

В печать

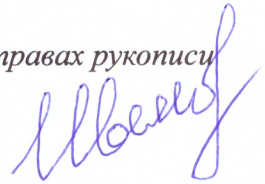
Председатель диссертационного
совета 68.1.005.01

В.А. Барин

14.10.2025г. В.А. Барин

ИВАНОВА
Анастасия Юрьевна

На правах рукописи



МОДУЛЯЦИЯ СОСТАВА И МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МИКРОБИОТЫ
КИШЕЧНИКА С ПОМОЩЬЮ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ И ПРЕБИОТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ
В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова»

Научный руководитель: Медведев Олег Стефанович
доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты: **Корниенко Елена Александровна**
доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра детских болезней имени профессора И.М. Воронцова Факультета послевузовского дополнительного профессионального образования, профессор кафедры
Борщев Юрий Юрьевич
кандидат биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Научно-исследовательский отдел физиологической микроэндоэкологии Института экспериментальной медицины, заведующий отделом

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины» (ФГБНУ «ИЭМ»)

Защита состоится «__» _____ 2025 года в «__» часов на заседании диссертационного совета 68.1.005.01, созданного на базе Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С. Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства» (192019, Санкт-Петербург, ул. Бехтерева,1)

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке и на сайте (<http://www.toxicology.ru>) Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С. Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства»

Автореферат разослан «__» _____ 2025 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета 68.1.005.01
доктор медицинских наук, профессор



Луковникова Любовь Владимировна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Микробиота кишечника – сложно организованное и динамичное сообщество микроорганизмов, колонизирующих желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) человека и животных. Она представляет собой экосистему, включающую в себя бактерии, археи, бактериофаги, простейшие, вирусы и грибы. Согласно единому каталогу Unified Human Gastrointestinal Genome (UHGG), опубликованному в 2021 г., в ЖКТ обитает более 4600 разнообразных видов бактерий [Almeida A. A. et al., 2021]. В микробиоте здорового кишечника преобладающими филумами являются *Firmicutes* и *Bacteroidota*, которые составляют около 90% всей популяции. Остальные филумы, *Actinobacteriota*, *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Campylobacterota*, *Fusobacteriota* и др., несмотря на меньшую представленность, также выполняют важные функции – вносят вклад в поддержание гомеостаза кишечника, участвуют в метаболических процессах, поддержании иммунитета и защите от патогенов [Скворцова, О. В., 2024; Kurt E. A. et. al., 2024].

Состав микробиоты кишечника, ее способность к генерации ряда метаболитов способны осуществлять защитную функцию. Гипотеза о потенциальной пользе употребления молочнокислых бактерий с продуктами питания для модуляции кишечной микрофлоры и, как следствие, замедления процессов старения организма впервые была сформулирована в начале XX века российским ученым, лауреатом Нобелевской премии по физиологии и медицине Мечниковым И. И. Установлено, что микробиота кишечника вовлечена не только в патогенез заболеваний ЖКТ (язвенный колит, болезнь Крона и др.), но метаболических, сердечно-сосудистых и других неинфекционных заболеваний. Возрастающий объем исследований подтверждает эту взаимосвязь. Так, в период за 2022–2024 год в базе данных PubMed было опубликовано 4113 работ по запросу «gut microbiota obesity», 1260 работы – «gut microbiota diabetes type 2», 6207 работ – «gut microbiota cancer» и 1147 работ, посвященных влиянию микробиоты на сердечно-сосудистую систему, «gut microbiota heart».

Перспективным направлением исследований является изучение не только таксономического состава микробиоты кишечника, но ее метаболических и функциональных возможностей. Метаболиты кишечной микробиоты играют ключевую роль в поддержании функций ЖКТ – участвуют в процессах пищеварения, обеспечивают энергетические потребности, поддерживают целостность слизисто-эпителиального барьера [Kho, Z. Y. et al., 2018]. При попадании в системный кровоток эти вещества оказывают влияние на регуляцию углеводного и липидного обменов, модулируют иммунные реакции и участвуют в нейроэндокринных процессах [Fan Y. et al., 2021].

В настоящее время актуальным направлением является поиск новых биомаркеров, отражающих активность кишечной микробиоты. Одним из перспективных подходов в клинике

и эксперименте является определение концентрации водорода (H_2), метана (CH_4) в выдыхаемом воздухе. Открытие антиоксидантных, противовоспалительных свойств молекулярного водорода японскими учеными в 2007 г [Ohsawa, I. et al., 2007] определило перспективу его изучения в качестве биомаркера микробиоты кишечника, так как единственным эндогенным источником его образования в организме является ферментативная активность микроорганизмов толстой кишки (при отсутствии патологии в верхнем отделе ЖКТ). В процессе ферментации у человека может вырабатываться до 12 л водорода в день [Iida, A. et al., 2016], который далее расходуется гидрогенотрофными микроорганизмами, выделяется с выдыхаемым воздухом после попадания в кровотоки или выводится в составе флатуса [Медведев, О. С., 2022]. Одним из типов микроорганизмов, потребляющих водород, являются метаногенные археи, в процессе жизнедеятельности которых расходуется водород с образованием метана. Определение концентраций H_2 и CH_4 в выдыхаемом воздухе позволяет получить более полную информацию о состоянии микробиоты по сравнению с измерением других газов, таких как аммиак или сероводород, источники и пути метаболизма которых менее тесно связаны с ферментативными процессами, осуществляемыми бактериальным сообществом в просвете кишечника.

Исследования, посвященные определению водорода и метана в выдыхаемом воздухе и возможностям их модуляции, пока немногочисленны. В данной исследовательской работе приоритетное внимание уделено определению водорода и метана, как ключевых маркеров, отражающих метаболическую активность и состав кишечной микробиоты.

Степень разработанности темы. С 2000 годов стали широко внедряться метагеномные инструменты с использованием метода 16S-rРНК секвенирования в фундаментальных и клинических исследованиях. Секвенирование генов рибосомальной РНК (рРНК) в настоящее время является методом выбора для филогенетической реконструкции, обнаружения и количественной оценки микробного разнообразия на основе нуклеиновых кислот. Дополнительно возникла необходимость в разработке биоинформационного ресурса для интерпретации разнородной информации, включая данные секвенирования и клинические метаданные. В начале 2000-х гг. были проведены многолетние исследования Human Microbiome Project (HMP) [Turnbaugh P. et al., 2007] и Metagenomics of human intestinal tract (MetaHIT) с акцентом на ожирение и воспалительные заболевания ЖКТ. Несмотря на масштабность накопленных знаний о геномных последовательностях и непрерывные поиски их ассоциаций со здоровьем и патологиями, нет ясности, как работает сложная живая система кишечной микробиоты. К метагеномным подходам были добавлены метаболомные исследования для изучения конечных продуктов – метаболитов [Nicholson J. K. et al., 2012].

Основополагающие работы по изучению образования газов в ЖКТ и регистрации в выдыхаемом воздухе были проведены проф. Levitt M. D. на рубеже 60–70-х годов XX века

[Levitt M. D., 1969; Levitt M. D., 1971]. Водород и метан являются основными кишечными газами: содержание водорода, по результатам большого мета-анализа находится в диапазоне значений от 0,2% до 49%, метана – от 0% до 30,3% [Modesto A. et al., 2022]. Динамика образования кишечных газов и способы их модуляции представляют несомненный интерес, так как степень их продукции может определять разные патологические состояния. Группа ученых под руководством Pimentel M. показали, что уровень метана и водорода коррелирует с избыточной массой тела [Mathur, R. et al, 2016]. Китайские ученые установили, что у людей с преимущественной продукцией метана, выше вероятность развития неалкогольной жировой болезни печени [An, S. et al., 2024].

Модуляция кишечной микробиоты зависит от комплекса факторов: дозы и способа введения лекарственного средства (ЛС), продолжительности введения ЛС. Важным пунктом, который необходимо учитывать при разработке подходов модуляции кишечной микробиоты, является ее различное исходное состояние. Исходный таксономический состав определяет индивидуальные реакции на введение модулирующих агентов [Zmora N., 2016]. Для достижения более глубокого понимания способов модуляции микробиоты кишечника необходимо проведение исследований с различными комбинациями перечисленных факторов с использованием современных методов по изучению генома и метаболома микроорганизмов.

Цель и задачи исследования. Цель исследования – обоснование новых направлений модуляции функциональной активности микробиоты кишечника и ее таксономического состава с помощью фармакологических и пребиотических воздействий у крыс.

Задачи исследования:

1. Оценить влияние рифаксимины, метронидазола на ферментативную активность микробиоты и состав микробиоты кишечника у крыс.
2. Оценить влияние коэнзима Q10 на ферментативную активность и состав микробиоты кишечника у крыс.
3. Изучить изменение ферментативной активности и состава микробиоты кишечника, состояние слизисто-эпителиального барьера толстой кишки при использовании повышенного содержания жиров различного жирно-кислотного состава в рационе питания у крыс.
4. Исследовать изменение ферментативной активности и состава микробиоты кишечника у крыс в рационе с различным содержанием фруктоолигосахаридов.
5. Провести сравнительную оценку в образовании водорода и метана у низко- и высокометановых крыс после однократной нагрузки сложными углеводами.

Научная новизна. Впервые показано, что прием рифаксимины, невсасывающегося антибиотика широкого спектра действия, вызывает перестройку таксономического состава микробиоты кишечника, а также изменение в продукции ее метаболитов – увеличивает

образование водорода и подавляет образование метана в выдыхаемом воздухе. Метронидазол, противопротозойный и антимикробный препарат, в выбранной дозе не изменяет продукцию водорода и метана, однако, вызывает существенные изменения численной представленности родов филума *Firmicutes* и снижение α - и β -разнообразия микробиоты кишечника. Установлено, что жирорастворимый антиоксидант коэнзим Q10 при длительном приеме модулирует активность микробиоты кишечника в сторону большего образования водорода и короткоцепочечных жирных кислот (уксусной и масляной). Ненасыщенные жирные кислоты, принимаемые в качестве пребиотика, улучшают состояние слизисто-эпителиального барьера толстой кишки и увеличивают продукцию водорода. Низкое и высокое содержание в рационе неперевариваемых фруктоолигосахаридов вызывают различные эффекты со стороны микробиоты кишечника. Усиление образования водорода наблюдалось при добавлении 25% фруктоолигосахаридов. 5% фруктоолигосахаридов (низкое содержание) увеличивают α -разнообразие микробиоты кишечника, тогда как 25% фруктоолигосахаридов увеличивают β -разнообразие микробиоты кишечника.

Теоретическая и практическая значимость работы. Проведенные экспериментальные исследования продемонстрировали возможность целенаправленного воздействия на продукцию низкомолекулярных метаболитов (водорода, метана, короткоцепочечных жирных кислот) и таксономический состав микробиоты кишечника с помощью фармакологических и пребиотических воздействий. Комплексный подход, включающий анализ газообразных метаболитов, таксономического состава и их корреляций, углубляет понимание сложных взаимодействий между микробиотой кишечника и организмом хозяина.

Практическая значимость определяется разработкой экспериментальной установки для выполнения дыхательного теста на лабораторных животных и предложенными подходами к модуляции микробиоты кишечника. Установка применима для проведения доклинических испытаний препаратов, влияющих на микробиоту кишечника. Полученные результаты указывают на потенциальную возможность повышения эффективности лечения в клинической практике путем дифференцированного подхода к пациентам с различными метаболическими профилями микробиоты, определяемыми соотношением водород- и метанобразующих бактерий. Данные результаты подтверждают целесообразность персонализированного подбора средств, влияющих на микробиоту (пребиотики, пробиотики, синбиотики, лекарственные препараты), основанного на индивидуальных характеристиках микробиоты пациента.

Методология и методы исследования. Методология исследования основывалась на комплексном подходе, характерном для изучения биологических систем. Теоретический этап включал углубленный анализ научной литературы посредством поиска в авторитетных отечественных (РИНЦ) и зарубежных (PubMed, IEEE Xplore и др.) базах данных с

последующим сбором и систематизацией полученной информации. На основе проведенного анализа была разработана методология экспериментальной части, включающая выбор оптимальных методов и планирование экспериментов. Экспериментальная стратегия сочетала в себе описательный и сравнительный подходы, направленные на решение сформулированных цели и задач исследования. В ходе исследования применялись аналитические, биохимические, микроскопические, морфометрические, гистохимические и молекулярно-биологические методы. На этапе обработки полученных экспериментальных данных применялись биоинформатический и статистический анализ.

Положения, выносимые на защиту:

1. Рифаксимин и метронидазол оказывают дифференцированное воздействие на продукцию метаболитов в выдыхаемом воздухе, состав и разнообразие микробных сообществ: доза рифаксимины 150 мг/кг/день увеличивает образование водорода и снижает продукцию метана у крыс, не влияя на разнообразие бактериальных сообществ, доза метронидазола 30 мг/кг/день не изменяет уровень водорода и метана, снижает α - и β -разнообразие, а также представленность грамположительных анаэробных бактерий.

2. Внутривенное введение 30 мг/кг/день коэнзима Q10 приводит к увеличению продукции водорода, уровня короткоцепочечных жирных кислот и снижению концентрации триметиламина у крыс, а также повышению α - и β -разнообразия микробных сообществ, что свидетельствует о комплексном воздействии коэнзима Q10 на структуру и функцию кишечной микробиоты.

3. Включение в рацион крыс ненасыщенных жирных кислот или 25% фруктоолигосахаридов способствует модуляции ферментативной активности микробиоты кишечника, направленной на увеличение продукции водорода. Влияние фруктоолигосахаридов на биоразнообразие микробных сообществ зависит от их концентрации: добавление 5% фруктоолигосахаридов увеличивают α -разнообразие, в то время как 25% фруктоолигосахаридов преимущественно влияют на β -разнообразие.

Степень достоверности и апробация результатов. Высокая степень достоверности результатов исследовательской работы обеспечивается репрезентативной выборкой экспериментальных животных, современными методами исследования, включающими газовую хроматографию, спектроскопию ядерного магнитного резонанса, высокоэффективную жидкостную хроматографию, высокопроизводительное 16S-rРНК секвенирование.

Работа одобрена на заседании комиссии по биоэтике МГУ имени М. В. Ломоносова (заседание Этической комиссии факультета фундаментальной медицины МГУ имени М. В. Ломоносова № 4 от 16 ноября 2018 года). Диссертационное исследование

выполнено в рамках плановых научно-исследовательских работ МГУ имени М. В. Ломоносова по государственному контракту от 09 января 2018 года № 04м-17/110-03.

Результаты исследовательской работы были доложены на XVII Всероссийском конгрессе с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты нутрициологии и диетологии. Лечебное, профилактическое и спортивное питание» (Москва, 2018), Юбилейной V Междисциплинарной конференции «Молекулярные и биологические аспекты химии, фармацевтики и фармакологии» (Судак, 2019), Ural Symposium on Biomedical Engineering, Radioelectronics and Information Technology (USBREIT) (2020), на Ежегодной Всероссийской научно-практической конференции «КАРДИОЛОГИЯ НА МАРШЕ 2022» и 62-й сессии ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е. И. ЧАЗОВА» (Москва, 2022), VIII Междисциплинарной конференции «Молекулярные и биологические аспекты химии, фармацевтики и фармакологии» (Санкт-Петербург, 2023), XXIV съезде физиологического общества им. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, 2023).

Внедрение результатов исследования. Полученные результаты исследования внедрены в образовательный процесс кафедры фармакологии факультета фундаментальной медицины медицинского научно-образовательного института МГУ имени М. В. Ломоносова (акт внедрения от 16.06.2025), использованы в отчете по государственному контракту от 09 января 2018 года № 04м-17/110-03 «Изучение механизмов ишемического повреждения миокарда и мозга с определением новых мишеней для фармакологической коррекции», а также применяются в научной работе и практической деятельности лаборатории экспериментальной фармакологии Института экспериментальной кардиологии им. академика В.Н. Смирнова (НИИЭК им. ак. В. Н. Смирнова), являющегося структурным подразделением Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е. И. Чазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е. И. Чазова» Минздрава России) (акт внедрения от 02.06.2025).

Личный вклад автора. Соискатель анализировала литературные источники, разрабатывала дизайн экспериментов, планировала и проводила эксперименты, обрабатывала полученные результаты. В работах, выполненных научными коллективами, участвовала на этапе пробоподготовки, анализе и обработке полученных данных. Автор также принимала непосредственное участие в проектировании, изготовлении, сборке и тестировании экспериментальной установки для проведения дыхательного теста у крыс. Результаты всех исследований были использованы лично автором при написании статей в рецензируемых научных изданиях и доложены на научных конференциях.

Публикации. По материалам диссертационной работы было опубликовано 11 работ, в том числе 2 статьи в журналах, входящих в перечень научных изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, 3 статьи опубликованы в журналах, индексируемых в базах данных Web of Science, Scopus, Springer, 1 статья в сборнике конференции и 5 тезисов докладов всероссийских и международных конференций.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 164 страницах машинописного текста, где представлены введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты и их обсуждение, заключение, а также выводы, список литературы и приложение. Диссертационная работа включает 9 таблиц и 33 рисунка. Библиографический список содержит 292 источника, в том числе 31 отечественный и 261 иностранный.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертационная работа соответствует паспорту научной специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (п. 5. Исследование механизмов действия фармакологических веществ в экспериментах на животных, на изолированных органах и тканях, а также на культурах клеток).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении представлены обоснование актуальности и степень разработанности темы исследования, сформулированы цель, задачи, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, даны сведения об апробации результатов и внедрении в практику, определены основные положения, выносимые на защиту. В первой главе диссертации проведен обзор современной отечественной и зарубежной литературы по проблеме определения роли микробиты кишечника в патогенезе неинфекционных заболеваний, поиску адекватных биомаркеров микробиоты кишечника и способам воздействия на них. Во второй главе представлены материалы и методы исследования. Третья глава посвящена оценке влияния антибиотика рифаксимины, антимикробного противопрозоидного средства метронидазола, жирорастворимого антиоксиданта коэнзима Q10, жировых продуктов и фруктоолигосахаридов на таксономический состав и функциональную активность микробиоты кишечника у крыс, обобщению и обсуждению полученных результатов. Представлены заключение, выводы, практические рекомендации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе выполнения работы были выполнены 4 серии исследований.

Все серии исследований были посвящены изучению возможности и степени модуляции биомаркеров (водорода и метана) и состава микробиоты кишечника крыс: *серия 1* – на фоне приема антимикробного противопрозоидного средства метронидазола и антибиотика рифаксимины; *серия 2* – при приеме жирорастворимого антиоксиданта коэнзима Q10 (CoQ10); *серия 3а* – в присутствии повышенного содержания жиров разного жирно-кислотного состава и *3б* – низкого и высокого содержания фруктоолигосахаридов в рационе питания у крыс, *серия 4* – на фоне однократных нагрузок сложных углеводов (лактозула, гуаровые камеди, инулин) у низко- и высокометановых крыс. Исследования всех серий экспериментов были выполнены на 182 самцах крыс стока Wistar (180–230 г).

Для оценки функциональной активности микробиоты у крыс по уровню водорода/метана в для сбора воздушных проб в экспериментах у крыс в научно-исследовательской лаборатории сердечно-сосудистой системы факультета фундаментальной медицины МГУ имени М. В. Ломоносова была создана экспериментальная установка (Рисунок 1).

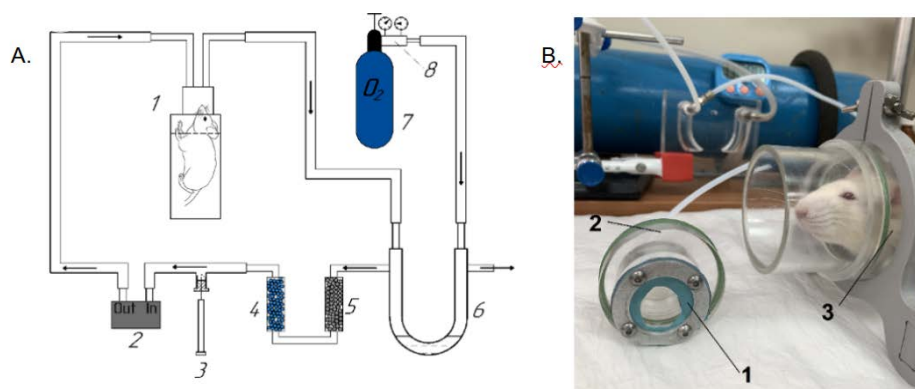


Рисунок 1 – Экспериментальная установка для сбора воздушной пробы у крыс. А. Графическая схема. 1 – пенал, 2 – воздушный насос с датчиком кислорода, 3 – клапан для отбора пробы, 4 – поглотитель влаги, 5 – абсорбент CO_2 (натронная известь), 6 – U-образный манометр, 7 – кислородный баллон, 8 – газовый редуктор. В. Фото. 1 – мембрана, 2 – секция для носа крысы, 3 – пенал

Методика определения H_2 и/или CH_4 в воздушной пробе заключалась в проведении лактулозного теста. Первый замер выполняли у крыс натощак утром в 10 ч. Затем внутрижелудочно вводили 2,5 мл водного раствора лактулозы из расчета 2 г/кг массы тела крысы. Далее измерения проводили через 2, 4, 5, 6, 7, 8 часов после введения раствора лактулозы. По полученным результатам строили лактулозную кривую «концентрация–время», вычисляли площадь под кривой $\text{AUC}_{0-8 \text{ ч}}$ ($\text{ppm} \cdot \text{ч}$), которая отражает количество выделенного водорода в течение 8 часов измерений.

Измерение уровня водорода в воздушной пробе проводили на высокочувствительном анализаторе Лактофан-2 с электрохимическим сенсором (Компания FAN, Германия). Одновременное измерение концентрации H_2 и CH_4 в пробе воздуха проводили методом газовой хроматографии при помощи хроматографа TRILyzer mBA-3000 (Taiyo Instruments Inc., Япония).

Определение концентрации короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК) в кале и крови выполняли методом спектроскопии ядерного магнитного резонанса (ЯМР). Спектры измеряли на ЯМР-спектрометре Avance Neo (Bruker BioSpin, Германия) с рабочей частотой на ядрах 1H 700 МГц, оснащенным трехрезонансным криозондом Prodigy (Bruker, Германия).

Для оценки состояния слизисто-эпителиального барьера проводили количественный анализ муцинового слоя. Препараты окрашивали комбинированной методикой – ШИК-реакция с альциановым синим (рН 2,5). Результаты представлены в виде %-го содержания муцинового слоя в криптах. Дополнительно было выполнено иммуногистохимическое окрашивание тканей толстой кишки с антителами к *MUC-2*.

Оценку состава кишечной микробиоты у крыс выполняли методом высокопроизводительного 16S-rРНК секвенирования на платформе Illumina для гипервариабельного гена V4. Анализ включал амплификацию целевого участка гена 16S rРНК, подготовку библиотек ампликонов с адаптерами Illumina, секвенирование и последующую биоинформатическую обработку данных с помощью пакетов R, таких как vegan, microeco и microbiome для анализа таксономического состава.

Данные, собранные в ходе эксперимента, оформлены и представлены в виде среднего арифметического \pm стандартная ошибка среднего (Mean \pm SEM) или медиана, интерквартильный размах, минимальное и максимальное значение (Me, IQR, Min, Max). Статистический анализ данных проводили в программе GraphPad Prism 8.0 (GraphPad, San Diego, CA, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка влияния рифаксими́на и метронидазола на ферментативную активность и таксономический состав микробиоты кишечника у крыс.

После нагрузочного лактулозного теста статистически значимые отличия уровня водорода в начале и конце эксперимента были выявлены в группе «Рифаксимин» и составляли $59,1 \pm 11,2$ ppm*ч и $180,5 \pm 41,8$ ppm*ч, соответственно ($p < 0,05$) (Рисунок 2). Уровень метана статистически значимо снижался в группе «Рифаксимин» – в начале эксперимента и в конце эксперимента уровень метана составлял в группе «Рифаксимин» $39,0 \pm 1,3$ ppm*ч и $32,4 \pm 1,7$ ppm*ч ($p < 0,01$), соответственно. В группе «Метронидазол» статистически значимых отличий уровней газов не было обнаружено.

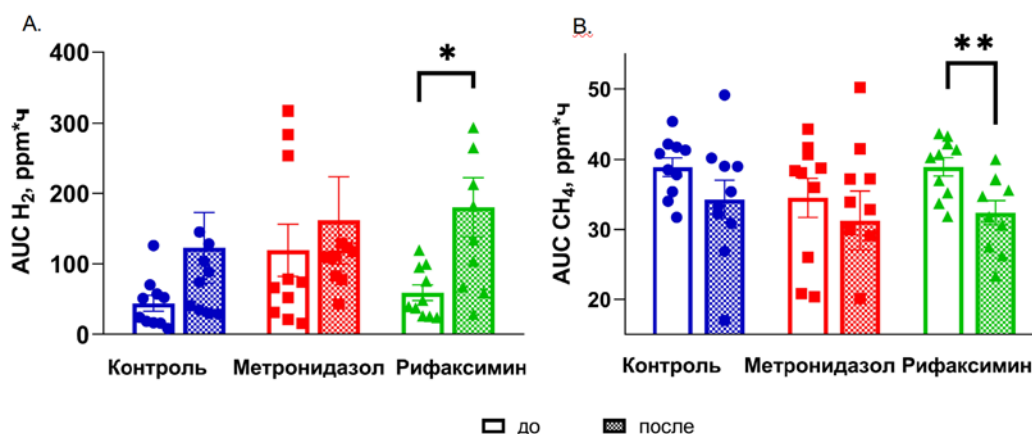


Рисунок 2 – Изменение уровней водорода (А) и метана (В) в воздушной пробе после лактулозной нагрузки у крыс; * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$

Анализ α -разнообразия (внутривидовое) проводили путем расчета индекса Шеннона и обратного индекса Симпсона для каждой экспериментальной группы. Индекс Шеннона суммирует количество информации о численности и видовом составе микроорганизмов. Обратный индекс Симпсона служит мерой связи числа степеней свободы внутривидовых и межвидовых взаимодействий. Статистически значимое снижение индекса Шеннона и обратного индекса Симпсона было отмечено в группе «Метронидазол» ($p < 0,01$). В группах «Контроль» и «Рифаксимин» статистически значимых отличий обнаружено не было (Рисунок 3А). Анализ главных координат (РсоА) на основе сходства Брея-Кертиса при относительной нормализации выявил значительный сдвиг центроидов в группе «Метронидазол» (PERMANOVA: $F=4,4$, $p=0.001$) (Рисунок 3В).

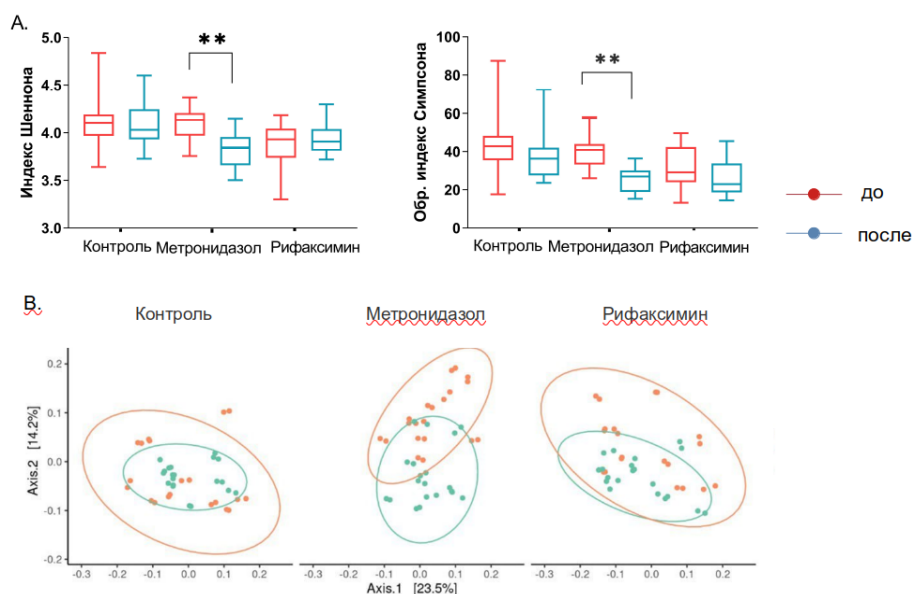


Рисунок 3 – А. Визуализация α -разнообразия микробиоты кишечника у крыс. В. Анализ главных координат (РсоА), основанный на несходстве Брея Кертиса, бактериальных сообществ в экспериментальных группах; ** $p < 0,01$

Изменение численной представленности микробных сообществ на уровне рода в экспериментальных группах было следующим: в группе «Метронидазол» статистически значимо уменьшалось обилие *Lactobacillus* в 1,5 раза ($p < 0,05$), *Intestinimonas* в 33,2 раза ($p < 0,05$) (филум *Firmicutes*), *Prevotellaceae NK3B31 group* в 3,1 раза ($p < 0,05$) (филум *Bacteroidota*), увеличивалось *Christensenellaceae R7 group* в 9,5 раза (филум *Firmicutes*) ($p < 0,05$).

Рифаксимин и метронидазол оказывают различное воздействие на кишечную микробиоту. Рифаксимин, в отличие от метронидазола, избирательно воздействует на определенные группы микроорганизмов, увеличивая продукцию эндогенного водорода и подавляя метаногенез. Повышение концентрации водорода в выдыхаемом воздухе на фоне приема рифаксимины может быть обусловлено увеличением относительной численности *Lachnospiraceae FCS 020 group*. Эти бактерии, обладающие [FeFe]-гидрогеназами, способны к продукции водорода и короткоцепочечных жирных кислот, конкурируя с метаногенами [Søndergaard, D., 2016]. Увеличение обилия микроорганизмов рода *Akkermansia* на фоне приема рифаксимины имеет важное значение, учитывая установленную защитную роль этих микроорганизмов при воспалительных заболеваниях кишечника [Pittayanon, R., 2020]. Прием метронидазола не вызывал изменений продукции водорода и метана, регистрируемых в выдыхаемом воздухе, тогда как изменения таксономического состава были более выраженные, чем при введении рифаксимины. При введении метронидазола в течение трех недель происходило резкое снижение относительной представленности *Intestinimonas* – грамположительных анаэробных бутират-продуцирующих бактерий, необходимых для поддержания целостности слизисто-эпителиального барьера и гомеостаза кишечной микробиоты [Stadlbauer, V, 2020]. Снижение α - и β -разнообразия микробиоты кишечника, вызванное метронидазолом, является существенным повреждающим фактором на микробиоту кишечника, так как антибиотик-ассоциированное снижение разнообразия может повысить восприимчивость к колонизации кишечника различными нозокомиальными патогенами [Стома, И. О., 2024].

Оценка влияния перорального приема CoQ10 на ферментативную активность микробиоты кишечника (по уровню водорода, метана, КЦЖК), а также на таксономический состав микробиоты кишечника у крыс.

Сравнение площадей под кривыми (AUC) динамики концентрации H_2 в суммарной воздушной пробе после лактулозной нагрузки за 8 – часовой период выявило усиление выработки H_2 в группе «Коэнзим Q10» в 1,83 раза по отношению к исходному состоянию и составило $83,26 \pm 9,17$ ppm*ч ($p < 0,05$). Статистически достоверное увеличение динамики генерации CH_4 было выявлено в группах «Контроль» в 2,16 раза и «Носитель» в 1,47 раза и

составило $1036 \pm 214,6$ ppm*ч ($p < 0,05$) и $679,6 \pm 91,36$ ppm*ч ($p < 0,05$), соответственно (Рисунок 4).

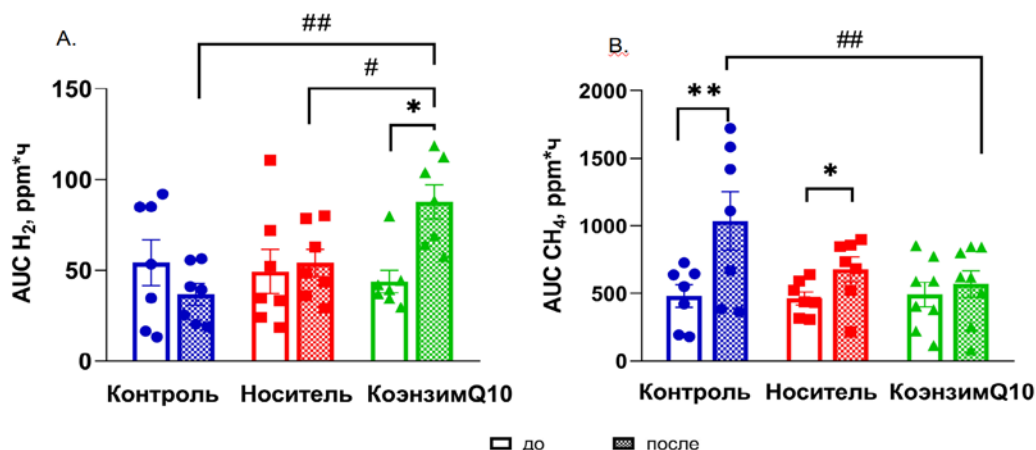


Рисунок 4 – Изменение уровней водорода (А) и метана (В) в воздушной пробе после лактулозной нагрузки у крыс; * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ – статистические значимые отличия в экспериментальных группах в начале и в конце эксперимента; # $p < 0,05$, ## $p < 0,01$ – «Контроль», «Носитель» vs «Коэнзим Q10» статистические значимые отличия в конце эксперимента

Суммарная концентрация КЦЖК в кале статистически значимо увеличивалась только в группе «Коэнзим Q10» с $6,8 \pm 1,6$ ммоль/кг до $11,1 \pm 2,5$ ммоль/кг ($p < 0,05$) (Таблица 1). В группе «Контроль» суммарная концентрация КЦЖК в кале в начале и конце эксперимента составляла $8,4 \pm 2,4$ ммоль/кг и $8,8 \pm 1,9$ ммоль/кг, в группе «Носитель» $5,7 \pm 2,4$ ммоль/кг и $6,6 \pm 2,3$ ммоль/кг, соответственно. Внутригрупповые сравнения выявили статистические значимые различия в содержании ацетата и бутирата в кале в группе «Коэнзим Q10»: концентрация ацетата возрастала в конце эксперимента с $4,9 \pm 1,1$ ммоль/кг до $7,5 \pm 1,8$ ммоль/кг ($p < 0,05$), бутирата с $0,28 \pm 0,1$ ммоль/кг до $0,63 \pm 0,2$ ммоль/кг ($p < 0,05$).

Таблица 1 – Концентрации короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК) в кале

Показатель	Контроль			Носитель			CoQ10		
	до	после	<i>p</i>	до	после	<i>p</i>	до	после	<i>p</i>
C ₂ ⁻ , ммоль/кг	5,5 ± 1,5	5,7 ± 1,2	0,8	3,9 ± 1,6	4,5 ± 1,7	0,8	4,9 ± 1,1	7,5 ± 1,8	*0,04
C ₃ ⁻ , ммоль/кг	2,5 ± 0,8	2,6 ± 0,6	0,8	1,5 ± 0,7	1,7 ± 0,6	>0,999	2,3 ± 0,5	3,4 ± 0,8	0,09
C ₄ ⁻ , ммоль/кг	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,4	0,3 ± 0,2	0,4 ± 0,1	0,7	0,28 ± 0,1	0,6 ± 0,2	*0,04
КЦЖК _{общ} , ммоль/кг	8,4 ± 2,4	8,8 ± 1,9	0,7	5,7 ± 2,4	6,6 ± 2,3	0,8	6,8 ± 1,6	11,1 ± 2,5	*0,02

Анализ альфа-разнообразия, выполненный с помощью пакета microeco, проводился с использованием индексов Шеннона и обратного индекса Симпсона. Индекс Шеннона статистически значимо возрастал в конце эксперимента в группах «Носитель» ($p < 0,05$) и «Коэнзим Q10» ($p < 0,05$). Обратный индекс Симпсона повышался только в группе «Коэнзим Q10» ($p < 0,01$) (Рисунок 5А). Различия между микробным разнообразием в группах проверяли с помощью пермутационного многомерного дисперсионного анализа (ADONIS, функция «adonis2») на основе евклидовых несходств и на данных с логарифмическим отношением

центроидов по причине композиционного поведения абсолютных данных (функция «phyloseq::distance»). Результаты анализа PERMANOVA выявили статистически значимые различия в составе бактериальных сообществ между экспериментальными группами (betadisper $pV > 0,01$ – вариации однородны, adonis2 $pV = 0,001$). Анализ главных координат (PcoA) на основе сходства Брея-Кертиса при относительной нормализации выявил значительное разделение образцов в группе «Коэнзима Q10» (Рисунок 5В).

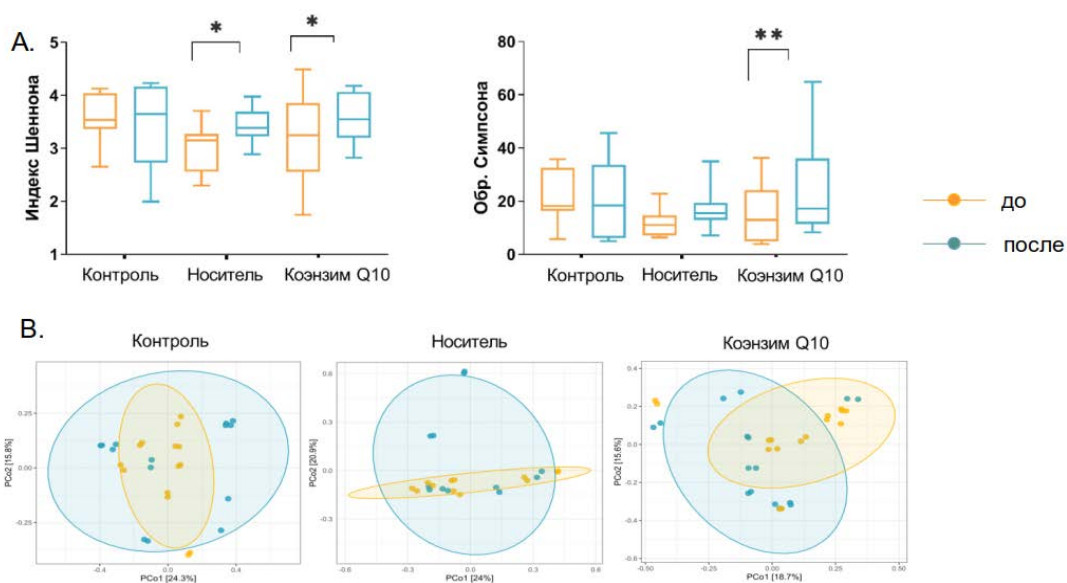


Рисунок 5 – А. Визуализация α -разнообразия микробиоты кишечника у крыс в начале и конце эксперимента. В. Анализ главных координат (PcoA), основанный на несходстве Брея-Кертиса, бактериальных сообществ в экспериментальных группах; ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$

Анализ дифференциальной численности показал, что рода, представленные в начале и конце эксперимента для группы «Контроль», включали *Turicibacter* (увеличение в 10,4 раза), *Erysipelatoclostridium* (увеличение в 5,1 раза), *Lachnospiraceae AC 2044* (уменьшение в 2,5 раз); для группы «КоэнзимQ10» – *Ruminococcus* (увеличился в 2,4 раза), *Dorea sp.* (увеличился от необнаруженного количества до 0,36%), *Helicobacter* (уменьшился в 2,8 раза), *Lachnospiraceae AC 2044* (увеличился в 7,5 раза), *Pygmaibacter* (увеличился от необнаруженного количества до 0,15%). Однако, за исключением *Helicobacter*, средняя численность которого в начале эксперимента составляла 2,4% и снизилась до 0,6%, все эти рода были незначительными и составляли менее 1% сообщества.

Секвенирование кала методом 16S-рРНК позволило обнаружить увеличение доли бактерий *Ruminococcus* и *Lachnospiraceae AC 2044 group*, которые, по литературным данным, участвуют в генерации H_2 [Медведев, О. С., 2022, Benoit, S. L., 2020]. Одновременно, прием CoQ10 вызывал подавление относительной численности бактерий *Helicobacter*, имеющих в [NiFe]-гидрогеназы. Согласно базе данных HydDB [Søndergaard, D., 2016], бактерии, обладающие гидрогеназами типа [NiFe] способны утилизировать водород. Повышение

соотношения водородгенерирующих/водородутилизирующих бактерий может объяснять усиление продукции водорода микробиотой кишечника на фоне приема CoQ10. Полученные результаты позволяют предположить, что увеличение образования водорода может быть новым механизмом антиоксидантного действия коэнзима Q10, опосредованным через изменения в составе и активности микробиоты.

Изменение ферментативной активности и таксономического состава микробиоты кишечника, состояния слизисто-эпителиального барьера толстой кишки, а также уровней холестерина, триглицеридов и глюкозы в крови при использовании повышенного содержания жиров разного состава в рационе питания у крыс.

Изменения уровня холестерина, триглицеридов и глюкозы в сыворотке крови у крыс в зависимости от рациона, приведены на рисунке 6.

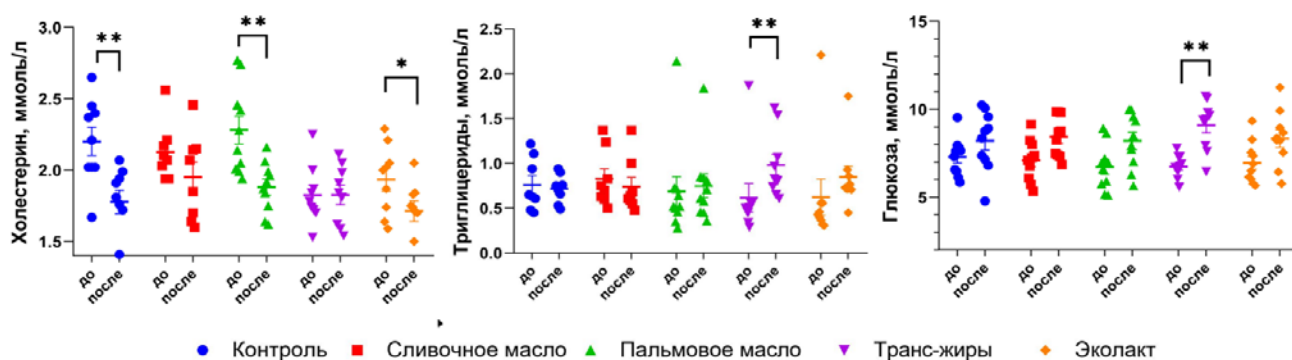


Рисунок 6 – Изменения уровней общего холестерина, триглицеридов, глюкозы в сыворотке крови у крыс во всех экспериментальных группах; ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$

В группах «Контроль», «Пальмовое масло» и «Эколакт» происходило снижение уровня холестерина на $14,84 \pm 5,4\%$, $16,0 \pm 4,5\%$ и $10,7 \pm 3,8\%$ соответственно. Уровень триглицеридов достоверно повышался только у крыс в группе «Транс-жиры», составляя в начале эксперимента $0,48 \pm 0,04$ ммоль/л и через 18 недель $0,93 \pm 0,1$ ммоль/л ($p < 0,01$). Потребление корма с повышенным содержанием жиров приводило к статистически значимому увеличению уровня глюкозы в сыворотке крови в конце эксперимента по отношению к исходным значениям в группе «Транс-жиры» от $6,74 \pm 0,2$ ммоль/л до $9,1 \pm 0,4$ ммоль/л ($p < 0,01$). В остальных экспериментальных группах увеличение уровня глюкозы в сыворотке крови не было статистически значимым.

Сравнение площадей под кривыми динамики концентрации водорода в выдыхаемом воздухе после лактулозной нагрузки натошак в конце эксперимента выявило достоверно более высокое значение в группе «Эколакт» $150,9 \pm 42,8$ ppm*ч по отношению к группе «Контроль» $67,17 \pm 10,98$ ppm*ч ($p < 0,05$).

Содержание структур в криптах, синтезирующих слизистые гликопротеины, было статистически значимо более выражено в группе «Эколакт» $23,05 \pm 4,94\%$, чем в группе «Контроль» $9,31 \pm 0,63\%$ ($p < 0,01$) (Таблица 3). При анализе экспрессии *Muc-2* была установлена слабая экспрессия *Muc-2* в группе «Контроль» (только один случай умеренной интенсивности из десяти). Для группы «Эколакт» в 50% случаев была характерна умеренная экспрессия, в 33% случаев – слабая экспрессия и в 17% случаев – сильная экспрессия *Muc-2* (Рисунок 7).

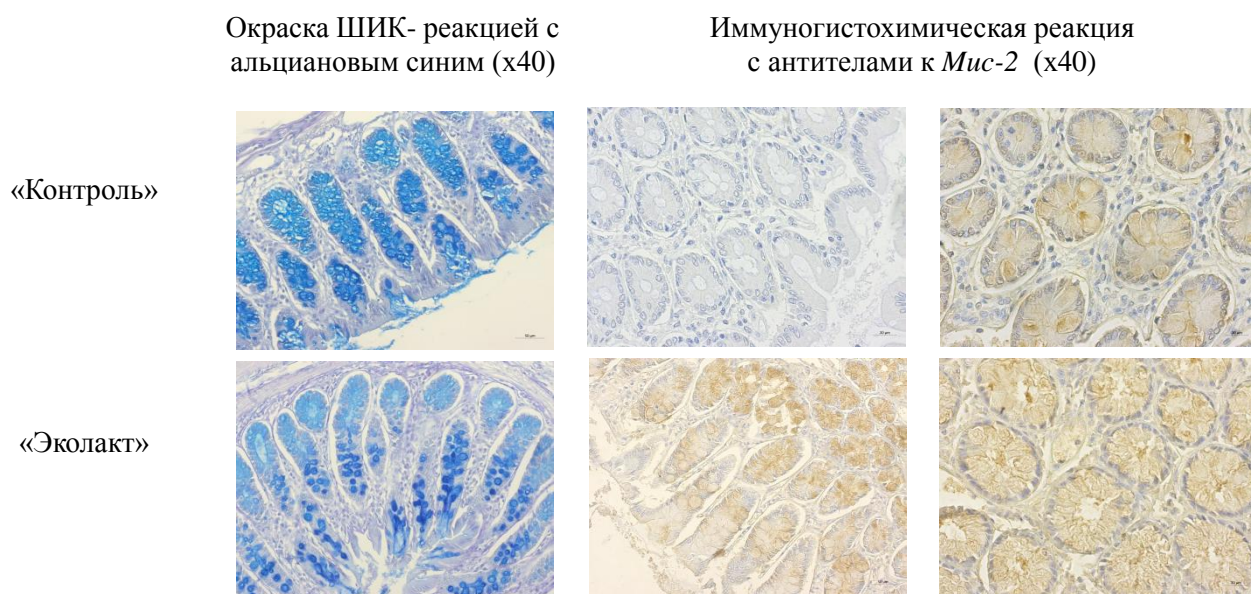


Рисунок 7 – Гистологическое исследование образцов тканей толстой кишки крыс

Анализ α -разнообразия показал статистически значимые отличия между группами (Рисунок 8). В группе «Эколакт» по сравнению с контролем индекс Шеннона и обратный индекс Симпсона были выше на 6% ($p < 0,01$) и 24% ($p < 0,01$), соответственно.

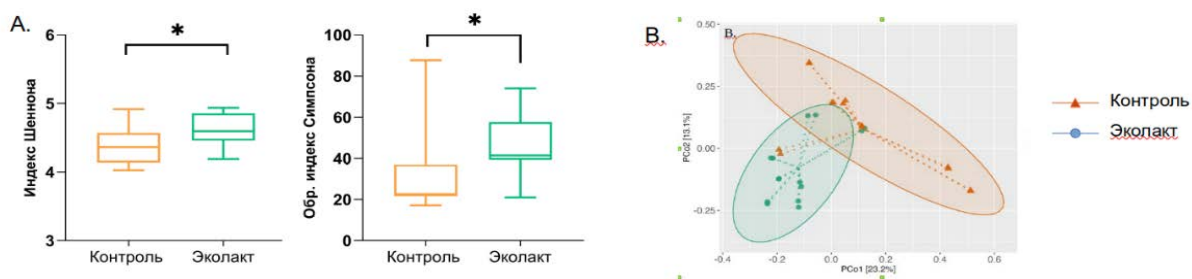


Рисунок 8 – А. Визуализация α -разнообразия микробиоты кишечника у крыс в конце эксперимента. В. Анализ главных координат (РсоА), основанный на несходстве Брея-Кертиса, бактериальных сообществ в экспериментальных группах; * $p < 0,05$

Основные различия таксономического состава в экспериментальных группах были обнаружены в семействах *Ruminococcaceae*, *Rikenellaceae*, *Lactobacillaceae*. В группе «Эколакт» наблюдалось статистически значимое увеличение относительной численности родов *Ruminococcus* в 3,3 раза ($p < 0,05$), *Faecalibacterim* в 28,9 раза ($p < 0,05$), *Rikenellaceae RC9 gut group* в 1,8 раза ($p < 0,01$), *Ligilactobacillus* в 3 раза ($p < 0,01$) по отношению к группе «Контроль». Статистически значимое повышение соотношения родов *Prevotella/Bacteroides* (P/B) наблюдалось в группе «Эколакт» и составляло $0,05 \pm 0,01$, в то время как в группе «Контроль» было $0,0006 \pm 0,002$ ($p < 0,01$).

Длительное применение ненасыщенных жирных кислот оказывает модулирующее воздействие на микробиоту кишечника, проявляющееся в усилении продукции водорода. Данный эффект может рассматриваться как потенциальный механизм защиты при хронических заболеваниях, таких как сердечно-сосудистые патологии и сахарный диабет 2 типа. Кроме того, морфометрические и иммуногистохимические исследования подтвердили улучшение состояния слизисто-эпителиального барьера толстой кишки под воздействием ненасыщенных ЖК. Укрепление барьерной функции кишечника может оказывать благоприятное воздействие не только на течение воспалительных заболеваний желудочно-кишечного тракта (ВЗК), но и на хронические неинфекционные заболевания за счет снижения системного воспаления низкой интенсивности (“low-grade systemic inflammation”) [Maes, M. et al., 2012]. Одновременно наблюдалось увеличение α - и β -разнообразия микробиоты, а также повышение представленности родов *Ruminococcus*, *Faecalibacterium*, *Rikenellaceae RC9 gut group* и *Ligilactobacillus*, что свидетельствует о формировании благоприятной экосистемы кишечника, обладающей потенциальным защитным эффектом против ВЗК и других неинфекционных заболеваний.

Изменение ферментативной активности и состава микробиоты кишечника у крыс в рационе с низким и высоким содержанием фруктоолигосахаридов.

После нагрузочного лактулозного теста статистически значимо увеличение скорости генерации водорода в начале и конце эксперимента были выявлены в группах «Фруктоолигосахариды 25%» и составляли $51,58 \pm 12,42$ ($p < 0,05$) и $242,6 \pm 73,51$ ($p < 0,05$), соответственно (Рисунок 9). При анализе скорости образования метана в течение 8 часов в выдыхаемом воздухе после лактулозной нагрузки было показано, что уровень метана статистически значимо снижался в группах «Фруктоолигосахариды 25%». До начала эксперимента и в конце эксперимента значения скорости образования метана составляли в группе «Фруктоолигосахариды 25%» $37,92 \pm 1,36$ и $28,15 \pm 3,35$ ($p < 0,05$).

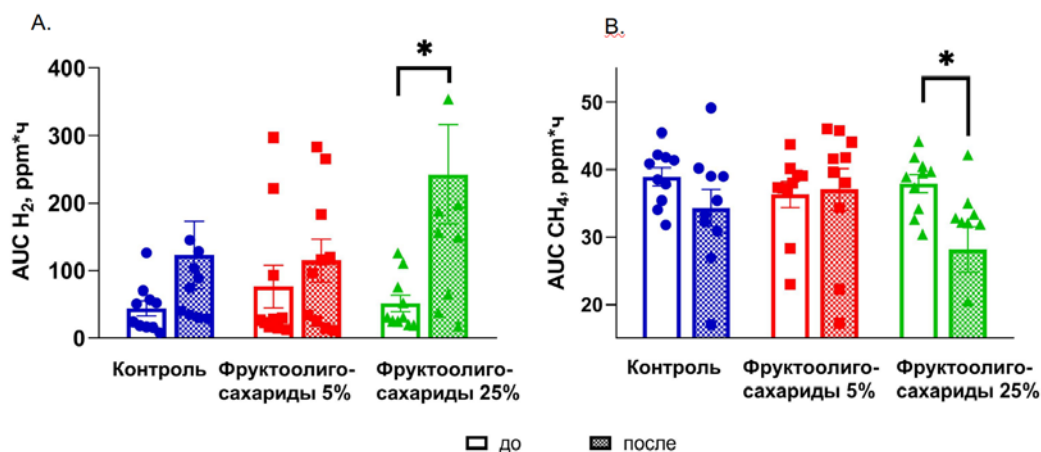


Рисунок 9 – Изменение уровней водорода (А) и метана (В) в воздушной пробе после лактулозной нагрузки у крыс; * $p < 0,05$

Анализ α -разнообразия показал статистически значимые отличия в начале и в конце эксперимента в группах «Фруктоолигосахариды 5%», «Фруктоолигосахариды 25%». Индекс Шеннона увеличился в группе «Фруктоолигосахариды 5%» на 9,6% ($p < 0,01$), уменьшился в группе «Фруктоолигосахариды 25%» на 13,3% ($p < 0,01$) (Рисунок 10А). PERMANOVA-анализ экспериментальных групп показал, что в группе «Фруктоолигосахариды 25%» наблюдаются статистически значимые различия в составе бактериальных сообществ после введения исследуемых веществ (Рисунок 10В).

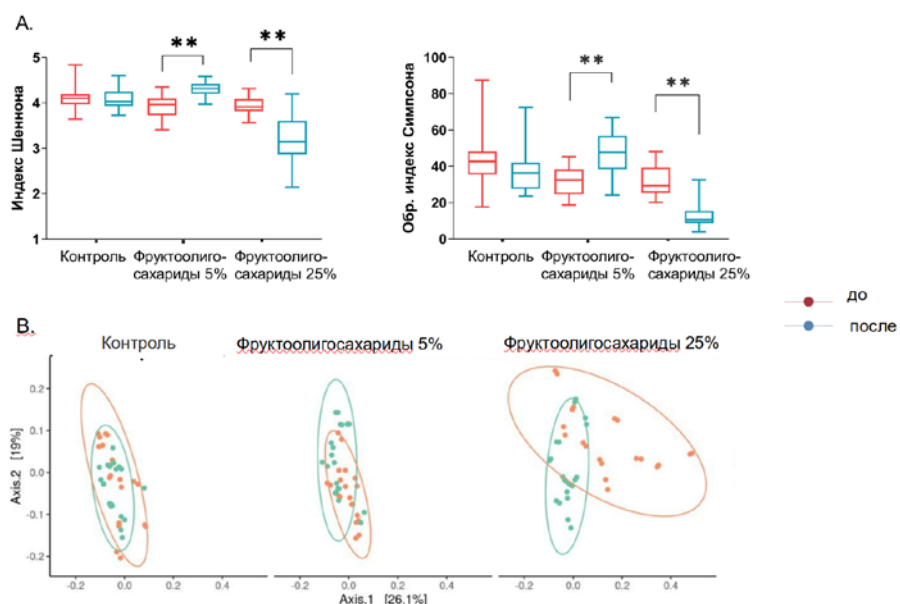


Рисунок 10 – А. Визуализация α -разнообразия микробиоты кишечника у крыс в начале и в конце эксперимента. В. Анализ главных координат (РсоА), основанный на несходстве Брея-Кертиса, бактериальных сообществ в экспериментальных группах; ** $p < 0,01$

Основные различия таксономического состава наблюдались в экспериментальных группах «Фруктоолигосахариды 5%» и «Фруктоолигосахариды 25%». У животных с добавлением 5% ФОС к корму было обнаружено статистически значимое увеличение обилия родов *Intestimonas* в 1,8 раза, *Holdemanella* в 2,7 раза (филум *Firmicutes*), *Turicibacter* в 3,8 раза (филум *Bacteroidota*), уменьшение *Ruminococcus* в 1,5 раза (филум *Firmicutes*), *Prevotellaceae NK3B31 group* в 1,4 раза (филум *Bacteroidota*) и *Akkermansia* в 3,5 раза (филум *Verrucomicrobiota*). В группе «Фруктоолигосахариды 25%» наблюдалось увеличение представленности *Holdemanella* в 6,2 раза, *Bifidobacterium* (филум *Actinobacteroidota*) в 3,3 раза, *Akkermansia* в 1,4 раза и уменьшение *Lachnospiraceae NK4A136 group* в 8,5 раза, *Christensenellaceae R7 group* в 11,2 раза (филум *Firmicutes*).

Добавление в рацион 25% фруктоолигосахаридов приводило к значительной модуляции газового состава кишечника, характеризующейся усилением продукции водорода и одновременным снижением уровня метана. При использовании 5% ФОС существенных изменений в образовании водорода и метана не наблюдалось. Параллельно, анализ таксономического состава микробиоты выявил в группе «Фруктоолигосахариды 25%» увеличение относительной представленности бактерий родов *Allobaculum*, *Holdemanella* и *Bifidobacterium*, что указывает на потенциальный благоприятный эффект высокого содержания ФОС на структуру микробного сообщества.

Оценка образования водорода и метана у низко- и высокометановых крыс после однократной нагрузки сложными углеводами.

Уровни динамики образования водорода и метана после однократной нагрузки сложными углеводами у крыс с низкой и высокой метангенерирующей активностью, а также сравнение степени ответной реакции на введение неперевариваемых углеводов, графически приведены на рисунке 11. У низкометановых крыс значение площади под кривой динамики водорода (AUC H₂) после введения лактулозы составило 68,0±6,74 ppm*ч, гуаровых камедей – 49,5±5,6 ppm*ч, инулина – 32,98±3,4 ppm*ч. У высокометановых значение AUC H₂ после лактулозы составило 34,9±4,8 ppm*ч, гуаровых камедей – 18,0±2,7 ppm*ч, инулина – 22,5±2,7 ppm*ч. Уровень метана у низкометановых крыс оставался низким после введения всех типов сложных углеводов. Уровень метана различался на фоне введения гуаровых камедей и инулина и составлял 276,9±26,83 ppm*ч и 350,0±31,35 ppm*ч, соответственно ($p < 0,05$). У высокометановых значение AUC CH₄ после лактулозы составило 334,2±23,6 ppm*ч, гуаровых камедей – 276,9±26,83 ppm*ч, инулина – 350,0±31,35 ppm*ч.

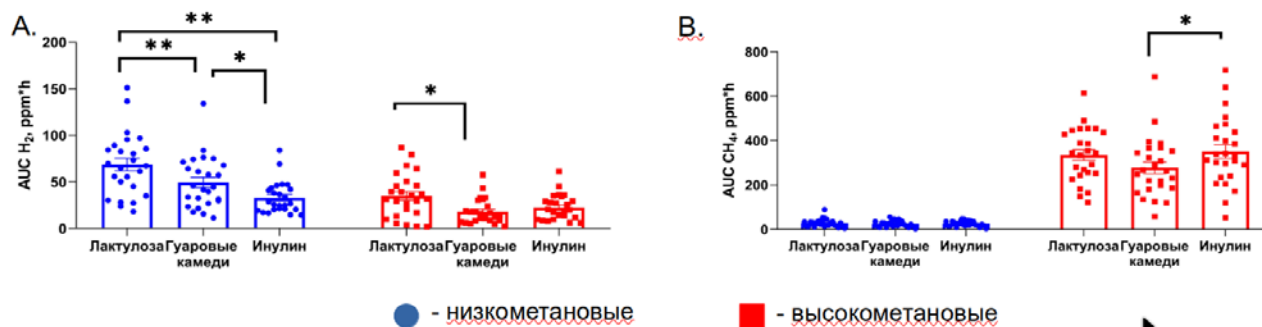


Рисунок 11 – Сравнение динамики образования водорода (А) и метана (В) на фоне однократной нагрузки сложными углеводами у крыс с низкой и высокой метангенерирующей активностью; ** $p < 0,01$, * $p < 0,05$

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В рамках диссертационной работы были проведены эксперименты, посвященные модуляции таксономического состава (количественное и качественное соотношение различных бактериальных групп) и ферментативной активности микробиоты кишечника (уровень газовых биомаркеров водорода и/или метана, уровень короткоцепочечных жирных кислот), путем применения фармакологических препаратов (рифаксимины, метронидазол, коэнзима Q10) и средств с пребиотической активностью (жирных кислот, фруктоолигосахаридов).

Все исследуемые вещества (рифаксимин, метронидазол, коэнзим Q10, ненасыщенные жирные кислоты, фруктоолигосахариды) продемонстрировали выраженную способность модулировать состав и функциональную активность кишечной микробиоты. Эти результаты имеют значимую перспективу в контексте последней концепции современной медицины, которая основывается на 5 звеньях – Personalized (персонализированная), Predictive (предиктивная), Preventive (превентивная), Participatory (партисипативная=мотивированное участие пациента), and Precision (прецизионная=точная) [Borrás-Blasco, J., 2024; Pires, I. M. et al., 2021]. Полученные результаты расширяют понимание механизмов взаимодействия между фармакологическими агентами и микробным сообществом, что имеет важное значение для разработки персонализированных подходов к коррекции профиля кишечной микробиоты и профилактике ассоциированных с ним заболеваний. Внедрение неинвазивного метода оценки газовых биомаркеров в доклинические исследования создает основу для более точного прогнозирования эффектов лекарственных и биологически активных веществ в клинической практике. Дальнейшие исследования в этом направлении позволят уточнить молекулярные механизмы выявленных эффектов и оптимизировать стратегии управления микробиотой, как терапевтической мишенью, для улучшения здоровья человека.

Перспективы дальнейшей разработки темы. Индивидуальный ответ на коррекцию микробиоты зависит от её исходного состояния, что требует персонализированных стратегий ее модуляции. Концентрации водорода и метана в выдыхаемом воздухе могут служить ценными

биомаркерами для прогнозирования эффективности терапии. Разработка портативных устройств для неинвазивного измерения этих газов открывает перспективы для самоконтроля пациентами и следования персонализированным рекомендациям по коррекции микробиоты, улучшая профилактику и лечение ассоциированных заболеваний.

Для более глубокого понимания взаимодействия “хозяин-микробиота” необходимы дальнейшие исследования, анализирующие различные исходные профили микробиоты и широкий спектр терапевтических вмешательств.

ВЫВОДЫ

1. Рифаксимин и метронидазол оказывают различное воздействие на таксономический состав и функциональную активность кишечной микробиоты:

– доза рифаксимины 150 мг/кг/день увеличивает образование эндогенного водорода в среднем в 3,7 раза и подавляет образование метана в 1,2 раза, способствует размножению микроорганизмов родов *Lachnospiraceae FCS 020 group* и *Intestimonas* (филум *Firmicutes*), *Akkermansia* (филум *Verrucomicrobiota*) и сохранению микробного разнообразия;

– метронидазол в дозе 30 мг/кг/день уменьшает α -разнообразие кишечной микробиоты, что является фактором риска для колонизации кишечника патогенами и развития антибиотик-ассоциированных осложнений.

2. Доза коэнзима Q10 30 мг/кг/день повышает образование эндогенного водорода в среднем в 2,2 раза, уровень короткоцепочечных жирных кислот (ацетата на 56% и бутирата на 126%) по отношению к исходному состоянию. Прием дозы коэнзима Q10 30 мг/кг/день увеличивает относительное количество микроорганизмов родов *Ruminococcus*, *Dorea sp.*, *Lachnospiraceae AC 2044* (филум *Firmicutes*), снижает обилие рода *Helicobacter* в кишечнике (филум *Campylobacterota*).

3. Ненасыщенные ЖК увеличивают образование эндогенного водорода в среднем в 1,8 раза, увеличивают α - и β -разнообразие микробиоты кишечника, относительную представленность родов *Ruminococcus*, *Faecalibacterium*, *Ligilactobacillus* (филум *Firmicutes*), *Rikenellaceae RC9 gut group* (филум *Bacteroidota*) микробиоты кишечника у крыс. Дополнительно, ненасыщенные ЖК в рационе способствуют улучшению состояния слизисто-эпителиального барьера толстой кишки у крыс: увеличивают площадь структур, выделяющих муцины в криптах, в среднем в 2,5 раза, усиливают экспрессию *MUC-2*.

4. Добавление 25% фруктоолигосахаридов в рацион питания крыс увеличивает образование эндогенного водорода в среднем в 7,7 раза, одновременно подавляя образование метана в среднем в 1,8 раза, увеличивают β -разнообразие кишечной микробиоты и относительную численность микроорганизмов родов *Holdemanella* (филум *Firmicutes*), *Bifidobacterium* (филум *Actinobacteroidota*), а также снижают относительную численность

микроорганизмов родов *Lachnospiraceae NK4A136 group* и *Christensenellaceae R7 group* (филум *Firmicutes*).

5. На фоне введения сложных углеводов у низкометановых крыс наблюдалось увеличение образования водорода: на фоне лактулозы $68,0 \pm 6,74$ ppm*ч, на фоне гуаровых камедей – $49,5 \pm 5,6$ ppm*ч, на фоне инулина – $32,98 \pm 3,4$ ppm*ч. После аналогичных нагрузок у высокометановых крыс уровень образования водорода был статистически значимо ниже по отношению к этим значениям и составлял $34,9 \pm 4,8$ ppm*ч, $18,0 \pm 2,7$ ppm*ч, $22,5 \pm 2,7$ ppm*ч, соответственно, что свидетельствует о затруднении модуляции микробиоты кишечника в сторону большего образования водорода у метангенерирующих крыс.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Разработанная экспериментальная установка для дыхательного теста у животных применима в доклинических исследованиях для оценки влияния различных агентов (пре-, про-, синбиотиков, постбиотиков, лекарственных средств) на модуляцию микробиоты кишечника.

2. Дыхательный тест необходим в качестве инструмента для оценки метаболической активности микробиоты кишечника, а также для поиска рациональной стратегии ее модуляции. Полученные результаты могут быть использованы для разработки диагностических тест-систем, предназначенных для самостоятельного мониторинга уровней водорода и метана в выдыхаемом воздухе у человека. Данные системы могут представлять значительную ценность для профилактики и контроля течения неинфекционных заболеваний, ассоциированных с нарушениями микробиоты кишечника.

3. Стимуляция образования молекулярного водорода коэнзимом Q10 на микробиоту кишечника может расширить сферу его клинического применения. Повышение уровня молекулярного водорода, обладающего антиоксидантными свойствами, потенциально усиливает антиоксидантный эффект коэнзима Q10, делая его перспективным терапевтическим агентом с комплексным механизмом действия.

4. Выявленные различия в продукции водорода и метана у крыс, а также их отличия в реакции на разные нагрузки сложными углеводами подчеркивают необходимость персонализированного подхода к модуляции микробиоты кишечника, учитывающего индивидуальные характеристики метаболической активности микробиоты для оптимизации результатов лечения и профилактики неинфекционных заболеваний.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ

1. **Иванова, А. Ю.** Изменение функциональной активности микробиоты кишечника крыс на фоне диеты с повышенным содержанием жировых продуктов с различным жирнокислотным составом / А. Ю. Иванова, И. В. Широков, М. А. Белоусова, Н. А. Медведева, О. С. Медведев // Технологии живых систем. – 2020. – Т. 17, № 4. – С. 29–41.

2. **Иванова, А. Ю.** Способность коэнзима Q10 увеличивать генерацию водорода микробиотой кишечника крыс как новый компонент в механизме реализации его антиоксидантных эффектов / А. Ю. Иванова, И. В. Широков, Г. Н. Бондаренко, О. С. Медведев // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2022. – Т. 85, № 12. – С. 20–24.

Статьи и тезисы, опубликованные в других изданиях

1. Медведев, О. С. Оценка функции микробиома крыс под влиянием диет с высоким содержанием различных жиров и углеводов по изменению массы тела и образованию водорода / О. С. Медведев, **А. Ю. Иванова**, Е. Ю. Рысенкова // Материалы XVII Всероссийского конгресса с международным участием "Фундаментальные и прикладные аспекты нутрициологии и диетологии. Лечебное, профилактическое питание. – 2018. – Т. 28, №5 – С. 99.

2. **Иванова, А. Ю.** Подходы к повышению функциональной активности микробиоты в эксперименте на крысах / А. Ю. Иванова, М. А. Белоусова, С. С. Трунов, О. С. Медведев // Сборник тезисов докладов Пятой Междисциплинарной конференции Молекулярные и Биологические аспекты Химии, Фармацевтики и Фармакологии. – 2019. – Т.1. – С. 40.

3. **Ivanova, A. Yu.** Experimental Setup for Measurements the Hydrogen Concentration in Exhaled Rat's Air / A. Yu. Ivanova, I. V. Shirokov, P. V. Luzhnov, O. S. Medvedev // 2020 Ural Symposium on Biomedical Engineering, Radioelectronics and Information Technology (USBREIT). – 2020. – P. 54–57.

4. **Иванова, А. Ю.** Антиоксидантный компонент влияния кишечной микробиоты на сердечно-сосудистую систему / А. Ю. Иванова, Е. Ю. Рысенкова, М. Д. Смирнова, Т. В. Фофанова, О. С. Медведев // Кардиологический вестник. – 2021. – Т. 16, №2. – С. 1521.

5. Медведев, О. С. Персонализированные подходы к коррекции дисбиоза кишечника при сердечно-сосудистых патологиях с помощью диетических и фармакологических воздействий / О. С. Медведев, **А. Ю. Иванова**, Т. А. Куропаткина, И. В. Широков // Ежегодная Всероссийская научно-практическая конференция «Кардиология на марше 2022» и 62-я сессия ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И.Чазова» Минздрава России.

6. **Ivanova, A.Yu.** Effects of Coenzyme Q10 on the Biomarkers (Hydrogen, Methane, SCFA and TMA) and Composition of the Gut Microbiome in Rats / A. Yu. Ivanova, I. V. Shirokov, S. V. Toshchakov, A. D. Kozlova, O. N. Obolenskaya, S. S. Mariasina, V. A. Ivlev, I. B. Gartseev, O. S.

Medvedev // *Pharmaceuticals*. – 2023. – Vol. 16, №5. – P. 686.

7. **Иванова, А. Ю.** Влияние коэнзима Q10 на функциональную активность и таксономический состав кишечной микробиоты у крыс / А. Ю. Иванова, Широков И.В., С. В. Тошчаков, О. Н. Оболенская, С. С. Марьясина, О. С. Медведев // Сборник докладов VIII Междисциплинарной конференции "Молекулярные и Биологические аспекты Химии, Фармацевтики и Фармакологии". – 2023. – С. 49.

8. Медведев, О. С. Роль биомаркеров микробиоты кишечника в антиоксидантной защите организма / О. С. Медведев, **А. Ю. Иванова**, И. В. Широков, Ф. И. Романихин // Сборник тезисов XXIV съезда физиологического общества им. И. П. Павлова. – Санкт-Петербург. – 2023. – С. 562.

9. Medvedev, O.S. Differential effects of carbohydrates on the generation of hydrogen and methane in low- and high-methane producing rats / O. S. Medvedev, **A.Yu. Ivanova**, M. A. Belousova, S. V. Toshchakov, I. V. Shirokov, O. N. Obolenskaya, T. A. Kuropatkina, G. N. Bondarenko, I. B. Gartseev // *Advances in Biochemistry in Health and Disease*. – 2024. – Vol 27. Springer, Cham. – P. 339–358.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ЖК – жирные кислоты

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

КЦЖК – короткоцепочечные жирные кислоты

рРНК – рибосомальная рибонуклеиновая кислота

ФОС – фруктоолигосахариды

ЯМР – ядерно-магнитный резонанс

CoQ10 – коэнзим Q10