериментального дисбиоза пробиотиком «РиоФлора Иммуно Нео» и антиоксидантом эмоксипином

После совместного применения антиоксиданта эмоксипина и пробиотика «РиоФлора Иммуно Нео» с целью коррекции экспериментального дисбиоза отмечено достоверное изменение состава всех изученных фосфолипидных фракций мембран эритроцитов экспериментальных животных (таблица 28).

Таблица 28 – Количественные характеристики фосфолипидов мембран эритроцитов крови мышей в условиях экспериментального дисбиоза и его коррекции пробиотиком «РиоФлора Иммуно Нео» и антиоксидантом эмоксипином

Группа животных Фосфолипиды (M±m)	Контроль (интактные мышь)	Дисбиоз	Коррекция «Эмоксипин» и «РиоФлора Иммуно Нео»
Лизофосфатидилхолин	2,92±0,73	5,97±0,78 ^{**}	3,50±0,62 ^x
Сфингомиелин	7,23±0,27	11,52±1,09 ^{**}	7,30±0,93 ^{xx}
Фосфатидилинозитол/серин	16,93±1,19	11,35±0,95 ^{***}	15,04±0,88 ^{xx}
Фосфатидилхолин	14,75±1,01	11,57±1,10 [*]	15,41±0,85 ^x
Кардиолипид	2,51±0,23	1,41±0,17 ^{***}	2,89±0,28 ^{xxx}
Фосфатидилэтаноламин	15,82±0,96	11,28±1,17 ^{**}	15,11±0,86 ^x

Примечание: * - p<0,05 по сравнению с контрольной группой, ** - p<0,01 по сравнению с контрольной группой, *** - p<0,001 по сравнению с контрольной группой; ^x - p<0,05 по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xx} - p<0,01 по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xxx} - p<0,001 по сравнению с группой «дисбиоз».

Количество ЛФХ и СМ снизилось относительно группы «экспериментальный дисбиоз» в 1,7 раза и 1,6 раза соответственно. При этом зарегистрировано увеличение содержания фракций ФИ/ФС, ФХ и ФЭ в 1,3 раза, КЛ – в 2 раза. Контрольных значений достигли только фракции ФХ и КЛ.

Анализируя количественное содержание мембранных нейтральных липидов эритроцитов крови мышей, выявлено достоверное уменьшение фракций ХС в 1,1 раза, ЭХС в 1,3 раза и увеличение количества СЖК в 1,3 раза (таблица 29).

Таблица 29 – Количественные характеристики мембранных нейтральных липидов эритроцитов крови мышей в условиях экспериментального дисбиоза и его коррекции пробиотиком «РиоФлора Иммуно Нео» и антиоксидантом Эмоксипином

Группа животных Нейтральные липиды (M±m)	Контроль (интактные мыши)	Дисбиоз	Коррекция «Эмоксипин» и «РиоФлора Иммуно Нео»
Холестерол	47,27±1,12	55,40±1,17 ^{***}	48,28±0,96 ^{xxx}
Моноацилглицеролы	2,89±0,24	3,51±0,40	2,72±0,28
Диацилглицеролы	2,09±0,24	2,65±0,24	2,68±0,18
Свободные жирные кислоты	1,91±0,18	1,47±0,16	1,86±0,08 ^x
Триацилглицеролы	6,79±0,69	9,52±0,84 [*]	7,64±0,70
Эфиры холестерина	27,75±1,79	38,52±1,84 ^{***}	30,54±1,88 ^{xx}

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, ** - $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой, *** - $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой; ^x - $p < 0,05$ по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xx} - $p < 0,01$ по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xxx} - $p < 0,001$ по сравнению с группой «дисбиоз».

Изменения содержания фракций МГ, ДГ и ТГ были не достоверны.

При коррекции экспериментального дисбиоза антиоксидантом Эмоксипином и пробиотиком «РиоФлора Иммуно Нео» отмечено положительное влияние на состояние антиоксидантной защиты макроорганизма. Активность каталазы в группе животных, которым формировали экспериментальный дисбиоз достоверно возросла: в плазме крови в 1,6 раза и в колоноцитах мышей в 1,3 раза (таблица 30). При этом активность изученного фермента была выше, чем в группе интактных животных.

Таблица 30 – Активность ферментов АОЗ в условиях экспериментального дисбиоза и его коррекции пробиотиком «РиоФлора Иммуно Нео» и антиоксидантом эмоксипином

Группы животных	Активность каталазы (M±m)		Активность супероксиддисмутазы (M±m)	
	Плазма, мкат/мл	Гомогенат ткани кишечника, мкат/г белка ткани	Плазма, у.е.	Гомогенат ткани кишечника, у.е
Контроль (интактные мыши)	12,86±0,87	14,11±0,88	14,24±1,03	14,23±1,03
Дисбиоз	10,20±0,78*	10,12±1,62*	11,50±0,77*	7,79±1,22***
Коррекция «Эмоксипин» и «РиоФлора Иммуно Нео»	15,93±1,18 ^{xxx}	17,92±0,90 ^{**xxx}	16,63±1,06 ^{xxx}	19,99±0,92 ^{***xxx}

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, ** - $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой, *** - $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой; ^x - $p < 0,05$ по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xx} - $p < 0,01$ по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xxx} - $p < 0,001$ по сравнению с группой «дисбиоз».

Активность СОД возросла и достигла значений группы интактных мышей в плазме крови и гомогенате ткани кишечника в 1,2 и 1,4 раза соответственно.

Анализируя количественное содержание продуктов ПОЛ, полученное после коррекции дисбиоза антиоксидантом эмоксипином и пробиотиком «РиоФлора Иммуно Нео» было выявлено, что содержание МДА в плазме крови и ткани кишечника достоверно снизилось в 1,7 и 1,6 раза соответственно по сравнению с группой экспериментального дисбиоза (таблица 31).

Таблица 31 – Содержание продуктов ПОЛ в условиях экспериментального дисбиоза и его коррекции пробиотиком «РиоФлора Иммуно Нео» и антиоксидантом эмоксипином»

Группы животных	Содержание малонового диальдегида, мкмоль/г ткани (M±m)		Содержание ацилгидроперекисей, у.е (M±m)	
	Плазма, мкат/мл	Гомогенат ткани кишечника, мкат/г белка ткани	Плазма, у.е.	Гомогенат ткани кишечника, у.е
Контроль (интактные мыши)	2,46±0,95	3,57±0,57	0,81±0,09	0,31±0,03

Дисбиоз	3,95±0,41**	6,82±0,72***	1,13±0,07**	0,70±0,08***
Коррекция «Эмоксипин» и «РиоФлора Иммуно Нео»	2,36±0,38 ^{xx}	2,21±0,34 ^{xxx}	0,71±0,16 ^x	0,23±0,06 ^{xxx}

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, ** - $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой, *** - $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой; ^x - $p < 0,05$ по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xx} - $p < 0,01$ по сравнению с группой «дисбиоз», ^{xxx} - $p < 0,001$ по сравнению с группой «дисбиоз».

Содержание АГП уменьшилось: в плазме крови в 1,6 раза, а в колоноцитах мышей в 3 раза. Количественный показатель содержания продуктов ПОЛ (МДА и АГП) после применения вышеуказанных препаратов достиг значений, полученных в группе интактных животных.

Сочетанное применение пробиотика «РиоФлора Иммуно Нео» и антиоксиданта эмоксипина с целью коррекции изменений микробиоценоза толстого кишечника привело к увеличению количества лакто- и бифидобактерий, кишечных палочек с нормальной ферментативной активностью, микроорганизмов родов *Enterobacter*, появлению бактерий родов *Citrobacter* и *Enterococcus*, а также снижению численности стрептококков, эшерихий со сниженной ферментативной активностью, протей и грибов рода *Candida*.

В то же время применение антиоксиданта и пробиотика оказало положительное влияние на состав липидных фракций фосфолипидов, о чем свидетельствует снижение фракций ЛФХ и СМ, увеличение содержания ФИ/ФС, ФХ, ФЭ и КЛ. Отмечено изменение количественного содержания нейтральных липидов мембран эритроцитов после сочетанной коррекции, а именно уменьшение ХС, ЭХС и увеличение СЖК.

Анализируя активность ферментов системы АОЗ плазмы крови и колоноцитов экспериментальных животных, было выявлено, что одновременное использование антиоксиданта эмоксипина и пробиотика «РиоФлора Иммуно Нео» привело к возрастанию активности изученных ферментов (каталаза и СОД), о чем свидетельствует повышение цифровых значений определяемых показателей по сравнению с группой «экспериментальный дисбиоз».

Содержание продуктов ПОЛ (МДА и АГП) после применения антиоксиданта и пробиотика снизилось и достигло значений интактных животных как в плазме, так и в колоноцитах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Известно, что микробные популяции кожи, слизистых оболочек, кишечника в норме выступают в роли симбионтов или сапрофитов, находясь в экологическом равновесии с организмом хозяина [142]. Однако, загрязнение окружающей среды, накопление в ней разнообразных по механизму действия ксенобиотиков приводят к нарушению эволюционно сложившегося равновесия между организмом и населяющей его микрофлорой, к изменению эндоэкологического статуса, включая состав и функциональную активность микрофлоры [25]. Кроме того, широкое использование в практической медицине различных групп лекарственных средств способствует развитию дисбиотических состояний [13].

Воздействие различных химических веществ на клетки микро- и макроорганизма приводит к изменению их метаболической активности, что проявляется в том числе и в накоплении продуктов перекисного окисления липидов и нарушении скоординированной работы системы антиоксидантной защиты организма, которая обеспечивает регуляцию процессов ПОЛ, уровня активных форм кислорода, являющихся повреждающими факторами [1, 11].

С учетом развития патологических состояний в структуре биомембран и антиоксидантной защите макроорганизма и было выполнено наше исследование.

Изучение характера мукозной микрофлоры толстого кишечника экспериментальных животных, получавших антибиотик широкого спектра действия гентамицин, позволило нам установить существенные изменения в составе микробиоценоза толстокишечника. В частности, зарегистрировано снижение численности облигатных представителей пристеночного микробиоценоза: бифидобактерий в 1,9 раза, лактобактерий в 1,7 раза. Отмечено увеличение цифрового значения Ig КОЕ эшерихий со сниженной ферментативной активностью (в 1,6 раза). В тоже время численность кишечных палочек с нормальной ферментативной активностью снизилась в 1,7 раза. Зарегистрированы изменения в количественном составе представителей факультативной микрофлоры, о чем свидетельствовало уменьшение бактерий рода *Enterobacter* в

1,9 раза по отношению к контрольной группе. Lg КОЕ стрептококков увеличился в 2,1 раза. В кишечном микробиоценозе данной экспериментальной группы не выявлено микроорганизмов рода *Citrobacter* и *Enterococcus*, при этом зарегистрировано появление золотистых стафилококков и бактерий рода *Proteus*, значения определяемого показателя которых составили $3,40 \pm 0,62$ и $1g\ 4,01 \pm 0,66$ соответственно. В микробной популяции толстого кишечника мышей в 3,9 раза увеличилось количество КОЕ грибов рода *Candida*.

В связи с тем, что практически любая патология макроорганизма реализуется на клеточном уровне, а мембранное построение – универсальным для всех клеток, возможно полагать, что нарушения в структуре цитоплазматических и внутриклеточных биомембран являются общими патогенетическими элементами любого болезненного процесса [99]. В связи с этим целесообразным представлялось изучение липидного состава клеточных мембран эритроцитов экспериментальных животных.

Так, в мембранах эритроцитов при экспериментальном дисбиозе кишечника происходило уменьшение содержания ФХ и ФЭ. Одной из возможных причин уменьшения количества ФЭ с $15,82 \pm 0,96$ до $11,28 \pm 1,17$ является вероятность его превращения в ФХ путем метилирования, хотя не исключен и вариант усиления гидролиза фосфолипазой А2 (ФЭ содержит более 50% всей арахидоновой кислоты ФЛ мембран эритроцитов) [134]. Обеднение эритроцитов ФХ (снижение в 1,3 раза), формирующим внешнюю оболочку липидного матрикса клетки свидетельствует о дезинтеграции мембранных структур, а это как известно приводит к ослаблению антиоксидантной защиты клеточных мембран и завершается их деструкцией [24].

В условиях активного течения свободнорадикальных процессов уменьшается количество фосфолипидов, имеющих в своем составе полиненасыщенные жирные кислоты [19], об этом свидетельствует снижение количества ФИ/ФС с $16,93 \pm 1,19$ до $11,35 \pm 0,95$.

Отмечено увеличение в 1,6 раза фракции СМ, которая не подвергается действию фосфолипаз и, возможно, замещает ФХ, что в определенной степени

направлено на сохранение структурной целостности эритроцитарной мембраны [28].

Известно, что нарушение нормального количественного соотношения отдельных фракций фосфолипидов приводит к дестабилизации липидных структур клеточных мембран. Одним из механизмов подобных изменений может быть активация эндогенной фосфолипазы А2. Доказательством этого процесса является накопление специфического маркера мембранодеструкции ЛФХ [77]. Увеличение ЛФХ в 2 раза, обладающего мембранотоксическим действием, может способствовать разрыхлению гидрофобной области липидного слоя мембран эритроцитов, а снижение общего содержания фосфолипидов в мембране эритроцитов является одним из признаков их старения [21, 193].

При изучении состава нейтральных липидов мембран эритроцитов отмечено увеличение содержания фракции ЭХС и ТГ в 1,4 раза, а ХС в 1,2 раза. Известно, что повышенный уровень ХС и ЭХС может уменьшать подвижность жирных кислот, снижать латеральную диффузию липидов и белков [29].

Анализ результатов исследования показал, что после формирования экспериментального дисбиоза происходят изменения активности ферментов антиоксидантной защиты макроорганизма. У мышей, которым формировали экспериментальный дисбиоз было выявлено снижение активности этих ферментов как в плазме, так и в колоноцитах. Цифровые значения показателя СОД в плазме крови уменьшились в 1,2 раза, каталазы в 1,3 раза соответственно, а в колоноцитах в 1,8 раза и 1,4 раза по сравнению с контрольной группой. Важно отметить, что в ткани толстого кишечника выявленные нарушения были выражены интенсивнее, чем в плазме крови. Данный факт служит очередным подтверждением существующих взглядов о том, что состояние колоноцитов является отражением развития дисбиоза кишечника. При этом негативное влияние на ткань толстого кишечника оказывает как сам антибиотик, так и изменившийся в результате развития дисбиоза качественный и количественный состав микробиоты [149].

Отмеченное нами увеличение в результате развития дисбиоза численности стрептококков, золотистых стафилококков, протей, грибов рода *Candida* возможно и привело к повышению концентрации продуктов перекисного окисления липидов, что не противоречит данным литературы описывающим тот факт, что в зоне обитания микроорганизмов происходит накопление химических веществ – метаболитов их жизнедеятельности [18]. Повышенный уровень этих продуктов, в свою очередь, способен интенсифицировать продукцию активных форм кислорода, являющихся токсичными для окружающих клеток, и, активизируя свободнорадикальное окисление, нарушать целостность биологических мембран, что отражается на антиоксидантном статусе макроорганизма и нарушает его гомеостаз [46]. Данные, полученные в ходе нашего исследования подтверждают вышеизложенное. Содержание МДА в плазме крови увеличилось в 1,6 раза, а в колоноцитах в 1,9 раза, содержание АГП в плазме крови увеличилось в 1,4 раза, в ткани кишечника в 2,3 раза относительно контрольных значений.

Анализ полученных результатов позволяет нам подытожить, что высокое содержание условно-патогенных микроорганизмов, продуцирующих токсические продукты их метаболизма в микробиоценозе толстого кишечника, сочетается с развитием кризисного состояния системы АОЗ.

Для коррекции выявленных изменений качественного и количественного состава мукозной микрофлоры толстого кишечника в условиях экспериментального дисбиоза использовались пробиотики «РиоФлора Иммуно Нео» и «Бифиформ».

Применение пробиотика «Бифиформ» приводило к нормализации содержания 7 из 11 разбалансированных представителей микрофлоры в результате применения гентамицина, а коррекция пробиотиком «РиоФлора Иммуно Нео» привела к нормализации 10 из 11 разбалансированных представителей микрофлоры толстого кишечника экспериментальных животных.

Использование пробиотиков «РиоФлора Иммуно Нео» и «Бифиформ» для коррекции патологических состояний, вызванных воздействием антибиотика не

оказала достоверного влияния на количественный состав фосфо- и нейтральных липидов мембран эритроцитов мышей.

При применении пробиотика «РиоФлора Иммуно Нео» отмечено увеличение активности СОД в колоноцитах животных в 1,6 раза, что может быть результатом восстановления микробного равновесия в биоценозе кишечника. Применение пробиотика «Бифиформ» не оказало влияния на активность каталазы и СОД в плазме и колоноцитах экспериментальных животных.

Выполненные исследования показали, что применение пробиотиков стабилизировало содержание МДА в ткани кишечника. Так использование «РиоФлора Иммуно Нео» привело к снижению изучаемого показателя в 2,1 раза, а применение «Бифиформ» в 2 раза соответственно. Данные факты могут быть обусловлены составом микроорганизмов, входящих в используемый препарат и являться следствием нормализации состава кишечного микробиоценоза.

Выявленные изменения в состоянии прооксидантно-антиоксидантной системы макроорганизма при лекарственном дисбиозе позволяют предположить, что использование только пробиотических препаратов для коррекции выявленных патологических состояний является недостаточным. При этом рациональным дополнением могут являться препараты группы антиоксидантов. В связи с этим нами был выбран препарат эмоксипин, эффективность действия которого изучалась до и после формирования экспериментального дисбиоза.

Профилактическое применение антиоксиданта эмоксипина привело к качественному восстановлению в составе микробиоценоза толстого кишечника микроорганизмов рода *Enterococcus*, отсутствующих в группе животных «экспериментальный дисбиоз».

При этом зарегистрированы изменения в количественном составе липидных фракций мембран эритроцитов (фосфо- и нейтральных липидов). Отмечено снижение содержания фракции ЛФХ в 1,6, увеличение фракции ФИ/ФС в 1,4 раза по сравнению с группой «дисбиоз». ФХ и ФЭ увеличились в 1,3 раза, а КЛ в 1,5 раза в сравнении с группой экспериментального дисбиоза. В спектре нейтральных

липидов выявлено снижение содержания фракций ХС и ЭХС в 1,1 и 1,2 раза соответственно в сравнении с группой лекарственного дисбиоза.

Профилактическое использование антиоксиданта привело к нормализации активности фермента СОД. Количественное значение определяемого показателя увеличилось в 1,9 раза только в ткани толстого кишечника экспериментальных животных. При этом активности каталазы повышалась как в плазме крови, так и в колоноцитах в 1,3 раза и 1,4 раза соответственно, а содержание продуктов перекисного окисления липидов снижалось. Зарегистрировано снижение МДА и АГП в плазме крови (в 1,4 раза и 1,2 раза) и ткани кишечника (в 1,4 раза и 1,7 раза). Однако, полученные значения соответствующих показателей не достигали группы контрольных животных.

Использование антиоксиданта эмоксипина после формирования экспериментального гентамицинового дисбиоза привело к увеличению в 1,5 раза численности кишечных палочек с нормальной ферментативной активностью, снижению количества эшерихий со сниженной ферментативной активностью в 1,7 раза и появлению представителей бактерий рода *Enterococcus*, но полученные значения определяемого показателя не достигли контрольных.

При использовании эмоксипина в качестве антиоксидантной терапии нарушений липидного обмена, вызванных применением гентамицина, происходило восстановление количественных показателей всех изученных фракций фосфолипидов мембран эритроцитов и фракций нейтральных липидов, за исключением ДГ и СЖК.

Отмечено повышение активности ферментов СОД и каталазы как в плазме крови, так и в колоноцитах экспериментальных животных. Количественное значение определяемого показателя в плазме крови увеличилось в 1,4 раза и в 1,7 раза, а в колоноцитах в 2 раза и 1,5 раза соответственно. При этом полученные значения достигли контрольных. Отмечена стабилизация содержания продуктов ПОЛ в плазме крови и ткани кишечника. Выявлено снижение содержания МДА в плазме крови (в 1,6 раза), в колоноцитах (в 2,2 раза) и уменьшение АГП в плазме крови в 1,4 раза, в ткани кишечника в 2,4 раза.

Использование антиоксиданта эмоксипина с целью профилактики и коррекции нарушений показателей активности антиоксидантной системы колоноцитов и плазмы крови оказало выраженного влияния на изменение количественного и качественного состава мукозной микрофлоры толстого кишечника, однако способствовало повышению адаптивно-компенсаторных возможностей клеток макроорганизма при экспериментальном дисбиозе, что может быть обусловлено выраженным антиоксидантным, антигипоксическим и мембранопротекторным действием препарата [5, 35].

Сочетанное использование выбранного нами пробиотика «РиоФлора Иммуно Нео» и антиоксиданта эмоксипина с целью коррекции изменений микробиоценоза толстого кишечника привело к увеличению количества лакто- и бифидобактерий, кишечных палочек с нормальной ферментативной активностью, энтеробактерий, микроорганизмов родов *Citrobacter* и *Enterococcus*, а также к снижению численности стрептококков, эшерихий со сниженной ферментативной активностью, протей и грибов рода *Candida*.

Сочетанное применение антиоксиданта и пробиотика оказало положительное влияние на состав липидных фракций мембран эритроцитов. Так, было отмечено снижение фракций ЛФХ и СМ, а также увеличение содержания ФИ/ФС, ФХ, ФЭ и КЛ. Выявлено уменьшение содержания фракций нейтральных липидов ХС, ЭХС и увеличение СЖК.

По результатам анализа влияния антиоксиданта эмоксипина и пробиотика «РиоФлора Иммуно Нео» на активность ферментов системы АОЗ (каталазы и СОД) плазмы крови и колоноцитов экспериментальных животных выявлено повышение активности каталазы и СОД в плазме крови и колоноцитах.

Проведенные исследования показали, что одновременное применение антиоксиданта и пробиотика привело к снижению содержания продуктов ПОЛ (МДА и АГП) как в плазме крови, так и колоноцитах. Цифровые значения определяемых показателей в данной группе экспериментальных животных достигли значений группы контроля.

В целом, результаты исследования позволяют заключить, что при попадании в макроорганизм ксенобиотиков, в том числе антибиотика широкого спектра действия, нарушаются механизмы колонизационной резистентности микроорганизмов, которые вызывают значительные изменения качественного и количественного состава микробиоценоза толстого кишечника. Действие антибиотика и продуктов жизнедеятельности микроорганизмов на колоноциты приводит к накоплению свободных радикалов, что отражается в усилении процессов перекисного окисления липидов и истощении антиоксидантной защиты макроорганизма. Наряду с этим происходит повреждение эпителиальных клеток толстого кишечника, нарушается структура биомембран, повышается проницаемость колоноцитов и нарушается их барьерная функция, что приводит к поступлению во внутреннюю среду организматоксичных продуктов жизнедеятельности бактерий. Таким образом, происходит взаимное потенцирование негативных эффектов воздействия гентамицина и токсических веществ, образующихся в результате разрушения микроорганизмов, что приводит не только к изменению качественного и количественного состава микробиоценоза толстого кишечника, но и к изменению молекулярно-биохимических показателей плазмы крови и колоноцитов экспериментальных животных.

В выполненных нами исследованиях показан положительный эффект сочетанного одновременного использования препарата антиоксидантного ряда эмоксипина и пробиотика «РиоФлора Иммуно Нео» с целью коррекции выявленных нарушений. Эффективность такого типа коррекции может объясняться тем, что препарат антиоксидантного ряда эмоксипина, ингибируя процессы образования свободных радикалов, стабилизирует клеточные мембраны, усиливает регенерационный потенциал и восстанавливает биологические функции колоноцитов, создавая благоприятные условия для нормализации качественного и количественного состава мукозной микрофлоры толстого кишечника пробиотиком «РиоФлора Иммуно Нео».

ВЫВОДЫ

1. При экспериментальном дисбиозе, обусловленном применением гентамицина, изменение состава кишечной микрофлоры характеризуется снижением количества бифидо-, лакто-, бактерий рода *Enterobacter*, кишечных палочек с нормальной ферментативной активностью, отсутствием представителей родов *Citrobacter* и *Enterococcus*, увеличением численности эшерихий со сниженной ферментативной активностью, стрептококков, грибов рода *Candida*; появлением в составе микробиоценоза золотистых стафилококков и протей.

2. У животных с экспериментальным дисбиозом выявлены изменения липидного состава клеточных мембран эритроцитов крови мышей: в составе фосфолипидов отмечено увеличение содержания фракций ЛФХ и СМ, снижение фракций КЛ, ФИ/ФС, ФЭ и ФХ. В составе нейтральных липидов увеличилось содержание фракции ЭХС, ТГ и ХС.

3. Лекарственный дисбиоз характеризуется существенным снижением ферментативной активности системы АОЗ (каталазы и СОД) как в плазме крови, так и в колоноцитах. При этом нарушения в антиоксидантной защите эпителиоидных клеток кишечника выражены интенсивнее, чем в плазме крови, что указывает на нарушение адаптационно-компенсаторных механизмов антиоксидантной защиты на местном уровне.

4. В условиях лекарственного дисбиоза, характеризующегося увеличением численности представителей факультативной микрофлоры толстого кишечника выявлено увеличение содержания продуктов ПОЛ (МДА, АГП) в плазме крови и ткани кишечника. В колоноцитах животных данные изменения выражены интенсивнее, что обусловлено действием как самого антибиотика, так и количественным и качественным изменением состава нормобиоценоза.

5. Наиболее выраженным корригирующим эффектом в отношении восстановления нормобиоценоза кишечника и молекулярно-биохимических показателей колоноцитов животных обладает пробиотик «РиоФлора Иммуно Нео».

6. Использование антиоксиданта эмоксипинане приводит к полному восстановлению количественного и качественного состава микробиоценоза толстого кишечника, однако повышает адаптивно-компенсаторные возможности макроорганизма при экспериментальном дисбиозе.

7. Сочетанное использование пробиотика «РиоФлора Иммуно Нео» и антиоксиданта эмоксипинавосстанавливает состав микробиоценоза муцинового слоя толстого кишечника, липидный состав мембран эритроцитов, повышает активность ферментов системы АОЗ, снижает содержание продуктов ПОЛ в плазме крови и колоноцитах экспериментальных животных.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При длительном использовании ксенобиотиков рекомендуется на ряду с проведением исследований на выявление количественного и качественного изменения состава микробиоценоза толстого кишечника проводить изучение состояния прооксидантно-антиоксидантного статуса макроорганизма: активность ферментов, обеспечивающих антиоксидантную защиту (каталаза и СОД), содержание продуктов ПОЛ (МДА и АГП), липидный состав мембран эритроцитов.

2. При нарушении состава микробиоценоза толстого кишечника и молекулярно-биохимических показателей макроорганизма рекомендуется сочетанное использование препаратов групп пробиотиков и антиоксидантов.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Дальнейшая разработка темы возможна в направлении изучения изменений морфологической структуры слизистой оболочки толстого кишечника под воздействием ксенобиотиков.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамченко, В.В. Антиоксиданты и антигипоксанты в акушерстве / В.В. Абрамченко. – СПб. : ДЕАН, 2001. – 400 с.
2. Алесковский, В.Б. Физико-химические методы анализа : практ. рук. / В.Б. Алесковский, В.В. Бардин, М.И. Булатов. – Л. : Химия, 1988. – 376 с.
3. Антигипоксант прямого действия энергостим в лечении ОИМ / Н.А. Андриадзе [и др.] // Рос.мед. вести. – 2001. – № 2. – С. 31-42.
4. Антиоксидантная терапия в комплексном лечении пародонтита / П.В. Иванов [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2008. – № 11. – С. 23-27.
5. Антиоксидантные свойства производных 3-оксипиридина: мексидола, эмоксипина, проксипина / Г.И. Клебанов [и др.] // Вопр. мед.химии. – 2001. – Т. 47, № 3. – С. 288-300.
6. Ардатская, М.Д. Дисбактериоз кишечника: современные аспекты изучения проблемы, принципы диагностики и лечения / М.Д. Ардатская, А.В. Дубинин, О.Н. Минушкин // Терапевт.арх. – 2001. – № 2. – С. 67-72.
7. Байсханова, Д.М. Биологически активные продукты на основе пробиотических культур и растительных экстрактов / Д.М. Байсханова, Р.Т. Омаров // Биотехнология. Теория и практика. – 2012. – № 2. – С. 27-34.
8. Балаболкин, М.И. Роль окислительного стресса в патогенезе сосудистых осложнений диабета / М.И. Балаболкин, Е.М. Клебанова // Проблемы эндокринологии. – 2000. – Т. 46, № 6. – С. 29-34.
9. Балыкова, Т.А. Влияние мексидола на эффективность традиционной терапии синдрома слабости синусового узла у подростков / Т.А. Балыкова // Эксперим. и клин.фармакология. – 2003. – № 5. – С. 25-27.
10. Барановский, А.Ю. Дисбактериоз и дисбиоз кишечника / А.Ю. Барановский, Э.Ю. Кондрашина. – СПб. : Питер, 2002. – 224 с.
11. Бекбосынова, Б.А. Рациональная терапия дисбактериоза / Б.А. Бекбосынова // Здоровье и болезнь. – 2012 – № 6. – С. 24-28.

12. Белки и липиды мембраны эритроцитов при хроническом простатите; возможности фармакологической коррекции нарушений / А.И. Конопля [и др.] // Курск. науч.-практ. вестн. "Человек и его здоровье". – 2011. – № 4. – С. 166-169.
13. Бельмер С.В. Антибиотик-ассоциированный дисбактериоз кишечника / С.В. Бельмер // РМЖ. – 2004, – Т. 12, № 3, С. 148-151.
14. Бельмер, С.В. Дисбактериоз кишечника и роль пробиотиков в его коррекции / С.В. Бельмер, А.В. Малоч // Лечащий Врач. – 2006. – № 6. – С. 18-23.
15. Блат, С.Ф. Микробиоценоз кишечника и иммунитет / С.Ф. Блат, А.И. Хавкин // Рос. вестн. перинатологии и педиатрии. – 2011. – Т. 56, № 1. – С. 66-71.
16. Бобынцева, О.В. Количественное содержание липидов и белков клеточных мембран эритроцитов и их корреляционные взаимосвязи у человека : дис. ... канд. биолог. наук : 03.00.04 / О.В. Бобынцева. – Курск, 2006. – 166 с.
17. Богданова, Е.А. Исследование пристеночной микрофлоры желудочно-кишечного тракта крыс при пероральном введении пробиотических препаратов / Е.А. Богданова, Ю.В. Несвижский, А.А. Воробьев // Вестн. РАМН. – 2006. – № 2. – С. 6-10.
18. Бойцов, А.Г. Дисбиотические нарушения микрофлоры толстого кишечника: проблемы диагностики и коррекции / А.Г. Бойцов, Л.Ю. Нилова, Е.А. Оришак // Вестн. Санкт-Петерб. гос. мед.акад. им. И.И. Мечникова. – 2008. – № 3 (28). – С. 120-123.
19. Болдырев, А.А. Биомембранология / А.А. Болдырев, Е.И. Кяйвярайнен, В.А. Илюха. – Петрозаводск : Изд-во КарНЦ РАН, 2006. – 226 с.
20. Бондаренко, В.М. Дисбиозы и препараты с пробиотической функцией / В.М. Бондаренко, А.А. Воробьев // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2004. – № 1. – С. 84-92.
21. Бондаренко, В.М. Дисбиотические состояния и лечебные мероприятия при них / В.М. Бондаренко, Р.М. Грачева // Вестн. РАМН. – 2005. – № 12. – С. 23-29.

22. Васильева, Е.М. Биохимические особенности эритроцита. Влияние патологии (обзор литературы) / Е.М. Васильева // Биомед. химия. – 2005. – Т. 51, № 2. – С. 118-126.
23. Вельтищев, Ю.Е. Актуальные направления научных исследований в педиатрии / Ю.Е. Вельтищев // Рос.вестн. перинатологии и педиатрии. – 2003. – Т. 48, № 1. – С. 5-11.
24. Владимиров, Ю.А. Активные формы кислорода и азота: значение для диагностики, профилактики и терапии / Ю.А. Владимиров // Биохимия. – 2004. – Т. 69, № 1. – С. 5-7.
25. Воеводин, Д.А. Дисбактериоз и иммунопатологический процесс / Д.А. Воеводин, Г.Н. Розанова, М.А. Стенин // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2005. – № 2. – С. 89-92.
26. Воробьев, А.А. Анализ штаммовой общности пристеночных биотопов желудочно-кишечного тракта / А.А. Воробьев, Ю.В. Несвижский, Е.А. Богданова // Вестн. РАМН. – 2004. – № 6. – С. 15-18.
27. Воробьев, А.А. Мир микробов / А.А. Воробьев, А.Л. Гинцбург, В.М. Бондаренко // Вестн. РАМН. – 2000. – № 11. – С. 11-14.
28. Вязова, А.В. Фосфолипиды мембран эритроцитов у больных хроническим бронхитом, сочетанным с уролитиазом / А.В. Вязова // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 2006. – № 1. – С. 14-15.
29. Гаврилюк, В.П. Структурно-функциональные нарушения эритроцитов и их коррекция у больных с легким и тяжелым течением острого панкреатита / В.П. Гаврилюк, П.М. Назаренко, А.И. Конопля // Курск. науч.-практ. вестн. «Человек и его здоровье». – 2007. – № 3. – С. 29-37.
30. Газарян, И.Г. Особенности структуры и механизма действия пероксидаз растений / И.Г. Газарян, Д.М. Хушпульян, В.И. Тишков // Успехи биолог.химии. – 2006. – Т. 46. – С. 303-322.
31. Глушанова, Н.А. Взаимоотношения пробиотических и индигенных лактобацилл хозяина в условиях совместного культивирования *in vitro* / Н.А.

Глушанова, Б.А. Шендеров // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.. – 2005. – № 2. – С. 56-61.

32. Григорьев, А.В. Желудочно-кишечный тракт как среда обитания бактерий. Раздел 1. Морфология желудочно-кишечного бактериального биотопа : пособие для врачей и научных работников. —/ А.В. Григорьев. – М. : СИЛМА, 2004. – 123 с.

33. Данилова, Л.Г. Липидный обмен и антиоксиданты / Л.Г. Данилова // Междунар. журн. прикладных и фундаментальных исследований. – 2013. – № 10-1. – С. 92

34. Дисбактериоз кишечника : рук.по диагностике и лечению / под ред. Е.И. Ткаченко, А.Н. Суворова. – СПб. : Спецлит, 2007. – 238 с.

35. Доровских, В.А. Эмоксипин в клинике и эксперименте / В.А. Доровских. – Благовещенск : Полисфера, 2005. – 246 с.

36. Друзья или враги. Активные формы кислорода и азота/ Д.Б. Зоров [и др.] // Биохимия. – 2005. – Т. 70, № 2. – С. 265-272.

37. Душкин, М.И. Резистентность к окислению гепаринрезистентных В-липопротеидов сыворотки крови при ишемической болезни сердца / М.И. Душкин // Клин.лаб. диагностика. – 1998. – № 11. – С. 3-5.

38. Ермоленко, Е.И. Антимикробное действие лактобацилл / Е.И. Ермоленко, О.В. Рыбальченко // Медицина XXI век. – 2007. – № 5 – С. 41-48.

39. Ефимов, Б.А. Микрoэкология кишечника человека, коррекция микрофлоры при дисбиотических состояниях : автореф. дис. ... д-ра мед.наук : 03.00.07 / Б.А. Ефимов. – М., 2005. – 48 с.

40. Журавлев, А. И. Антиоксиданты. Свободнорадикальная патология : учеб.пособие для вузов / А.И. Журавлев, С.М. Зубкова. – М., 2008. – 272 с.: 68 ил.

41. Журавлёв, А.И. Антиоксиданты. Свободнорадикальная патология, старение : учеб.пособие / А.И. Журавлёв, С.М. Зубкова. – 2-е изд., испр. и доп. – М. : Белые альвы, 2014. – 304 с.

42. Завгородняя, Е.Ф. Дисбактериоз кишечника (обзор) / Е.Ф. Завгородняя // Дальневост. журн. инфекц. патологии. – 2010. – № 16. – С. 131-141.

43. Завгородняя, Е.Ф. Количественно-качественный состав нормальной микрофлоры толстого отдела кишечника / Е.Ф. Завгородняя // Дальневост. журн. инфекц. патологии. – 2009. – № 14. – С. 140-145.
44. Завгородняя, Е.Ф. Особенности микробиологической характеристики дисбиозов кишечника в современных условиях / Е.Ф. Завгородняя, Л.А. // Дальневост. журн. инфекц. патологии. – 2008. – № 12. – С. 161-162.
45. Зайцев, В.Г. Модельные системы перекисного окисления липидов и их применение для оценки антиоксидантного действия лекарственных препаратов : автореф. дис. ... канд. биолог. наук : 14.00.25, 03.00.04 / В.Г. Зайцев. – Волгоград, 2001. – 23 с.
46. Зенков, Н.К. Окислительный стресс: биохимические и патофизиологические аспекты / Н.К. Зенков, В.З. Ланкин, Е.Б. Меньщикова. – М. : Наука/Интерпериодика, 2001. – 343 с.
47. Зозуля, Ю.А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга / Ю.А. Зозуля, В.А. Барабой, Д.А. Сутковой. – М. : Знание-М, 2000. – С. 70-78.
48. Зражевская, С.Г. Применение эмоксипина в комплексной терапии гестоза : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.01/ С.Г. Зражевская. – Иркутск, 2001. – 22 с.
49. Иванова, Е.В. Биологические свойства бифидобактерий и их взаимодействие с микросимбионтами кишечной микрофлоры человека : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 03.02.03 / Е.В. Иванова. – Оренбург, 2010. – 22 с.
50. Изменение прооксидантно-антиоксидантного баланса при хронической интоксикации банколом и эффективность профилактических мероприятий с применением мексидола / В.А. Королев [и др.] // Курск. науч.-практ. вестн. «Человек и его здоровье». – 2014. – № 2. – С. 19-22.
51. Изучение состояния пристеночной микрофлоры и стенки толстой кишки мышей под воздействием аномального магнитного поля / О.А. Медведева [и др.] // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2012. – № 1. – С. 49-54.

52. Ильин, В.К. Колонизационная резистентность организма в измененных условиях обитания / В.К. Ильин, А.И. Воложин, Г.В. Виха. – М. : Наука, 2005. – 273 с.

53. Ильина, Т.С. Биопленки как способ существования бактерий в окружающей среде и организме хозяина: феномен, генетический контроль и системы регуляции и развития / Т.С. Ильина, Ю.М. Романова, А.Л. Гинцбург // Генетика. – 2004. – Т. 40, № 11. – С. 1445-1456.

54. Искра, Р.Я. Влияние хлорида хрома на перекисное окисление липидов и активность антиоксидантной защиты в тканях крыс / Р.Я. Искра, В.Г. Янович // Биомед. химия. – 2012. – Т. 58, № 4. – С. 418-428.

55. Исследование пристеночной микрофлоры кишечника крыс / А.А. Воробьев [и др.] // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2005. – № 3. – С. 61-65.

56. Ишутина, Н.А. Фракционный состав фосфолипидов мембран эритроцитов у беременных с бронхиальной астмой / Н.А. Ишутина, Н.Н. Дорофиенко, С.М. Болелова // Бюл. физиологии и патологии дыхания. – 2009. – № 31. – С. 60-62.

57. Казимирко, В.К. Антиоксидантная система и её функционирование в организме человека / В.К. Казимирко, В.И. Мальцев // Здоровье Украины. – 2007. – № 162. – С. 28-32.

58. Капелько, В.И. Активные формы кислорода, антиоксиданты и профилактика заболеваний сердца / В.И. Капелько // РМЖ. – 2003. – Т. 11, № 21. – С. 1185-1189.

59. Караман, Ю.К. Особенности состава фосфолипидов эритроцитов и состояние редокс-системы глутатиона у крыс при адаптации к гиперхолестериновой нагрузке / Ю.К. Караман, Т.П. Новгородцева, Н.В. Жукова // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2010. – Т. 150, № 9. – С. 258-261.

60. Катунина, Е.А. Антиоксидантная терапия в комплексном лечении болезни Паркинсона / Е.А. Катунина // РМЖ. – 2010. – Т. 18, № 8. – С. 468-470.

61. Качественный состав нормальной микрофлоры кишечника у лиц различных возрастных групп / В.М. Коршунов [и др.] // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2001. – № 2. – С. 57-61.
62. Каширская, Н.Ю. Значение пробиотиков и пребиотиков в регуляции кишечной микрофлоры / Н.Ю. Каширская // РМЖ. – 2000. – Т. 8, № 13/14. – С. 572-575.
63. Каширская, Н.Ю. Значение пробиотиков и пребиотиков в регуляции кишечной микрофлоры / Н.Ю. Каширская // РМЖ. – 2008. – № 4. – С. 64-66.
64. Кашкин, К.П. Иммунная реактивность организма и антибиотическая терапия / К.П. Кашкин, З.О. Караев. – Л. : Медицина, 1984. – 200 с.
65. Климентова, Е.Г. Антагонистическая активность гемолитических *Escherichia coli*, выделенных из толстой кишки мышей с экспериментальным дисбактериозом, обусловленным действием δ -эндотоксинов *Bacillus thuringiensis* / Е.Г. Климентова // Актуальные вопр. вет. биологии. – 2012. – № 3. – С. 13-19.
66. Количественный анализ хроматографическими методами : пер. с англ. / под ред. Э. Кец. – М. : Мир, 1990. – 320 с.
67. Колосова, М.В. Состав липидов мембран эритроцитов и их биофизические характеристики у детей с инсулинзависимым сахарным диабетом в процессе терапии / М.В. Колосова, В.В. Новицкий, Е.А. Степовая // Клин.лаб. диагностика. – 2001. – № 1. – С. 10-12.
68. Кольман, Я. Наглядная биохимия : пер. с нем. / Я. Кольман, К.Г. Рем. – М. : Мир, 2000. – 469 с.
69. Коновалова, Т.Т. Роль липидов в структурно-функциональной организации клеточных мембран при патогенезе и их коррекция у больных ишемической болезнью сердца / Т.Т. Коновалова, И.П. Смирнова // Сиб. мед.журн. – 2005. – Т. 55, № 6. – С. 8-14.
70. Корнилова, Т.И. Экспериментально-клиническое исследование противоаритмической активности эмоксипина : автореф. дис. ... канд. мед.наук : 14.00.25; 14.00.09 / Т.И. Корнилова. – Саранск, 2002. – 16 с.

71. Костюкевич, О.И. Современное представление о микробиоценозе кишечника. Дисбактериоз и его коррекция / О.И. Костюкевич // РМЖ. – 2007. – № 28. – С. 2176-2182.
72. Котельникова, А.В. Содержание продуктов перекисного окисления липидов в плазме крови на разных этапах онтогенеза / А.В. Котельникова, С.В. Котельникова // Успехи современного естествознания. – 2004. – № 11. – С. 29-30.
73. Кратнов, А.Е. Атеросклероз и ИБС: роль окислительного стресса / Кратнов. – Ярославль, 2003. – 196 с.
74. Крыжановский, Г.Н. Дизрегуляторная патология / Г.Н. Крыжановский. – М. : Медицина, 2002. – 632 с.
75. Крыжановский, Г.Н. Некоторые общебиологические закономерности и базовые механизмы развития патологических процессов / Г.Н. Крыжановский // Арх. патологии. – 2001. – № 6. – С. 44-49.
76. Крылов, В.И. Метод тонкослойной хроматографии липидов мембран эритроцитов / В.И. Крылов, А.Ф. Виноградов, С.И. Ефремова // Лаб. дело. – 1984. – № 4. – С. 205-206.
77. Кудяшева, А.Г. Ранние эффекты отдельного и совместного действия нитрата свинца и облучения в малых дозах на морфо-физиологические и биохимические показатели мышечной ткани / А.Г. Кудяшева, О.Г. Шевченко, Н.Г. Загорская // Вестн. Поморского ун-та. Сер. «Естественные и точные науки». – 2007. – Т. 1, № 1. – С. 56-65.
78. Кузнецов, В.И. Некоторые показатели липидов плазмы крови и эритроцитарных мембран у больных дифтерией глотки / В.И. Кузнецов, Н.И. Миронова // Казан, мед.журн. – 1996. – № 4. – С. 266-269.
79. Курашвили, Л.В. Современное представление о перекисном окислении липидов и антиоксидантной системе при патологических состояниях / Л.В. Курашвили, Г.А. Косой, И.Р. Захарова. – Пенза, 2003. – 93 с.
80. Курбанов А.И. Антиоксидантные ферменты микроорганизмов: патогенетическая значимость и перспективы использования в медицине / А.И. Курбанов // Междунар. мед.журн. – 2008. – № 2. – С. 105-109.

81. Кушугулова, А.Р. Актуальные вопросы исследований и производства пробиотической продукции / А.Р. Кушугулова // Биотехнология. Теория и практика. – 2010. – № 2. – С. 25-31.
82. Ланкин, В.З. Свободнорадикальные процессы в норме и при патологических состояниях : пособие для врачей / В.З. Ланкин, А.Г. Тихазе, Ю.Н. Беленков. – М., 2001. – 78 с.
83. Ланкин, В.З. Свободнорадикальные процессы при заболеваниях сердечно-сосудистой системы / В.З. Ланкин, А.Г. Тихазе, Ю.Н. Беленков // Кардиология. – 2000. – № 7. – С. 48-61.
84. Ленинджер, А. Основы биохимии / А. Ленинджер. М. : Мир, 1985. – Т. 3. – 1056 с.
85. Лескова, Г.Ф. Изменения состава фосфолипидов плазматических мембран кардиомиоцитов при геморрагическом шоке / Г.Ф. Лескова, Г.Н. Крижановский // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2011. – Т. 151, № 3. – С. 284-291.
86. Лескова, Г.Ф. Особенности воздействия перфторана на структурно-метаболические нарушения в печени при экспериментальном атеросклерозе / Г.Ф. Лескова // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2003. – Т. 136, № 10. – С. 386-389.
87. Липиды в структуре и функционировании биологических мембран / В.И. Кузнецов [и др.] // Саратов. науч.-мед. журн. – 2014. – Т. 10, № 2. – С. 262-266.
88. Луценко, М.Т. Фосфолипиды при нарушении дыхательной функции организма / М.Т. Луценко. – Благовещенск, 2006. – 164 с.
89. Мазанкова, Л.Н. Бифиформ: новые аспекты применения при ОРВИ у детей / Л.Н. Мазанкова, Л.А. Павлова, Т.А. Чеботарева // Фарматека. – 2005. – № 1. – С. 69-71.
90. Макаренко, Е.В. Комплексное определение активности супероксиддисмутазы и глутатионредуктазы в эритроцитах больных с

хроническими заболеваниями печени / Е.В. Макаренко // Лаб. дело. – 1988. – №. 11. – С. 48-50.

91. Маханова, Р.С. К вопросу изучения перекисного окисления липидов / Р.С. Маханова // Известия Оренбург.гос. аграрного ун-та. – 2011. – Т. 1, № 29. – С. 231-234.

92. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.

93. Микробиоценоз пристеночного муцина желудочно-кишечного тракта крыс с индуцированным дисбиозом / Ю.В. Несвижский [и др.] // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2007. – № 3. – С. 57-60.

94. Микрoэкологические изменения в кишечнике при дисбактериозе: экспериментальное обоснование возможности коррекции дисбиотических изменений пребиотиком стимулицидов / В.Н. Бредихин [и др.] // Кишечная микрофлора: взгляд изнутри : инновац. сб. науч. ст. – 2013. – № 2. – С. 102-103.

95. Микрoэкологические нарушения при дисбактериозе кишечника у детей / Д.С. Мартыканова [и др.] // Казан.мед. журн. – 2003. – Т. 84, № 3. – С. 209-210.

96. Микрoэкологические нарушения при клинической патологии и их коррекция бифидосодержащими пробиотиками / А.А. Воробьев [и др.] // Вестн. РАМН. – 2004. – № 2. – С. 13-17.

97. Мубаракшина, О.А. Нарушения микробиоценоза кишечника и их коррекция / О.А. Мубаракшина, З.Р. Щербова // Мед.вестник. – 2008. – № 33, 24 окт. – С. 18.

98. Нарушение «окислительного» метаболизма при острых воспалительных заболеваниях / Т.В. Жаворонок [и др.] // Клин.лаб. диагностика. – 2006. – № 12. – С. 10-15.

99. Нарушения белково-липидного спектра мембраны эритроцитов при экспериментальной острой лекарственной гепатопатии, коррекция различными формами препарата «фосфоглив» / О.Н. Белоконева [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2011. – № 11–3. – С. 481-484.

100. Несвижский, Ю.В. Изучение изменчивости кишечного микробиоценоза человека в норме и патологии / Ю.В. Несвижский // Вестн. РАМН. – 2003. – № 1. – С. 49-53.

101. Николаев, В.М. Состояние про- и антиоксидантного равновесия у больных с холодовой травмой различной степени тяжести / В.М. Николаев, Р.З. Алексеев, С.Н. Алексеев // Сиб. мед. журн. – 2007. – Т. 22, № 2, прил. – С. 28-29.

102. Николаева, Т.Н. Иммуностимулирующая и антиканцерогенная активность нормальной лактофлоры кишечника / Т.Н. Николаева, В.В. Зорина, В.М. Бондаренко // Эксперим. клин.гастроэнтерология. – 2004. – № 4. – С. 39-43.

103. Новицкий, В.В. Структурная дезорганизация мембраны эритроцитов как универсальная типовая реакция целостного организма при болезнях дисрегуляции / В.В. Новицкий, Н.В. Рязанцева // Дисрегуляционная патология / под ред. Г.Н. Крыжановского. – М. : Медицина, 2002. – С. 395-405.

104. Новицкий, В.В. Физиология и патофизиология эритроцита / В.В. Новицкий, Н.В. Рязанцева, Е.А. Степовая. – Томск, 2004. – 202 с.

105. Ольшанова, К.М. Практикум по хроматографическому анализу / К.М. Ольшанова. – М. : Высш. шк., 1970. – 312 с.

106. Особенности микробиоценоза пристеночного муцина желудочно-кишечного тракта крыс / А.А. Воробьев [и др.] // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2005. – № 6. – С. 3-7.

107. Особенности микробиоценоза толстой кишки при дисбиотических нарушениях / И.В. Вальшева [и др.] // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2011. – № 1. – С. 67-70.

108. Остроумов, С.А. От экологии к здоровью: поиск рекомендаций на основе биохимической экологии человека / С.А. Остроумов. – М. : МАКС Пресс, 2006. – Вып. 4. – 32 с.

109. Оценка липид-белковых и липид-липидных взаимоотношений при агрессивных неходжкинских лимфомах / С.С. Дагбашян [и др.] // Новое в гематологии и трансфузиологии. – 2006. – № 5. – С. 165-169.

110. Парфенов, А.И. Кишечный дисбактериоз / А.И. Парфенов // Лечащий врач. – 2001. – № 5/6. – С. 20-25.
111. Парфенов, А.И. Микробная флора кишечника и дисбактериоз / А.И. Парфенов // РМЖ. – 2007. – № 2. – С. 58-63.
112. Парфенов, А.И. Синдром раздраженного кишечника / А.И. Парфенов // Избранные главы клинической гастроэнтерологии / под общ.ред. Л.Б. Лазебника. – М. : Анахарсис, 2005. – С. 272-276.
113. Перекисное окисление липидов, активность Na^+, K^+ -АТФазы и ферментов антиоксидантной защиты при нефропатии у крыс, индуцированной хлоридом кобальта / А.И. Федтеева [и др.] // Биомед. химия. – 2010. – Т 56, № 5. – С. 540-544.
114. Покровский, В.И. Человек и микроорганизмы. Здоровье и болезнь / В.И. Покровский // Вестн. РАМН. – 2001. – № 11. – С. 3-6.
115. Получение стабильного препарата церулоплазмина человека / Е.И. Захарова [и др.] // Тез.науч. докл. III съезда биохим. о-ва. – СПб., 2002. – С. 158.
116. Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника : ОСТ 91500.11.0004-2003. – введ. Приказом МЗ РФ № 231 от 9.06 2003. – М., 2003. – 173 с.
117. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета программ Statistica / О.Ю. Реброва. – М. : МедиаСфера, 2006. – 312 с.
118. Реброва, Т.Ю. Особенности фосфолипидного состава мембран эритроцитов в условиях постинфарктного кардиосклероза / Т.Ю. Реброва, Д.С. Кондратьева, С.А. Афанасьев // СМЖ. – 2011 – № 1-1. – С. 131-134.
119. Руденко, П.А. Роль свободнорадикального окисления липидов в патогенезе гнойной раны / П.А. Руденко // Вісник ДАУ. – 2007. – Т. 2, № 2. – С. 245-250.
120. Рязанцева, Н.В. Изменения липидной фазы мембраны эритроцитов при параноидной шизофрении / Н.В. Рязанцева, В.В. Новицкий, М.М. Кублинская // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2002. – № 1. – С. 98-101.

121. Рязанцева, Н.В. Структурные нарушения и изменения активности Na^+, K^+ -АТФазы в мембране эритроцитов у пациентов с невротическими расстройствами / Н.В.Рязанцева, В.В. Новицкий // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2002. – № 7. – С. 85-88.

122. Савицкая, К.И. Современные представления о роли и составе кишечной микрофлоры у здоровых взрослых людей / К.И. Савицкая, А.А. Воробьев, Е.Ф. Швецова // Вестн. РАМН. – 2002. – № 2. – С. 50-53.

123. Сафонова, Е.Ф. Выбор оптимальных параметров разделения фосфолипидов в тонком слое сорбента / Е.Ф. Сафонова, А.А. Назарова, В.Ф. Селеменев // Хим.-фарм. журн. – 2002 – № 4. – С. 41-43.

124. Свободнорадикальное окисление в оценке риска здоровья / В.М. Боев [и др.] // Гигиена и санитария. – 2006. – № 5. – С. 19-20.

125. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная терапия / В.К. Казимирко [и др.]. – Киев : МОРИОН, 2004, 160 с.

126. Свободнорадикальное окисление липидов в патогенезе инфаркта миокарда и лечебно-профилактическая роль антиоксидантов - селенита натрия и его комбинации с витамином Е / А.Н. Кудрин [и др.] // Кардиология. – 2001. – Т. 18, № 2. – С. 115-118.

127. Симонова, Е.В. Роль нормальной микрофлоры в поддержании здоровья / Е.В. Симонова // Сиб. мед. журн. – 2008. – № 8. – С. 21-28.

128. Собакарь, М.С. Антиоксидантная терапия и метаболические подходы к лечению заболеваний сердечно сосудистой системы / М.С. Собакарь, Е.В. Ших // Биомедицина. – 2010. – Т. 1, № 3. – С. 10-21.

129. Состояние перекисного окисления липидов, антиоксидантной защиты крови у больных инфарктом миокарда, отягощенным недостаточностью кровообращения / Н.И. Тарасов [и др.] // Тер. арх. – 2002. – № 12. – С. 12-15.

130. Сравнительная характеристика количественного и качественного состояния микробиоценоза толстого кишечника у детей первого года жизни, проживающих в регионах с различными значениями напряжённости

геомагнитного поля / О.А. Медведева [и др.] // Кубан. науч. мед. вестн. – 2011. – № 4. – С. 145-148.

131. Структура и свойства липидного бислоя мембран эритроцитов у больных со злокачественными новообразованиями / Е.А. Степовая [и др.] // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2003. – Т. 136, № 11. – С. 553-557.

132. Тимченко, Л.В. Влияние нового биологически активного препарата «Эмбриоприм» на микробиоценоз кишечника собак при экспериментальном дисбактериозе / Тимченко Л.В., Гандрабура Н.И. // Живые и биокосные системы [Электронный ресурс] : науч. электрон. период. изд. – 2012. – № 1. – Режим доступа: <http://jbks.ru/archive/issue-1/article-5>.

133. Ткаченко, Е.И. Питание, микробиоценоз и интеллект человека : рук. для врачей / Е.И. Ткаченко, Ю.П. Успенский. – СПб. : СпецЛит, 2006. – 590 с.

134. Трошкина, Н.А. Эритроцит: строение и функции его мембраны / Н.А. Трошкина, В.И. Циркин, С.А. Дворянский // Вят. мед. вестн. – 2007. – №2/3. – С. 32-40.

135. Тугарев, А.А. Влияние кадмия на морфофункциональные характеристики эритроцитов : автореф. дис. ... д-ра биол. наук : 03.00.13 / А.А. Тугарев. – М., 2003. – 28 с.

136. Турпаев, К.Т. Активные формы кислорода и регуляция экспрессии генов / К.Т. Турпаев // Биохимия. – 2002. – Т. 67, № 3. – С. 339-352.

137. Тюкавкина, Н.А. Биоорганическая химия Тюкавкина Н.А., Бауков Ю.И. – М. : Дрофа, 2005. – 544 с.

138. Урсова, Н.И. Особенности формирования микробиоценоза у грудных детей и дисбактериоз кишечника / Н.И. Урсова // Consilium medicum. Педиатрия. – 2005. – № 2. – С. 56-59.

139. Фатенков, В.Н. Нарушения в структуре мембран эритроцитов у больных инфарктом миокарда / В.Н. Фатенков, Е.Г. Зарубина, М.Н. Милякова // Кардиология. – 2002. – № 6. – С. 54-55.

140. Ферменты антиоксидантной системы и мультифакториальные заболевания: роль гена селен-зависимой глутатионпероксидазы в формировании

предрасположенности к аллергической форме бронхиальной астмы / В.П. Иванов [и др.] // Курск. науч.-практ. вестн. "Человек и его здоровье". – 2006. – № 4. – С. 40-45.

141. Формирование микрофлоры толстой кишки у детей / И.В. Соловьева [и др.] // Вестник Нижегород. ун-та им. Н.И. Лобачевского. – 2012. – № 2/3. – С. 93-99.

142. Хавкин, А.И. Микробиоценоз кишечника и иммунитет / А.И. Хавкин // РМЖ. – 2003. – Т. 11, № 3. – С. 122-126.

143. Хавкин, А.И. Нарушение микроэкологии кишечника и энтеросорбция / А.И. Хавкин // Вопр. современной педиатрии. – 2009. – Т. 8, № 2. – С. 78-80.

144. Хоулт, Дж. Определитель бактерий Берджи пер с англ. : : в 2 т. / Дж. Хоулт, Н. Криг, П. Снит. – М. : Мир, 1997. – Т. 1. – 800 с.

145. Циммерман, Я.С. Дисбиоз (дисбактериоз) кишечника и/или «синдром избыточного бактериального роста» / Я.С. Циммерман // Клин. медицина – 2005. – № 4. – С. 14-22.

146. Чернышева, Е.Н. Влияние сиюфора на процесс перекисного окисления липидов и антиоксидантный статус у пациентов с метаболическим синдромом / Е.Н. Чернышева, Т.Н. Панова // Саратов. науч.-мед. журн. – 2013. – Т. 9, № 4. – С. 744-748

147. Шебзухова, Ф.К. Изменение иммунного статуса и антиоксидантной защиты у женщин с урогенитальным хламидиозом / Ф.К. Шебзухова, Т.П. Бондарь // Саратов. науч.-мед. журн. – 2010. – Т. 6, № 1. – С. 111-113.

148. Шишкина, Л.Н. Липиды эритроцитов крови и их функциональная активность / Л.Н. Шишкина, О.Г. Шевченко // Успехи современной биологии. – 2010. – Т. 130, № 6. – С. 587-602.

149. Шишкина, Л.Н. Особенности функционирования физико-химической системы регуляции перекисного окисления липидов в биологических объектах разной степени сложности в норме и при действии повреждающих факторов : дис. ... д-ра хим. наук : 03.00.02 / Л.Н. Шишкина. – М., 2003. – 406 с.

150. Шульпекова, Ю.О. Применение пробиотиков в клинической практике / Ю.О. Шульпекова // РМЖ. – 2003. – № 8. – С. 16-22.
151. Электрические параметры и структура мембран эритроцитов при диффузных заболеваниях печени / С.А. Курилович [и др.] // Рос.журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2009. – Т. 19, № 2. – С. 30-36.
152. Эллиот, В. Биохимия и молекулярная биология / В. Эллиот, Д. Эллиот. – М. : Наука, 2002. – 446 с.
153. Эндакова, Э.А. Модификация состава жирных кислот крови при сердечно-сосудистых заболеваниях / Э.А. Эндакова, Т.П. Новгородцева, В.И. Светашев. – Владивосток : Дальнаука, 2002. – 296 с.
154. Яковенко, Э.П. Дисбактериоз кишечника / Э.П. Яковенко // Лечебное дело. – 2004. – № 3. – С. 3-8.
155. Allergy development and the intestinal microflora during the first year of life / В. Bjorksten [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. – 2001. – Vol. 108. – P. 516-20.
156. Bacterial colonization and intestinal mucosal barrier development / Н. Xiao-Zhong [et al.] // World. J. Clin. Pediatr. – 2013. – Vol. 2, N 4. – P. 46-53.
157. Banerjee, T. Reactive oxygen species and phosphatidylserine externalization in murine sickle red cells / T. Banerjee, F.A. Kuypers // Br. J. Haematol. – 2004. – Vol. 124, № 3. – P. 391-402.
158. Begley, M. Bile salt hydrolase activity in probiotics / M. Begley, C. Hill, C.G. Gahan // Appl. Environ. Microbiol. – 2006. – Vol. 72. – P. 1729-1738.
159. Canny, G.O. Bacteria in the Intestine, Helpful Residents or Enemies from Within? / G.O. Canny, B.A. McCormick // Infect. Immun. – 2008. – Vol. 76, N 8. – P. 3360-3373.
160. Cholesterol interactions with phospholipids in membranes / H. Ohvo-Rekila [et al.] // Prog. Lipid. Res. – 2002. – Vol. 41, N 1. – P. 457-468.
161. Collins, S.M. The relationship between intestinal microbiota and the central nervous system in normal gastrointestinal function and disease / S.M. Collins, P. Bercik. // Gastroenterology. – 2009. – Vol. 136, N 6. – P. 2003-2014.

162. Comito, D. Dysbiosis in the pathogenesis of pediatric inflammatory bowel diseases / D. Comito, C. Romano. // *Int. J. Inflammation*. – 2012. – Vol. 7. – P. 1-7.
163. Delaunay, J. Molecular basis of red cell membrane disorders / J. Delaunay // *Acta Haematol.* – 2002. – Vol. 108, N 4. – P. 210-218.
164. Diet, microbiota, and inflammatory bowel disease: lessons from Japanese foods / T. Kanai [et al.] // *Korean J. Int. Med.* – 2014. – Vol. 29, N 4. – P. 409-415.
165. Diversity of the human intestinal microbial flora / P.B. Eckburg [et al.] // *Science*. – 2005. – Vol. 308, N 3758. – P. 1635-1638.
166. Dysbiosis of the gut microbiota is associated with HIV disease progression and tryptophan catabolism / Vujkovic-Cvijin I. [et al.] // *Sci. Transl. Med.* – 2013. – Vol. 10, N 5(193). – P. 1-28.
167. Effect of probiotic administration on the intestinal microbiota, current knowledge and potential applications / J.G. LeBlanc [et al.] // *World. J. Gastroenterol.* – 2014. – Vol. 20, N 44. – P. 16518-16528.
168. Fabiano, V. Probiotics: current evidences and new perspectives / V. Fabiano, C. Mameli, G. Vincenzo Zuccotti. // *Italian J. Pediatrics*. – 2014. – Vol. 40 (Suppl. 1). – P. 46.
169. Far from the Eyes, Close to the Heart: Dysbiosis of Gut Microbiota and Cardiovascular Consequences / M. Serino [et al.] // *Curr. Cardiol. Rep.* – 2014. – Vol. 16. – P. 540-547.
170. Floch, M.H. Recommendations for probiotic Use in humans – A / M.H. Floch // *Pharmaceuticals*. – 2014. – Vol.7, N 10. – P. 999-1007.
171. Genetic dysbiosis: the role of microbial insults in chronic inflammatory diseases / L. Nibali1 [et al.] // *J. Oral Microbiol.* – 2014. – Vol. 6. – P. 1-10.
172. Goel, A. Gut microbiota and liver disease / A. Goel, M. Gupta, R. Aggarwal // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2014. – Vol. 29, N 6. – P. 1139-1148.
173. Hawrelak, J.A. The Causes of intestinal dysbiosis: a review / J.A. Hawrelak, S.P. Myers // *Alternative Med. Rev.* – 2004. – Vol. 9, N 2. – P. 180-197.

174. Hopkins. M.J. Age and disease related changes in interstitial bacterial populations assessed by cell culture, 16S rRNA abundance, and community cellular fatty acid profiles / M.J. Hopkins // *Gut*. – 2001. – Vol. 48, N 2. – P. 198-205.

175. Influence of a probiotic mixture on antibiotic induced microbiota disturbances / S. Forssten [et al.] // *World. J. Gastroenterol.* – 2014. – Vol. 20, N 33. – P. 11878-11885.

176. Intestinal Dysbiosis and Depletion of Butyrogenic Bacteria in *Clostridium difficile* Infection and Nosocomial Diarrhea / V.C. Antharam [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2013. – Vol. 51, N 9. – P. 2884-2892.

177. Intestinal dysbiosis associated with systemic lupus erythematosus / A. Hevia [et al.] // *mBio*. – 2014. – Vol. 5, N 5. – P. 1-10.

178. Intestinal microbiota in human health and disease: the impact of probiotics / J. Gerritsen [et al.] // *Genes Nutr.* – 2011. – Vol. 6, N 3. – P. 209-240.

179. Intestinal microbiota pathogenesis and fecal microbiota transplantation for inflammatory bowel disease / W. Zi-Kai [et al.] // *World. J. Gastroenterol.* – 2014. – Vol. 20, N 40. – P. 14805-14820.

180. Intestinal Microbiota, Probiotics and Prebiotics: Comprehensive Textbook for Health Professionals / ed. Rok Orel. – Ljubljana, Slovenia. 2014. – 299 p.

181. Isolauri, E. Probiotics: a role in the treatment of intestinal infection and inflammation / E. Isolauri, P.V. Kirjavainen, S. Salminen // *Gut*. – 2002. – Vol. 50, N 3. – P. 54-59.

182. Kiefer, C.R. Oxidation and erythrocyte senescence / C.R. Kiefer, L.M. Snyder // *Curr. Opin. Hematol.* – 2000. – Vol. 7, N 2. – P. 113-116.

183. Lombard, J. The early evolution of lipid membranes and the three domains of life / J. Lombard, P. López-García, D. Moreira // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2012. – Vol. 10, N 7. – P. 507-522.

184. Mawatari, S. Absence of correlation between glycated hemoglobin and lipid composition of erythrocyte membrane in type 2 diabetic patients / S. Mawatari, K. Saito, K. Murakami // *Metabolism*. – 2004. – Vol. 53, N 1. – P. 123-127.

185. Microbial Dysbiosis Is Associated with Human Breast Cancer / C. Xuan [et al.] // PLoS ONE. – 2014. – Vol. 9, N 1. – P. 1-7.

186. Mugambi, M.N. Application of evidence on probiotics, prebiotics and synbiotics by food industry: a descriptive study / M.N Mugambi, T. Young, R. Blaauw // BMC Res. Not. – 2014. – Vol. 7. – P. 754-762.

187. O'Hara, A.M. Кишечная микрофлора: анализ терапевтического потенциала / A.M. O'Hara, F. Shanahan // Клиническая гастроэнтерология и гепатология. – 2008. – Т. 1, № 4. С. 236-247.

188. Orel, R. Intestinal microbiota, probiotics and prebiotics in inflammatory bowel disease / O. Rok, T. Kamhi Trop // World. J. Gastroenterol. – 2014. – Vol. 20, N 33. – P. 11505-11524.

189. Phosphatidic acid mediates the targeting of tBid to induce lysosomal membrane permeabilization and apoptosis / K. Zhao [et al.] // Lipid Res. – 2012. – Vol. 53, N 10. – P. 2102-2116.

190. Probiotics – a helpful additional therapy for bacterial vaginosis / O. Bodean [et al.] // J. Med. Life. – 2013. – Vol. 6, N 4. – P. 434-436.

191. Quantification of selective phosphatidylserine oxidation during apoptosis / J.P. Fabisiak [et al.] // Methods. Mol. Biol. – 2005. – Vol. 291. – P. 449-456.

192. Role of membrane lipids for the activity of pore forming peptides and proteins / G. Fuertes [et al.] // Adv. Exp. Med. Biol. – 2010. – Vol. 677, N 2. – P. 31-55.

193. Santos, H.A. Electrochemical properties of phospholipid monolayers at liquidliquid interfaces / H.A. Santos, V. Garsia-Morales, C.M. Pereira // Chemphyschem. – 2010. – Vol. 11, N 1. – P. 28-41.

194. The administration of probiotics and synbiotics in immune compromised adults: is it safe? / M. van den Nieuwboer [et al.] // Beneficial Microbes. – Vol. 1, N 1. – P. 1-15.

195. The overarching influence of the gut microbiome on end-organ function: the role of live probiotic cultures / L. Vitetta [et al.] // Pharmaceuticals. – 2014. – Vol.7, N 9. – P. 954-989.

196. Tsuda, K. Insulin and membrane microviscosity of erythrocytes as risk factors for stroke / K. Tsuda // *Stroke*. – 2003. – Vol. 34, N 12. – P. 225-226.

197. Vaishnavi, C. Translocation of gut flora and its role in sepsis / C. Vaishnavi // *Indian J. Med. Microbiol.* – 2013. – Vol. 31, N 4. – P. 334-342.

198. Wahid, S.T. Increased platelet and erythrocyte external cell membrane phosphatidylserine in type 1 diabetes and microalbuminuria / S.T. Wahid, S.M. Marshall, T.H. Thomas // *Diabet. Care*. – 2001. – Vol. 24, N 11. – P. 2001-2003.

199. Yang, Y. Microbial imbalance and intestinal pathologies: connections and contributions / Y. Yang, C. Jobin. // *Dis. Models Mechanisms*. – 2014. – Vol. 7, N 10. – P. 1131-1142.