

ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИЧЕСКОГО ШТАММА *LACTOBACILLUS DELBRUECKII* TS1-06 НА РАЗМЕР ИНФАРКТА МИОКАРДА И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ У КРЫС WISTAR С СИНДРОМОМ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ОТВЕТА

**Борщев Ю.Ю.¹, Минасян С.М.^{1,2}, Карасева А.Б.³, Буровенко И.Ю.¹,
Борщев В.Ю.², Борщева О.В.¹, Буровенко Д.В.⁴, Суворов А.Н.^{3,5},
Галагудза М.М.^{1,2}**

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

² ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

³ ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

⁴ ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)», Москва, Россия

⁵ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Экспериментальная медицина предоставляет научной общественности большой массив сведений о терапевтической эффективности пробиотических штаммов. Однако, с позиции доказательной медицины, перечень нозологий, контролируемых пробиотиками, ограничен антибиотико-ассоциированной диареей у взрослых и детей, диареей, ассоциированной с *Clostridium difficile*, острой инфекционной диареей у детей и взрослых, эрадикационной терапией, язвенным колитом и синдромом раздраженной кишки. В последнее время к этим заболеваниям прибавляются обоснованные рекомендации врачей для применения пробиотических препаратов с целью модулирования иммунитета. В продолжение представленного ряда заболеваний, учитывая проницаемость для патогенной и условно-патогенной микробиоты барьеров ЖКТ и иммунной системы, представляется логичным предположение об эффективности пробиотиков, как симбиотических регуляторов, в отношении нервной и сердечно-сосудистой систем. Также необходимо учитывать, что цивилизационным приобретением в человеческой популяции являются нарушения метаболизма в виде ожирения, с воспали-

Адрес для переписки:

Галагудза Михаил Михайлович
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения РФ
197341, Россия, Санкт-Петербург, пр. Пархоменко, 15а.
Тел.: 8 (812) 702-37-00.
Факс: 8 (812) 702-37-01.
E-mail: galagudza@almazovcentre.ru

Address for correspondence:

Mikhail M. Galagudza
V. Almazov National Medical Research Center
15a Parkhomenko Ave
St. Petersburg
197341 Russian Federation
Phone: +7 (812) 702-37-00.
Fax: +7 (812) 702-37-01.
E-mail: galagudza@almazovcentre.ru

Образец цитирования:

Ю.Ю. Борщев, С.М. Минасян, А.Б. Карасева, И.Ю. Буровенко, В.Ю. Борщев, О.В. Борщева, Д.В. Буровенко, А.Н. Суворов, М.М. Галагудза «Влияние пробиотического штамма *Lactobacillus delbrueckii* TS1-06 на размер инфаркта миокарда и иммунологические параметры у крыс Wistar с синдромом системного воспалительного ответа» // Медицинская иммунология, 2024. Т. 26, № 1. С. 127-134.
doi: 10.15789/1563-0625-EOL-2611

© Борщев Ю.Ю. и соавт., 2023

Эта статья распространяется по лицензии Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

Yu. Yu. Borshchev, S.M. Minasian, A.B. Karaseva, I.Yu. Burovenko, V.Yu. Borshchev, O.V. Borshcheva, D.V. Burovenko, A.N. Suvorov, M.M. Galagudza "Effects of *Lactobacillus delbrueckii* TS1-06 probiotic strain on the size of myocardial infarction in Wistar rats with systemic inflammatory response syndrome", *Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya*, 2024, Vol. 26, no. 1, pp. 127-134.

doi: 10.15789/1563-0625-EOL-2611

© Borshchev Yu. Yu. et al., 2023

The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.15789/1563-0625-EOL-2611

тельным ответом низкой интенсивности, с характерным цитокиновым паттерном. В этой связи, нами предлагается научная гипотеза об эффективности пробиотических штаммов в отношении увеличения устойчивости миокарда к ишемическому-реперфузионному повреждению, благодаря их способности блокирования отдельных звеньев цитокинового каскада при формировании ответной воспалительной реакции, для последующей трансляции в клиническую практику.

Разработка и валидация новой экспериментальной модели синдрома системного воспалительного ответа (ССВО) на крысах самцах стока Wistar, включающей ожирение, острый воспалительный процесс толстой кишки и антибиотик-индуцированный дисбиоз, стала основой для исследования эффективности пробиотических препаратов в отношении устойчивости миокарда к ишемическому-реперфузионному повреждению (ИРП). У крыс с ССВО обнаружено значимое увеличение размера зоны инфаркта на 28% в экспериментах на изолированном перфузируемом сердце при глобальной ишемии-реперфузии. Существенные изменения лейкоцитарной формулы и иммунологических показателей, сопутствующие ССВО, корректировались введением смеси пробиотических штаммов *L. acidophilus* (LA-5) и *B. animalis subsp. lactis* (BB-12), а также изолированного штамма *L. delbrueckii* TS1-06. У крыс обеих групп с пробиотической коррекцией наблюдали уменьшение зоны инфаркта по сравнению с группой ССВО. Отмечены общие и специфические изменения IL-2, трансформирующего фактора роста- β (TGF- β) и фактора некроза опухолей- α (TNF α). Уменьшение размера инфаркта миокарда при помощи пробиотиков может быть связано с блокированием цитокинов первого порядка, что приводит к «разрыву» провоспалительного каскада. Подтверждена необходимость глубокого исследования механизмов кардиопротекции, опосредованной пробиотиками, в связи с перспективами их применения как симбиотической альтернативы биологическим препаратам, блокирующим основные провоспалительные цитокины.

Ключевые слова: ишемия, реперфузия, сердце, размер инфаркта, кардиопротекция, полиморбидность, синдром системной воспалительной реакции, пробиотики

EFFECTS OF *LACTOBACILLUS DELBRUECKII* TS1-06 PROBIOTIC STRAIN ON THE SIZE OF MYOCARDIAL INFARCTION IN WISTAR RATS WITH SYSTEMIC INFLAMMATORY RESPONSE SYNDROME

Borshchev Yu.Yu.^a, Minasian S.M.^{a, b}, Karaseva A.B.^c, Burovenko I.Yu.^a, Borshchev V.Yu.^b, Borshcheva O.V.^a, Burovenko D.V.^d, Suvorov A.N.^{c, e}, Galagudza M.M.^{a, b}

^a V. Almazov National Medical Research Center, St. Petersburg, Russian Federation

^b First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

^c Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

^d Moscow Physico-Technical Institute, Moscow, Russian Federation

^e St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Experimental medicine provides the scientific community with a plethora of information on therapeutic efficacy of probiotic strains. However, from the point of view of evidence-based medicine, the list of disorders controlled by probiotics is limited to antibiotic-associated diarrhea in adults and children, *Clostridium difficile*-associated diarrhea, acute infectious diarrhea in children and adults, eradication therapy, ulcerative colitis and irritable bowel syndrome. Recently, these indications are also amended by well-validated clinical guidelines for the usage of probiotic preparations, in order to modulate immunity. Given the permeability of gastrointestinal and immune system barriers for pathogenic and opportunistic microbiota, it seems logical to assume the effectiveness of probiotics as potential symbiotic regulators of nervous and cardiovascular systems. It should also be taken into account that metabolic disorders, e.g., obesity, with a low-intensity inflammatory response and characteristic cytokine pattern, are acquired as a gain of human civilization. In this regard, we propose a scientific hypothesis about the effectiveness of probiotic microbial strains in increasing myocardial resistance to ischemic-reperfusion injury, due to their ability to block individual links of the cytokine cascade during the development of inflammatory response, for its subsequent translation into clinical practice.

The development and validation of a new experimental model of systemic inflammatory response syndrome (SIRS) in male Wistar rats, including obesity, acute inflammatory process of the colon, and antibiotic-induced

dysbiosis, became basic to the study of efficacy of probiotic drugs in terms of myocardial resistance to ischemic-reperfusion injury (IRI). Rats with SIRS showed a significantly increased size of the infarction area (+28%) upon experiments with isolated perfused heart under global ischemia-reperfusion conditions. Significant changes in the leukocyte formula and immunological parameters associated with SIRS were corrected by introduction of a mixture of probiotic strains *L. acidophilus* (LA-5) and *B. animalis subsp. lactis* (BB-12), and the isolated strain *L. delbrueckii* TS1-06. In both groups with probiotic correction, there was a decrease in the infarction area compared to the SIRS group. General and specific changes in IL-2, transforming growth factor- β (TGF- β) and tumor necrosis factor- α (TNF α) were noted. The reduction of myocardial infarction by probiotics may be related to the blocking of first-order cytokines, which leads to a «break» of proinflammatory cascade. A need for in-depth study of cardioprotective mechanisms mediated by probiotics was confirmed due to their potential usage as a symbiotic alternative to biological drugs which block the main pro-inflammatory cytokines.

Keywords: ischemia, reperfusion, heart, infarction size, cardioprotection, polymorbidity, systemic inflammatory response syndrome, probiotics

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 18-15-00153).

Введение

К настоящему времени накоплены научные данные о том, что антимикробные (АМП) и пробиотические препараты (ПП), используемые в качестве лечебных и лечебно-профилактических средств, а зачастую и в составе продуктов питания, оказывают как прямое, так и опосредованное влияние на сердечно-сосудистую систему. Важнейшим механизмом опосредованного влияния указанных препаратов является изменение состава кишечной микробиоты [10]. Заслуживают внимания сообщения об эффективном применении АМП при лечении острого коронарного синдрома и инфаркта миокарда [15]. При этом данные метаанализа Song и соавт. об использовании АМП для снижения уровня неблагоприятных исходов у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями говорят об отсутствии их эффективности [13]. В литературе практически отсутствуют научно обоснованные данные о влиянии ПП на устойчивость миокарда к ишемическому и реперфузионному повреждению. Нами была показана отмена кардиопротективного эффекта тетрациклина, характерного для здоровых животных, при моделировании полиморбидности [6], что послужило основой для гипотезы о взаимосвязи воспалительного статуса макроорганизма, состава его микробиоты и устойчивости миокарда к ишемии-реперфузии. Общей патогенетической базой таких нарушений, как ожирение, химически индуцированный колит и антибиотик-индуцированный дисбиоз (АИД), является системный воспалительный ответ с большей или меньшей степенью интенсивности увеличения концентрации в крови таких провоспалительных цитокинов, как IL-1, IL-6, IL-18, IFN γ и TNF α . С целью изучения кардиотропных эффектов ПП и их возможных механизмов, нами была разработана экспериментальная модель полиморбидности и синдрома системного воспалительного ответа (ССВО) на крысах, которая включает вышеуказанные патологии [1].

Целью данной работы стало изучение терапевтического потенциала пробиотического штамма *L. delbrueckii* TS1-06 на устойчивость миокарда к ишемическому-реперфузионному повреждению, с контролем уровней TNF α , TGF- β , IL-1 β , IL-2 и IL-6 на фоне первичного висцерального ожирения (ПВО), АИД и ВЗК. Рабочей гипотезой стало предположение о возможной модуляции цитокинового каскада, лежащего в основе ССВО, пробиотическими штаммами. В данной работе на модели ССВО на крысах стока Wistar использовали методику перфузии изолированного сердца по Лангендорфу с моделированием глобальной ишемии-реперфузии.

Материалы и методы

Эксперименты выполнены на 40 крысах-самцах стока Wistar (Пушино) в условиях вивария с улучшенным конвенциональным статусом массой 240-270 г, в соответствии с Директивой Европейского Совета по соблюдению этических принципов в работе с лабораторными животными, согласно дизайну эксперимента, утвержденного решением биоэтического комитета ФГБУ НМИЦ им. В.А. Алмазова Минздрава России (протокол-заявка 21-09ПЗ#V1 от 21.05.2021). Животные случайным образом распределялись в одну из четырех групп (n = 10 в каждой группе): 1) контроль (КТР) – крысы получали стандартный корм и питьевую воду *ad libitum*. Все манипуляции с внутрижелудочным (в/ж) введением проводились аналогично с введением адекватных объемов физиологического раствора (ФР); 2) синдром системного воспалительного ответа (ССВО) – крысам с ПВО, индуцированным жирокислотной диетой, осуществляли однократное ректальное введение 1 мл смеси 3%-ной уксусной кислоты и 3% этанола в ФР. Начиная со следующего дня, животным внутрижелудочно вводили смесь АМП (амоксциллин, метронидазол и кларитромицин) в суточной дозе по 15 мг каждого АМП на крысу в течение трех дней, что провоцировало АИД; 3) ССВО + ЛВС – вместо 1 мл ФР в течение 10 дней вводили 1 мл раствора смеси пробиотических штаммов *Lactobacillus acidophilus* (LA-5) и *Bifidobacterium animalis subsp.*

lactis (BB-12), в концентрации не менее 10^8 колониобразующих единиц (КОЕ) каждого штамма на одно животное; 4) ССВО + ЛКД – животным с ССВО внутрижелудочно вводили штамм *L. delbrueckii* TS1-06 в 1 мл ФР в дозе не менее 10^8 КОЕ лиофилизированных микроорганизмов.

За день до выведения из опыта у крыс под краткосрочным изофлурановым наркозом брали 1 мл цельной крови из большой подкожной вены для гематологического и иммунологического анализа. Клинический анализ крови выполняли на автоматическом ветеринарном гематологическом анализаторе (URIT-3000 Vet Plus, Китай). Уровень TNF α , TGF- β , IL-1 β , IL-2 и IL-6 оценивали иммуноферментным методом (MR-96A, Mindray, Китай).

На следующий день крысам под золетил-ксилазиновым наркозом вскрывали грудную клетку и удаляли сердце для последующей перфузии на модернизированной установке по Лангендорфу. В течение 30-минутной глобальной ишемии и 120-минутной перфузии изолированного сердца регистрировали частоту сердечных сокращений (уд/мин), коронарный поток (мл/мин), величины конечно-диастолического (КДДЛЖ, мм рт. ст.) и систолического (СДЛЖ, мм рт. ст.) давления в левом желудочке на персональном компьютере с помощью программы PhysExp 3.0. После завершения реперфузии осуществляли планиметрическую оценку размера инфаркта путем окраски срезов сердца 1%-ным трифенилтетразолием хлоридом. Размер инфаркта выражали в процентах от общей площади среза и вычисляли среднее значение для данного сердца по результатам анализа 5 срезов [12]. Посмертно измерялся массовый коэффициент (МК) депозитов висцерального жира для контроля ПВО. Также отбирались пробы фекалий для генетического исследования толстокишечной микробиоты. Использовали метод ПЦР-РВ с использованием реагентов для выделения ДНК (QIAamp DNA Stool Mini Kit, США, Интерлаб-сервис) и комплекта реагентов «Колонофлор-16» ООО «Альфалаб». В качестве данных для анализа использовались расчетные значения КОЕ/мл для каждой из определяемых групп бактерий методом ПЦР-РВ. На протяжении всего эксперимента, ежедневно с 9 до 10 утра проводили оценку клинического статуса животных, потребления корма и воды, а также массы тела животных.

Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха – Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$) %. Масса тела, потребление корма и воды представлены в виде «среднее \pm стандартное отклонение». Статистический анализ полученных результатов проводился с использованием критерия ANOVA (программный пакет STATISTICA 12.0), при значимости различий $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Масса тела крыс в группе КТР в течение всего периода наблюдения в среднем увеличивалась на

$1,53 \pm 0,39$ г/сутки, тогда как в группах с высококалорийной диетой – до дня моделирования ОВТК, на $1,71 \pm 0,23$ г/сутки. За 8 дней до окончания опыта в группе КТР масса увеличилась на 4,4%, в группе ССВО – уменьшилась на 1,4%, а в группах ССВО + ЛБС и ССВО + ЛКД – стала больше на 3,2% и 2,4% соответственно. Потребление воды за этот же период из расчета на 100 г массы тела в группе КТР составило $12,4 \pm 4,3$ мл/сутки, а в группе ССВО – $12,7 \pm 3,5$ мл/сутки, тогда как в группах ССВО + ЛБС и ССВО + ЛКД – $10,2 \pm 4,8$ мл/сутки и $9,9 \pm 4,2$ мл/сутки соответственно, что значимо не отличалось от КТР. Потребление корма в группах ССВО, ССВО + ЛБС, ССВО + ЛКД было меньше на 60% по сравнению с КТР ($p < 0,05$). МК депозитов висцерального жира по отношению к КТР в группах ССВО, ССВО + ЛБС и ССВО + ЛКД был больше на 29%, 35% и 23% ($p < 0,05$) соответственно, что подтвердило наличие ПВО.

В таблице 1 приведены показатели клинического анализа крови. В группе ССВО показано увеличение общего числа лейкоцитов (WBC) на 26% ($p < 0,05$), причем существенный вклад внесла субпопуляция лимфоцитов (LYM) с увеличением на 42% ($p < 0,05$), средних лейкоцитов (MID) на 50% ($p < 0,05$) и гранулоцитов (GRAN) на 35% ($p < 0,05$), по отношению к КТР. В группах ССВО + ЛБС и ССВО + ЛКД по сравнению с ССВО значения LYM остались на прежнем уровне, но MID уменьшились до контроля, а GRAN значимо от него не отличались. Во всех группах с моделированием ССВО отмечен значимый рост тромбоцитов более чем на 20% ($p < 0,05$). Значимых изменений числа эритроцитов и их характеристик в опытных группах по отношению к контролю не отмечено.

В группе ССВО по сравнению с КТР было обнаружено значимое ($p < 0,05$) увеличение концентрации в крови TNF α , TGF- β , IL-1 β , IL-2 и IL-6 (табл. 2). Так, концентрация TNF α в крови стала больше на 46%, TGF- β – на 29%, IL-1 β – на 30%, IL-2 – на 56% и IL-6 – на 56%, чем в контроле ($p < 0,05$). В группах ССВО + ЛБС и ССВО + ЛКД уровень TGF- β увеличился более чем на 100% и 23%, а IL-2 – на 47% и 72% соответственно. В группе ССВО + ЛКД, в отличие от ССВО + ЛБС, увеличение концентрации TNF α на 59% было значимым. Показатели для IL-1 β и IL-6 в обеих группах с пробиотической терапией достоверно не отличались от КТР.

В группах с моделированием ССВО под влиянием АМП широкого спектра действия пробиотическая терапия не способствовала увеличению популяций *Faecalibacterium prausnitzii*, *Akkermansia mucinifila* и *Enterobacter* spp.

Очевидно, что увеличение роста *Bacteroides* spp. в группах с введением пробиотиков по отношению к КТР внесло решающий вклад в достоверное увеличение числа общей бактериальной массы, но также значимому росту непатогенных *Escherichia coli*. Во всех группах с моделированием

ТАБЛИЦА 1. ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75}) %

TABLE 1. HEMATOLOGICAL PARAMETERS, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75}) %

Параметр Parameter	Группа Group	КТР CTR	ССВО SIRS	ССВО + ЛБС SIRS + LBS	ССВО + ЛКД SIRS + LCD
WBC 10 ⁹ /л WBC 10 ⁹ /L		7,2 (6,8-7,6)	9,1 (8,0-10,1)* ↑	8,3 (8,4-8,7)	8,2 (7,8-8,6)
LYM 10 ⁹ /л LYM 10 ⁹ /L		1,0 (1,5-1,8)	1,7 (1,5-1,8)* ↑	1,6 (1,5-1,7)* ↑	1,7 (1,5-18,0)* ↑
MID 10 ⁹ /л MID 10 ⁹ /L		0,3 (0,2-0,4)	0,6 (0,5-0,6)* ↑	0,3 (0,3-0,5)** ↓	0,4 (0,3-0,4)** ↓
GRAN 10 ⁹ /л GRAN 10 ⁹ /L		5,1 (4,4-5,4)	6,9 (6,3-7,4)* ↑	6,2 (5,8-6,3)	5,9 (5,2-7,0)
RBC 10 ¹² /л RBC 10 ¹² /L		7,1 (7,0-7,2)	6,8 (6,6-7,1)	6,7 (6,5-6,8)	6,8 (6,5-7,0)
PLT 10 ⁹ /л PLT 10 ⁹ /L		515 (505-522)	688 (631-775)* ↑	700 (682-705)* ↑	616 (610-700)* ↑

Примечание. * – p < 0,05 по отношению к КТР; ** – p < 0,05 по отношению к ССВО (критерий ANOVA). ↑ – увеличение показателя; ↓ – уменьшение показателя. КТР – контроль; ССВО – синдром системной воспалительной реакции; ССВО + ЛБС – ССВО и смесь LA-5 и ВВ-12; ССВО + ЛКД – *L. delbrueckii* TS1-06.

Note. *, p < 0.05 in relation to CTR; **, p < 0.05 in relation to SIRS (ANOVA test). ↑, increase of the index; ↓, decrease of the index. CTR, control; SIRS, systemic inflammatory response syndrome; SIRS + LBS, SIRS and a mixture of LA-5 and BB-12; SIRS + LCD, *L. delbrueckii* TS1-06.

ТАБЛИЦА 2. КОНЦЕНТРАЦИЯ ЦИТОКИНОВ В КРОВИ, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75}) %

TABLE 2. CONCENTRATION OF CYTOKINES IN BLOOD, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75}) %

Параметр Parameter	Группа Group	КТР CTR	ССВО SIRS	ССВО + ЛБС SIRS + LBS	ССВО + ЛКД SIRS + LCD
TNFα (пг/мл) TNFα (pg/mL)		8,2 (7,8-8,5)	12 (10-13)* ↑	10 (8-14)	13 (11-15)* ↑
TGF-β1 (пг/мл) TGF-β1 (pg/mL)		7,1 (6,7-7,5)	9,2 (8,5-9,8)* ↑	15 (14-15)* ↑ **	8,7 (8,2-9,1)* ↑
IL-1β (пг/мл) IL-1β (pg/mL)		40 (39-42)	52 (44-57)* ↑	44 (41-47)** ↓	46 (41-47)
IL-2 (пг/мл) IL-2 (pg/mL)		3,6 (3,5-3,8)	5,6 (4,8-5,9)* ↑	5,3 (5,0-7,1)* ↑	6,2 (5,7-6,4)* ↑
IL-6 (пг/мл) IL-6 (pg/mL)		0,5 (0,4-0,6)	1,0 (0,9-1,1)* ↑	0,7 (0,6-0,8)** ↓	0,7 (0,6-0,8)** ↓

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

ем ССВО по отношению к контролю отмечено уменьшение представительства лактобактерий. Выраженный бифидогенный эффект наблюдали исключительно в группе ССВО + ЛБС, с введением смеси лакто- и бифидобактерий, что показано в таблице 3.

Размер инфаркта в группе КТР составил 43% (39-46). В группе ССВО размер инфаркта 55% (51-60) был выше на 28%, чем в группе КТР (p < 0,05). В группах ССВО + ЛБС и ССВО + ЛКД размер инфаркта миокарда составил 49% (42-56) и 47% (42-52) (p < 0,05 в сравнении с груп-

пой ССВО) соответственно, что указывает на наличие эффекта кардиопротекции в этих группах.

В настоящее время ожирение рассматривается как самостоятельный иммуновоспалительный процесс [7] и признается фактором риска для ряда патологий [14] с характерным паттерном гиперцитокинемии. Степень тяжести язвенного колита наиболее интенсивно коррелирует с концентрацией в крови провоспалительных цитокинов TNFα и IL-6 [2]. TNFα стимулирует выработку IL-6, поэтому функции и биологические эффекты IL-6 совпадают с функциями его активатора.

ТАБЛИЦА 3. БАКТЕРИАЛЬНЫЙ СОСТАВ МИКРОБИОТЫ ФЕКАЛИЙ КРЫС ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ГРУПП (ПЦР-РВ)

TABLE 3. BACTERIAL COMPOSITION OF MICROBIOTA IN THE FAECES OF RATS FROM DIFFERENT GROUPS (RT-PCR)

Группа Group	КТР CTR	ССВО SIRS	ССВО + ЛБС SIRS + LBS	ССВО + ЛКД SIRS + LCD
Общее бактериальное число Total bacterial count	8,5 ¹⁰ (3,0 ¹⁰ -1,0 ¹¹)	5,0 ⁹ (3,0 ⁹ -8,0 ⁹)	2,0 ^{12*} , ** ↑ (1,6 ¹² -3,0 ¹²)	1,2 ^{12*} , ** ↑ (6,0 ¹⁰ -2,5 ¹²)
<i>Lactobacillus</i> spp.	1,0 ⁹ (3,0 ⁸ -2,0 ⁹)	2,0 ^{7*} ↓ (1,5 ⁷ -2,5 ⁸)	1,0 ^{8*} ↓ (4,0 ⁷ -1,9 ⁸)	7,5 ^{7*} ↓ (1,0 ⁷ -1,0 ⁸)
<i>Bifidobacterium</i> spp.	3,2 ⁷ (9,5 ⁶ -5,5 ⁷)	1,6 ⁹ (2,5 ⁸ -2,9 ⁹)	4,1 ^{9*} ↑ (3,0 ⁹ -7,5 ⁹)	8,5 ⁸ (2,5 ⁸ -1,7 ⁹)
<i>Escherichia coli</i>	3,2 ⁷ (9,5 ⁶ -5,5 ⁷)	1,6 ⁸ (1,0 ⁸ -3,0 ⁹)	4,9 ^{9*} ↑ (3,0 ⁹ -9,0 ⁹)	8,5 ^{8*} ↑ (2,5 ⁸ -1,7 ⁹)
<i>Bacteroides</i> spp.	4,5 ¹⁰ (1,5 ¹⁰ -1,0 ^{*11})	1,9 ⁹ (8,0 ⁸ -2,0 ⁹)	2,2 ^{12*} ↑ (1,1 ¹² -2,5 ¹²)	1,4 ^{12*} ↑ (5,2 ¹⁰ -2,5 ¹²)

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

Оба цитокина опосредуют воспалительные реакции – лихорадку, лейкоцитоз и индукцию синтеза белков острой фазы [9]. Цитокиновый шторм характеризуется значительным и длительным увеличением концентрации в крови провоспалительных цитокинов – IL-1, IL-6, IL-18, IFN γ и TNF α [8]. Патогенез цитокинового шторма связан с избыточным эффектом цитокинов на клетки и возникающим при этом вторичным повреждением органов-мишеней.

Известно, что острый стресс снижает у пациентов содержание лактобацилл и бифидобактерий в кишечнике в течение нескольких дней [4]. В нашей работе помимо прямой корреляции между уменьшением размера инфаркта и концентрацией IL-1 β и IL-6, наблюдается ассоциативная связь с увеличением общего бактериального числа, представительства *Bifidobacterium* spp., *Escherichia coli* и *Bacteroides* spp. Установлено, что бифидофлора снижает уровень факторов роста, антилизоцимную активность и формирование биопленок такой патогенной флоры, как *Klebsiella pneumoniae*, *S. aureus*, *C. albicans* [11]. Кишечная нормобиота в норме подавляет рост патогенной флоры, оказывает стимулирующее антигенное воздействие на слизистую оболочку кишечника и потенцирует механизмы общего и локального иммунитета, стимулируя синтез иммуноглобулинов, пропердина, комплемента, лизоцима, посредством таких медиаторов, как короткоцепочечные жирные кислоты, перекись водорода, бактериоцины. По мере роста численности бактерий в колонии концентрация сигнальных молекул в окружающей среде возрастает лавинообразно по принципу положительной обратной связи [3]. Корректно согласуются позитивные иммунотропные и кардиопротективные эффекты с ростом бифидо- и лактобактерий по

сравнению с ССВО в группах ССВО + ЛБС и ССВО + ЛКД. Гармонизация естественного антагонизма с помощью пробиотической терапии подтверждается сочетанным увеличением представительства популяций кишечной палочки и бифидобактерий. Одни и другие грамотрицательные микроорганизмы, потенциальные источники ЛПС, помимо других перекрытий в метаболоме, принимают активное участие в метаболизме первичных желчных кислот и являются продуцентами КЦКЖ, а также янтарной кислоты.

Известны два основных воспалительных фенотипа макрофагов. Фенотип M1 активируется сигналом поляризации от бактериального липополисахарида и провоспалительных Th1-цитокинов, таких как IFN γ , TNF α и IL-1 β , или обоих, в то время как фенотип M2 активируется Th2-цитокинами, такими как IL-4 и IL-13, а также противовоспалительными цитокинами, IL-10 и TGF- β , или глюкокортикоидами. Также интересно, что экспрессия мРНК IL-1 β в макрофагах M1, стимулированных LPS, приводит к активации фактора транскрипции, индуцированного гипоксией, фактора 1 α (HIF-1 α), зависимым от гликолиза. HIF1 α взаимодействует с изоферментом пируваткиназы M2 (PKM2) и способствует экспрессии HIF1 α -индуцированных генов, необходимых для гликолиза. Активация эффекта Варбурга (гликолиз) в LPS-стимулированных макрофагах вызывает накопление промежуточных продуктов цикла ТСА, в частности сукцината, малата и фумарата, из-за отклонения потока или «точки разрыва» пути цикла Кребса [5]. Пробиотически индуцированное уменьшение, в нашем опыте, IL-1 β , подтвержденное снижением уровня IL-6, учитывая общий характер цитокинового сигналинга, может стать базовым в дальнейшем исследовании в отношении кардиомиоцитов,

учитывая увеличение популяции кишечной палочки и бактероидов как источника КЦКЖ. Данные предположения подтверждаются нашими предыдущими исследованиями, показывающими связь между устойчивостью миокарда к ишемии-реперфузии и концентрацией в крови желчных кислот и КЦКЖ [1].

Заключение

По отношению к животным с ССВО, у крыс после введения смеси пробиотических штаммов *L. acidophilus* (LA-5) и *B. animalis subsp. lactis* (BB-12) и изолированного штамма *L. delbrueckii* TS1-06 отмечено общее уменьшение субпопуля-

ции MID и GRAN, концентрации IL-1 β и IL-6 в крови, при увеличении представительства эшерихий и бактероидов в составе кишечной микробиоты с увеличением резистентности миокарда к ишемии-реперфузии, что подтверждает нашу гипотезу о пробиотическом блокировании цитокинов первого порядка, что сопровождается ослаблением интенсивности провоспалительного каскада. Подтверждена необходимость глубокого исследования механизмов пробиотической кардиопротекции в связи с перспективами их применения как симбиотической альтернативы биологическим препаратам, снижающим уровни провоспалительных цитокинов.

Список литературы / References

1. Борщев Ю.Ю., Буровенко И.Ю., Карасева А.Б., Минасян С.М., Борщев В.Ю., Семенова Н.Ю., Борщева О.В., Половинкин В.В., Родионов Г.Г., Суворов А.Н., Галагудза М.М. Моделирование синдрома системной воспалительной реакции химической индукцией травмы толстого кишечника у крыс // Медицинская иммунология, 2020. Т. 22, № 1. С. 87-98. [Borshev Yu.Yu., Burovenko I.Yu., Karaseva A.B., Minasyan S.M., Borshev V.Yu., Semenova N.Yu., Borshcheva O.V., Polovinkin V.V., Rodionov G.G., Suvorov A.N., Galagudza M.M. Modeling of systemic inflammatory response syndrome by chemical induction of colon injury in rats. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2020, Vol. 22, no. 1, pp. 87-98. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-MOS-1839.
2. Третьякова Ю.И., Антипова А.А., Шулькина С.Г. Особенности цитокинового профиля у больных язвенным колитом // Современные проблемы науки и образования, 2017. № 6. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=27276>. [Tretyakova Yu.I., Antipova A.A., Shulkina S.G. Features of the cytokine profile in patients with ulcerative colitis. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education*, 2017, no. 6. [Electronic resource]. Access mode: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=27276>. (In Russ.)]
3. Хавкин А.И., Комарова О.Н. Продукты метаболизма кишечной микрофлоры: возможна ли избирательная коррекция? Вопросы современной педиатрии, 2015. Т. 14, № 2. С. 212-218. [Khavkin A.I., Komarova O.N. Products of Metabolism of the Intestinal Microflora: Can We Use the Selective Correction? *Voprosy sovremennoy pediatrii = Current Pediatrics*, 2015, Vol. 14, no. 2, pp. 212-218. (In Russ.)]
4. Bailey M.T., Coe C.L. Maternal separation disrupts the integrity of the intestinal microflora in infant rhesus monkeys. *Dev. Psychobiol.*, 1999, Vol. 35, pp. 146-155.
5. Belizário J.E., Faintuch J., Garay-Malpartida M. Gut microbiome dysbiosis and immunometabolism: new frontiers for treatment of metabolic diseases. *Mediators Inflamm.*, 2018, Vol. 2018, 2037838. doi: 10.1155/2018/2037838.
6. Borshchev Y.Y., Minasian S.M., Protsak E.S., Semenova N.Y., Borshcheva O.V., Galagudza M.M., Burovenko I.Y., Borshchev V.Y. Effects of tetracycline on myocardial infarct size in obese rats with chemically-induced colitis. *PLoS One*, 2019, Vol. 14, no. 11, e0225185. doi: 10.1371/journal.pone.0225185.
7. Breton E., Fotso Soh J., Booi L. Immunoinflammatory processes: Overlapping mechanisms between obesity and eating disorders? *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 2022, Vol. 138, 104688. doi: 10.1016/j.neubiorev.2022.104688.
8. de Leeuw A., Oude Luttikhuis M., Wellen A.C., Müller C., Calkhoven C.F. Obesity and its impact on COVID-19. *J. Mol. Med. (Berl.)*, 2021, Vol. 99, no. 7, pp. 899-915.
9. Emmrigh J. Monoclonal antibodies and interleukins. *Falk Sympos. (Innovative concepts in inflammatory bowel disease)*, 2002, no. 105, p. 74.
10. Ettinger G., MacDonald K., Reid G., Burton J.P. The influence of the human microbiome and probiotics on cardiovascular health. *Gut Microbes*, 2014, Vol. 5, no. 6, pp. 719-728.
11. Kumari A., Pasini P., Deo S.K., Flomenhoft D., Shashidhar H., Daunert S. Biosensing systems for the detection of bacterial quorum signaling molecules. *Anal. Chem.*, 2006, Vol. 78, no. 22, pp. 7603-7609.
12. Minasian S.M., Galagudza M.M., Dmitriev Y.V., Kurapeev D.I., Vlasov T.D. Myocardial protection against global ischemia with Krebs-Henseleit buffer-based cardioplegic solution. *J. Cardiothorac. Surg.*, 2013, Vol. 8, 60. doi: 10.1186/1749-8090-8-60.
13. Song Z., Brassard P., Brophy J.M. A meta-analysis of antibiotic use for the secondary prevention of cardiovascular diseases. *Can. J. Cardiol.*, 2008, Vol. 24, no. 5, pp. 391-395.
14. Wise J. Covid-19: Highest death rates seen in countries with most overweight populations. *BMJ*, 2021, Vol. 372, n623. doi: 10.1136/bmj.n623.
15. Zahn R., Schneider S., Frilling B., Seidl K., Tebbe U., Weber M., Gottwik M., Altmann E., Seidel F., Rox J., Höffler U., Neuhaus K.L., Senges J., Working Group of Leading Hospital Cardiologists. Antibiotic therapy after acute myocardial infarction: a prospective randomized study. *Circulation*, 2003, Vol. 107, no. 9, pp. 1253-1259.

Авторы:

Борщев Ю.Ю. — заведующий научно-исследовательским отделом токсикологии Института экспериментальной медицины ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Минасян С.М. — к.м.н., старший научный сотрудник научно-исследовательского отдела микроциркуляции и метаболизма миокарда ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения РФ; старший научный сотрудник ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Карасева А.Б. — научный сотрудник научно-исследовательского отдела молекулярной микробиологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербурге, Россия

Буровенко И.Ю. — младший научный сотрудник научно-исследовательского отдела токсикологии ЦДТИ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Борщев В.Ю. — студент ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Борщева О.В. — младший научный сотрудник научно-исследовательского отдела токсикологии ЦДТИ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Буровенко Д.В. — начальник управления по довузовской подготовке и международной деятельности МФТИ, ассистент кафедры общей физики ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)», Москва, Россия

Суворов А.Н. — д.м.н., член-корр. РАН, заведующий научно-исследовательским отделом молекулярной микробиологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»; заведующий кафедрой фундаментальной медицины и медицинских технологий» ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

Галагудза М.М. — д.м.н., профессор, член-корр. РАН, директор Института экспериментальной медицины ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения РФ; профессор ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Authors:

Borshchev Yu. Yu., Head, Department of Toxicology, V. Almazov National Medical Research Center, St. Petersburg, Russian Federation

Minasian S. M., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Research Laboratory of Microcirculation and Myocardial Metabolism, V. Almazov National Medical Research Center, St. Petersburg; Senior Research Associate, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

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

Burovenko I. Yu., Junior Research Associate, Department of Toxicology, V. Almazov National Medical Research Center, St. Petersburg, Russian Federation

Borshchev V. Yu., Student, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Borshcheva O. V., Junior Research Associate, Department of Toxicology, V. Almazov National Medical Research Center, St. Petersburg, Russian Federation

Burovenko D. V., Head, Department for Preuniversity Training and International Affairs, Assistant of the Department of General Physics, Moscow Physico-Technical Institute, Moscow, Russian Federation

Suvorov A. N., PhD, MD (Medicine), Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Head, Research Department of Molecular Microbiology, Institute of Experimental Medicine; Head, Department of Fundamental Medicine and Medical Technologies, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation

Galagudza M. M., PhD, MD (Medicine), Professor, Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Director, Institute of Experimental Medicine, V. Almazov National Medical Research Center, St. Petersburg; Professor, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Поступила 12.11.2022

Отправлена на доработку 20.11.2022

Принята к печати 16.02.2023

Received 12.11.2022

Revision received 20.11.2022

Accepted 16.02.2023