

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Линецкая Ольга Игоревна

**Патогенетическое обоснование коррекции микробиоты желудочно-
кишечного тракта при диет-индуцированных нарушениях обмена
веществ в эксперименте**

14.03.03 – патологическая физиология

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, доцент
Нургалеева Е.А.

Уфа – 2020

Оглавление	
Введение.....	4
Глава 1 Обзор литературы.....	11
1.1 Микробиоценоз желудочно-кишечного тракта, роль питания.....	11
в формировании микробиоты кишечника	11
1.2 Участие микробиоты кишечника в метаболических процессах в норме и при метаболическом ожирении	18
1.3 Клеточные и молекулярные основы влияния лептина и грелина при диет-индуцированных метаболических нарушениях.....	23
1.4 Терапевтические воздействия на микробиоту как метод коррекции диет-индуцированных нарушений обмена веществ	31
Глава 2 Материалы и методы исследования	38
2.1 Экспериментальные животные.....	38
2.2 Методы анализа экспериментальных данных.....	42
2.2.1 Биохимические методы исследования.....	42
2.2.1.1 Характеристика углеводного обмена	42
2.2.1.2 Характеристика липидного обмена	43
2.2.1.3 Характеристика белкового обмена	44
2.2.1.4 Оценка изменений ферментативных функций	45
2.2.2 Количественные и качественные характеристики мукозной микробиоты желудка, тонкого, толстого кишечника и кала.....	46
2.2.3 Иммуноферментные методы исследования	48
2.2.3.1 Определение уровня грелина в сыворотке крови.....	48
2.2.3.2 Определение уровня лептина в сыворотке крови	48
2.2.3.3 Изучение содержания рецепторов к грелину в тканях	49
2.2.3.4 Определение рецепторов к лептину в тканях	51
2.2.4 Методы статистической обработки результатов	52
Глава 3 Результаты собственных исследований	53
3.1 Исследование биохимических параметров сыворотки крови и состояния пристеночной микробиоты желудочно-кишечного тракта при различных типах питания и последующей коррекции выявленных нарушений синбиотиком	53
3.1.1 Влияние высокожировой, высокоуглеводной и высокобелковой диет на фертильную способность самок и массу тела их потомства.....	53

3.1.2 Изменения биохимических показателей крови и микробиоценоза желудочно-кишечного тракта крыс при преимущественно жировом типе питания.....	55
3.1.3 Изменения биохимических показателей крови и микробиоценоза желудочно-кишечного тракта крыс при преимущественно углеводном типе питания.....	62
3.1.4 Изменения биохимических показателей сыворотки крови и микробиоценоза желудочно-кишечного тракта крыс препубертатного возраста при преимущественно белковом типе питания.....	68
3.2 Изменения уровня грелина и лептина в сыворотке крови и рецепторов к ним при преимущественно углеводном типе питания.....	74
3.3 Изменения уровня грелина и лептина в сыворотке крови и рецепторов к ним у крыс препубертатного возраста при преимущественно белковом типе питания.....	79
3.4 Изменения уровня грелина и лептина в сыворотке крови и рецепторов к ним в жировой ткани и тканях головного мозга при преимущественно жировом типе питания крыс препубертатного возраста	83
Глава 4 Обсуждение полученных результатов.....	88
Выводы	105
Список сокращений	107

Введение

Актуальность темы исследования. Одним из наиболее значимых вопросов современности с многочисленными и крайне неблагоприятными последствиями, включая онкологическую патологию различных отделов кишечника, атеросклероз и сердечно-сосудистые заболевания, диабет 2 типа и нарушения функций нервной системы (болезнь Паркинсона и др.), является проблема избыточной массы тела [64; 220]. При этом она уже давно вышла за рамки низкой культуры питания и/или несбалансированности рациона, поскольку неуклонно увеличивается количество новорожденных и детей других возрастных групп с достаточно серьезными, требующими эффективных терапевтических решений, метаболическими нарушениями [49; 101, 205].

Детское ожирение является важным прогностическим фактором ожирения у взрослых [293]. Экспериментальные исследования последних лет показали, что патогенез метаболического синдрома, в том числе и в связи с богатым жирами питанием, всегда сопровождается и/или во многом определяется изменениями микробиома кишечника. По мнению целого ряда авторов, при метаболическом синдроме восстановление нормальной микробиоты кишечника является одним из наиболее перспективных направлений профилактики и лечения ожирения как с позиции одной из существенных причин данной медицинской проблемы, так и с точки зрения коррекции комплекса последствий обменных нарушений [24; 49; 101; 205]. При метаболическом синдроме среди наиболее изученных механизмов влияния микробиоты кишечника на обменные процессы в организме отмечаются такие, как извлечение микроорганизмами энергии из рациона путем преобразования пищевых волокон в короткоцепочечные жирные кислоты; повышение проницаемости кишечника для бактериальных липополисахаридов и поддержании процесса воспаления [178]. Поскольку желудочно-кишечный тракт и печень связаны через портальную венозную систему, печень более уязвима к бактериальной транслокации, воздействию эндотоксинов и

цитокинов кишечника [38]. Микробиота может изменять функцию печени, модулируя липидный метаболизм, косвенно влияя на жировые отложения в ней [194].

Для нормализации массы тела диеты с низким содержанием жиров, углеводов являются наиболее распространенными, а в некоторых исследованиях есть положительные результаты применения высокобелкового питания, однако отсутствуют комплексные исследования, направленные на изучение разностороннего состояния кишечной микробиоты при диет-ассоциированных режимах питания.

В последние годы в научной литературе появились единичные сообщения о влиянии микробиоты на содержание гормонов, влияющих на жировой обмен – лептина и грелина [235]. Однако динамика содержания гормонов при диет-индуцированных расстройств обмена веществ, в частности, состояние рецепторов к данным гормонам, остаются неизученными.

Проводимые в настоящее время во всем мире масштабные метагеномные и когортные исследования, посвященные изучению микробиоты, имеют, несомненно, огромное теоретическое значение [234; 270]. В тоже время их ближайшие прикладные перспективы, ориентированные на персонализацию и своевременную коррекцию выявленных нарушений, особенно значимую у детей, достаточно проблематичны [24]. Для решения указанной проблемы наиболее информативными отсроченными количественными показателями адекватного отклика макроорганизма на проводимую коррекцию микробиоты, например, использование пробиотиков, являются соответствующие метаболиты обменных процессов, определяемые в сыворотке крови.

Цель работы: коррекция метаболических расстройств у лабораторных животных препубертатного периода при различных диетических нарушениях путем патогенетически обоснованного применения про- и пребиотиков.

Задачи:

1. Оценить изменения биохимических параметров сыворотки крови крыс препубертатного периода, находящихся на жировой, углеводной и белковой диетах, рожденных от самок с аналогичными диетическими нарушениями, до и после коррекции синбиотиком.
2. Изучить влияние преимущественно жирового, углеводного, белкового типов питания на качественный и количественный состав микробиоты желудка, тонкого, толстого кишечника и кала у экспериментальных животных препубертатного периода до и после коррекции синбиотиком.
3. Проанализировать изменение содержания грелина и лептина в сыворотке крови и рецепторов к гормонам в жировой ткани и тканях головного мозга на фоне избыточного потребления жиров до и после коррекции синбиотиком.
4. Провести оценку уровней грелина и лептина в сыворотке крови и рецепторов к ним в жировой ткани и тканях головного мозга в группе крыс препубертатного возраста с преимущественным потреблением углеводов до и после коррекции синбиотиком.
5. Изучить влияние высокобелкового рациона на уровни грелина и лептина в сыворотке крови и рецепторов к ним в жировой ткани и тканях головного мозга в группе крыс препубертатного возраста до и после коррекции синбиотиком.

Методология и методы исследования

Экспериментальная работа выполнена на здоровых лабораторных крысах препубертатного возраста (возраст 7-8 недель) массой 45-100 г. в соответствии с нормативными документами, регламентирующими гуманное обращение с животными (Stras-bourg, 1986). Все исследования проводились после одобрения локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России.

В ходе выполнения экспериментов исследовались количественный и качественный состав микробиоты желудочно-кишечного тракта и

биохимические параметры сыворотки крови крыс (липидный профиль, показатели печеночных трансаминаз, значения уровня глюкозы крови, общего белка) при жировом (51% суточной энергии) [51], углеводном (77 % суточной энергии) [286], белковом (35% суточной энергии) [239] типах питания и последующей коррекции нарушений препаратом сочетанного пре- и пробиотического направления синбиотик («Нормобакт»).

Изучалось содержание лептина и грелина в сыворотке крови крыс, а также определен уровень рецепторов к грелину и лептину в жировой ткани и тканях головного мозга до и после проведения коррекции синбиотиком.

В работе использованы биохимические, бактериологические, иммуноферментные, статистические методы исследования.

Степень достоверности, апробация результатов, личное участие автора

Результаты получены лично автором или при его непосредственном участии в ходе проведенного исследования. Достаточный объем экспериментальных исследований, использование адекватных поставленным целям методов, а также полноценная статистическая обработка подтверждает достоверность полученных результатов и обоснованность выводов. Все разделы диссертационной работы полностью представлены в статьях, докладах, на научных конференциях.

Основные положения диссертационного исследования представлены на: 82-ой Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых «Вопросы теоретической и практической медицины» (Уфа, 2017); 83-ей Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Вопросы теоретической и практической медицины» (Уфа, 2018); IV Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых, аспирантов и студентов «Актуальные проблемы медико-биологических дисциплин» (Саранск, 2019).

Основные положения, выносимые на защиту

1. Диеты с избыточным потреблением жиров, углеводов и белков значительно влияют на микробиоценоз желудочно-кишечного тракта и биохимические параметры сыворотки крови – липидный профиль, содержание глюкозы и печеночные трансаминазы у экспериментальных животных препубертатного периода.

2. Коррекция препаратом пре- и пробиотического назначения способствует подавлению роста условно-патогенной микробиоты и повышению роста *Lactobacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.*, а также положительным изменениям со стороны биохимических параметров сыворотки крови лабораторных животных с различным типом питания.

3. На содержание лептина и грелина в сыворотке крови, уровень рецепторов к грелину и лептину в тканях оказывают влияние диет-индуцированные изменения параметров метаболизма, обусловленные в том числе качественными и количественными изменениями микробиоты желудочно-кишечного тракта. Наряду с нормализацией биохимических параметров крови использование синбиотиков приводят к положительным изменениям со стороны изучаемых гормонов и их рецепторов.

Новизна исследования

Установлено, что преимущественное потребление жиров, белков или углеводов сопровождается отклонениями биохимических параметров сыворотки крови, дисбалансом в микробиоме желудочно-кишечного тракта крыс препубертатного возраста. Отмечено снижение содержания бифидо- и лактобактерий независимо от преобладания в питании жиров, белков или углеводов. Выявлено, что рост условно-патогенной биоты наиболее выражен при избыточном потреблении жиров и углеводов.

Показано, что на фоне преимущественного потребления тех или иных основных нутриентов меняются характеристики лептина и грелина в сыворотке крови, а также уровни центральных и периферических рецепторов.

Доказана эффективность коррекции синбиотиком основных характеристик микробиоты желудочно-кишечного тракта и нивелированию большинства негативных отклонений в обмене веществ. В результате использования синбиотика наблюдается устойчивая положительная динамика в содержании лептина и грелина в крови и их рецепторов в тканях, что подтверждает патогенетическую значимость состояния микробиоты в механизмах реализации обменных расстройств.

Теоретическая и практическая значимость

Получены новые сведения об отклонениях в содержании гормонов лептина, грелина в крови и их рецепторов в тканях при несбалансированном питании крыс препубертатного возраста, которые в дальнейшем могут быть использованы в разработке эффективных программ коррекции метаболических нарушений в детской и подростковой практике. Патогенетическая взаимосвязь уровня изучаемых гормонов, биохимических параметров сыворотки крови и состояния микробиоты желудочно-кишечного тракта обосновывает возможность использования синбиотиков с целью коррекции выявленного гормонального дисбаланса.

Результаты представленной работы позволяют повысить терапевтическую эффективность комплексного подхода в лечении алиментарно-зависимой патологии, применив коррегирующие микробиом желудочно-кишечного тракта мероприятия.

Установленные однотипные изменения микробиоты желудка, тонкого, толстого кишечника и кала дают основания рекомендовать как достаточно информативный критерий для оценки микробиоценоза кишечника неинвазивное исследование микробиоты кала.

Несбалансированное питание (избыток тех или иных нутриентов) вызывает ряд характерных изменений в качественном и количественном составе условно-патогенной микробиоты желудочно-кишечного тракта. Так, жировой тип питания преимущественно сказывается на интенсификации роста *Staphylococcus spp.*, *Clostridium spp.*, грибов рода *Candida spp.*, а избыточное

потребление углеводов – на росте грибов рода *Candida spp.* Выявленные закономерности могут использоваться в практической деятельности как семейного врача, так и врача-гастроэнтеролога.

Публикации

Соискатель имеет 7 опубликованных работ по теме диссертации общим объемом 30 страницы, в том числе 4 статьи в научных журналах и изданиях, включенных в перечень рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертаций, а также 2 работы опубликованы в материалах всероссийских конференций.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 142 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, 4 главы собственных исследований, обсуждения результатов, выводов.

Библиографический указатель включает 306 источников: – 12 на русском языке и 294 – на иностранном. Работа содержит 3 таблицы, 30 рисунков.

Глава 1 Патологическое обоснование коррекции микробиоты желудочно-кишечного тракта при диет-индуцированных нарушениях обмена веществ (обзор литературы)

1.1 Микробиоценоз желудочно-кишечного тракта, роль питания в формировании микробиоты кишечника

Человеческий микробиом включает в себя все микроорганизмы, которые находятся «в» или «на» теле человека и содержат в 100 раз больше генов, чем в геноме человека [133; 267]. Микробиом взаимодействует с хозяином на уровне мультигенного симбиоза, влияя на физиологические функции, в том числе на энергетический обмен и иммунную систему [2].

В составе микробиоты человеческого организма насчитывается около 800 различных видов бактерий с плотностью порядка 10^{14} бактериальных клеток, которые обитают в ротовой полости, желудочно-кишечном тракте, верхних дыхательных путях, влагалище, коже [191]. По данным Ramakrishna B.S. [241], наибольшее количество микроорганизмов обитает в желудочно-кишечном тракте, каждый из отделов которого имеет разный состав микробиоты, уникальные физиологические функции, анатомическое строение и химическую среду. В течение долгого времени микробные сообщества, проживающие в кишечнике, адаптировались в среде кишечника человека, и их ферментативные возможности дополняют друг друга [66;83;112;203].

В последние годы появилась возможность исследовать кишечную микробиоту при помощи молекулярных методов, основанных на микробном ДНК-секвенировании [241], что позволило изменить представление о микробных сообществах. Большинство авторов считает необходимым характеризовать кишечную флору с точки зрения филогении и метаболического потенциала [66; 112]. Кишечная микробиота выполняет ряд важных функций, а именно стимулирует иммунную систему, защищает от инфекций, обеспечивает

всасывание воды, минеральных веществ, синтез витамина К и витаминов группы В, является источником питания для толстого кишечника, регулирует моторику, азотистый и липидный обмен [2].

Большинство из филотипов бактерий, а также различные метаногенные археи с коллективным геномом (также называемые микробиомом), кодирующим консорциум генов, образуют микробиоценоз желудочно-кишечного тракта [139]. В настоящее время точный состав микробиоты кишечника неизвестен и находится на стадии изучения [1].

По данным Ramakrishna B.S. (2007), микробиота кишечника состоит из 400-500 видов микроорганизмов [241], но в оперативных таксономических единицах (OTUS, эквивалентных видов) молекулярная классификация позволяет предположить, что есть более, чем 1000 OTUS в кишечнике каждого человека различных сообществ, а количество OTUS увеличивается с возрастом [149].

В толстом кишечнике человека находится наиболее значительное разнообразие и количество микроорганизмов, а именно до 10^{12} микроорганизмов / мл [2]. Данный отдел кишечника обладает самой высокой плотностью в организме человека [61]. Подавляющее большинство микроорганизмов относятся к типам *Firmicutes*, *Bacteroidetes* и *Proteobacteria*, в меньших количествах обнаруживаются *Actinobacteria*, *Fusobacteria*, *Verrucomicrobia* [1; 97; 110]. К похожему выводу пришли и американские ученые, исследуя микробиом человека, они описали более 70 типов бактерий, 4 типа которых были преобладающими обитателями желудочно-кишечного тракта – *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria* [151].

По данным другого исследования, *Bacteroides* является наиболее распространенным, но непостоянным родом, и относительное обилие бактерий принадлежит к трем родам: *Bacteroides*, *Prevotella* и *Ruminococcus* [192]. Микробы, относящиеся к типам *Firmicutes*, *Bacteroidetes* и, в меньшей степени, актинобактерий, преимущественно влияют на питание человека и его обмен веществ. *Firmicutes* включают в себя большое количество родов, к ним также

включают класс *Clostridia*, кластеров IV и XIV. В *Bacteroidetes* входят бактерии, принадлежащие к роду *Bacteroides* и род *Prevotella*. Распределение этих микробов варьируется среди популяций. Грибы и археи также могут быть обитателями желудочно-кишечного тракта, но составляют менее 1% от общего количества жителей. Анализ объединенных метагеномных данных здоровых взрослых, живущих в Европе, Северной Америке и Японии, показывают, что общие образцы микробиоты кишечника можно различить по этим популяциям [97]. Важно отметить, что из-за трудностей в сборе образцов из разных отделов кишечника, для изучения экологии и деятельности микробиоты в желудочно-кишечном тракте большинство исследований проводится с использованием фекалий [232].

Кишечная микробиота считается стерильной у плода и приобретает микробы в процессе родов или сразу после этого [73; 104; 217]. Характер питания ребенка существенно определяет включение микробиоты в его собственный метаболизм, наиболее выраженный у детей первого года жизни. Особенно ярко это проявляется у детей первого года жизни, находящихся на естественном или искусственном вскармливании. У новорожденных переход от факультативных анаэробов к строгим анаэробам первоначально происходит после первой недели жизни, однако молекулярные исследования показали, что этот переход происходит существенно быстрее [73; 217]. В развивающихся странах у младенцев микробная колонизация кишечника достигает максимальных уровней почти сразу. Относительное преобладание тех или иных составляющих микробиоты кишечника меняется предположительно в ответ на изменения рациона питания.

Изменчивость микробиоты желудочно-кишечного тракта во многом зависит от фазности становления обменных функций, что необходимо учитывать в диетологии ребенка первого года жизни. Например, расщепление муцина осуществляется после трех месяцев жизни, а полное формирование - к концу первого года, деконъюгация желчных кислот – с первого месяца жизни, синтез копростанола – во втором полугодии, синтез уробилиногена – в 11-21

месяц, то же относится к созреванию ферментативных систем кишечника (бета-глюкуронидазы и бета-глюкозидазы остаются низкими) [88].

Такие углеводы как ди-, олиго- и полисахариды признаются важными источниками энергии для микроорганизмов толстого кишечника, поскольку не подвергаются расщеплению в просвете тонкого кишечника (пребиотики). Некоторые авторы считают, что непереваривающиеся дисахариды на примере лактулозы обладают детоксицирующими характеристиками. Муцин, представляющий собой составляющую слизи толстого кишечника, расщепляясь, выделяет азотистые вещества необходимые для роста микробиоты. В процессе метаболизма пребиотиков, образующиеся короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК), в условиях низких значений pH способны устранять азотистые вещества (аммиак) [2].

Формированию нормальной микробиоты с преобладанием бифидо- и лактобактерий благоприятствует поступление с молоком пребиотиков (лактозы и олигосахаридов). При вскармливании ребенка молочными смесями на основе коровьего молока в отсутствии пробиотиков, среди представителей микробиоты превалируют стрептококки, бактероиды, представители *Enterobacteriaceae*.

Становится очевидным, что в данной ситуации меняется не только спектр бактериальных метаболитов кишечника, но и характер метаболических процессов. Так, при исключительно грудном вскармливании из КЦЖК преобладают ацетат и лактат, а при искусственном – ацетат и пропионат [2]. Более того, у детей при искусственном вскармливании в больших количествах продуцируются метаболиты белков (фенолы, крезол, аммиак) при снижении возможности их детоксикации. Возникновение подобной ситуации способствует повышению активности бета-глюкуронидазы и бета-глюкозидазы, что характерно для формирования колоний *Bacteroides* и *Clostridium*. Финальной точкой в подобной ситуации является не только снижение метаболических функций, но не исключается и прямое повреждающее действие на слизистую оболочку кишечника.

Микроорганизмы толстой кишки нуждаются в витаминах, причем некоторые из них производятся самой микробиотой. Микробиота кишечника синтезирует витамин К и составляющие витаминов группы В [149]. Некоторые из синтезированных витаминов используются организмом хозяина посредством их абсорбции из кишечника, но, к примеру, витамин В₁₂, который синтезируется *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, не имеет возможности всосаться из толстого кишечника [2]. Для его всасывания необходим внутренний фактор Касла, образующийся в желудке, в присутствии которого осуществляется переход в тонкий кишечник и дальнейшая абсорбция витамина в подвздошной кишке [22].

Значительное число углеводов, вызывающих брожение, влияет на рост бактерий, в том числе *Bacteroides-Prevotella* и *Clostridium coccoides-Eubacterium rectale* (*Clostridium* кластера XIV), которые появляются во время отлучения младенца от грудного вскармливания [73].

Микробиота продолжает меняться в детстве и подростковом возрасте. С возрастом снижаются *Bifidobacterium* и *Eubacterium rectale*, обнаруживаемые в избытке у детей раннего возраста, а *Bacteroides* напротив, увеличиваются в детстве и подростковом возрасте и становятся особенно распространенными у взрослых [33].

Исследования на основе 16S рРНК-генной последовательности, количественной ПЦР в реальном времени (QRT-ПЦР), флуоресцентной гибридизации (FISH), высокой пропускной технологии пиросеквенирования и ДНК штрих-кодов показали, что ожирение может привести к смещению состава микробиоты кишечника как у человека, так и у лабораторных животных.

Экспериментальное моделирование по изучению влияния диеты на микробиоту кишечника и метаболизм широко используется в научных исследованиях. Анализ микробиоты желудочно-кишечного тракта взрослых крыс показал, что видовое разнообразие бактерий в кишечнике крыс того же порядка или даже выше, чем в микробиоте кишечника человека [298]. В микробиоте крыс преобладают те же 4 типа бактерий (*Bacteroidetes*, *Firmicutes*,

актинобактерии и протеобактерии), обнаруженные в слепой кишке крыс и фекальном содержимом [67; 251].

Тем не менее, учитывая, что существуют различия в микробиоте кишечника человека и крыс на уровне видов, экстраполировать результаты, полученные на крысиных моделях, на человека, необходимо с осторожностью. Например, в отличие от человека виды *Lactobacillus* представляют собой значительную часть микробиоты крыс, достигая 10-15% от общего количества [85; 251].

Среди 1020 человек 23 популяций Африки, Европы, Северной и Южной Америке и Азии, проведенному учеными из Университета Калифорнии, Беркли, и Университета Аризоны, при исследовании микробиоты кишечника обнаружилось увеличение доли *Firmicutes* с географической широтой и уменьшение доли *Bacteroidetes*. Данные обследования афроамериканцев продемонстрировали сходные закономерности, что у европейцев и североамериканцев. Suzuki T.A. (2014) предположил, что микробиота формируется под влиянием наследственности [278]. Возможно, количество *Firmicutes* увеличивается под воздействием генов «северных людей», а эти гены в процессе эволюции были отобраны благодаря суровому климату.

Диета является одним из существенных средовых факторов, оказывающих влияние на микробиоту кишечника [78; 145; 166]. У людей и экспериментальных животных (мыши, крысы, свиньи) со сниженной массой тела обнаруживается высокая численность *Bacteroidetes*, в то время как при ожирении преобладают *Firmicutes* [51; 64; 74; 78; 145; 191; 206; 237; 263].

Существуют виды, содержание которых коррелирует с изменением массы тела и уровнем лептина, таких как *Lactobacillus intestinalis* или *Bacteroides fragilis* [52]. Присутствие их с большей вероятностью косвенно ассоциируется с увеличением ожирения. В то же время существует группа микроорганизмов, коррелирующая с уровнем инсулина в плазме (тест толерантности к глюкозе (GTT)/тест чувствительности к инсулину (ITT), к которой относят семейства

Clostridiaceae. Наличие их может вызывать формирование резистентности к инсулину и толерантности к глюкозе [52].

Большинство исследований показывает, что диета, особенно с низким содержанием клетчатки и высоким содержанием жира, «западная» диета, резко воздействует на микробный состав и функцию кишечника пациентов с метаболическим синдромом [136]. Кормление мышей диетой с высоким содержанием жиров и полисахаридов, привело к аналогичным изменениям в микробиоте [78]. К факторам, негативно влияющим на микробный состав и функции пристеночной микробиоты, относят применение антибиотиков (и других фармакологических препаратов), которые существенно уменьшают бактериальное разнообразие [292], в том числе генетические факторы [19], питание и образ жизни [42; 147].

Несколько отличные данные приводят Zhao X. (2011) и коллеги. При питании с высоким содержанием жира может происходить и снижение количества *Firmicutes* у крыс. Как утверждают авторы, происходило это в основном за счет резкого снижения количества *Lactobacillus intestinalis*. Уровень *Lactobacillus intestinalis* отрицательно коррелировал с изменением массы тела и уровнем лептина, обеспечивая дальнейшее доказательство того, что его снижение связано с ожирением. Исследования X. Zhao и др. показывают, что плотность *Lactobacillus SPP.* уменьшается в дистальном отделе пищевода крыс, которые потребляют пищу с высоким содержанием жира [180].

Существенная роль микробиоты в развитии ожирения показана в эксперименте на мышах [75]. Мыши, выращенные в стерильных условиях, в отличие от традиционно выросших животных были защищены от ожирения.

Анализ источников литературы показал ограниченность и противоречивость результатов, полученных при изучении изменений микробиоты кишечника детей и подростков, страдающих ожирением. Так, одно исследование выявило низкие концентрации *Bacteroidetes* и высокие концентрации *Firmicutes* в дистальных отделах кишки у подростков Испании,

страдающих ожирением [207]. В другом исследовании, проведенном в Швеции, не найдено существенных различий в концентрациях *Bacteroides*, *Lactobacillus SPP.* и *Bifidobacterium SPP.* у дошкольников с избыточной массой тела и детей с нормальным весом [291]. Santacruz A. et al. (2009) нашли значительное снижение уровня *Lactobacillus* в микробиоте подростков, связывая это с избыточным весом [164]. По мнению С. Vael et al. (2011), высокая концентрация в кишечнике *Bacteroides* в раннем детстве связана с более высоким риском развития ожирения в более позднем возрасте [167].

Таким образом, проблема влияния характера питания на качественные и количественные изменения микробиоты желудочно-кишечного тракта у лиц подросткового возраста является актуальной и требует дальнейшего изучения.

1.2 Участие микробиоты кишечника в метаболических процессах в норме и при метаболическом ожирении

Данные научных исследований показывают, что микробиота кишечника существует совместно с организмом хозяина с момента рождения и поддерживает динамическое взаимодействие на протяжении всей его жизни [2]. Диета признается основным фактором изменений в микробиоте желудочно-кишечного тракта, однако вторичное влияние изменений характера микробиоты на метаболизм человека до конца не изучено [166].

Метаболическое значение микробиоты кишечника важно с точки зрения биохимических взаимодействий в организме человека, в результате чего осуществляется запас энергии, регенерация тканей, производство витаминов и других необходимых питательных веществ [218]. Из-за своей метаболической активности кишечная микробиота приравнивается к виртуальному органу [203]. Микробиота кишечника регулирует многие аспекты врожденного и приобретенного иммунитета, защищая хозяина от патогенных факторов и хронического воспаления [79; 258].

На основании анализа докладов ведущих гастроэнтерологов мира, представленных во время курса последипломного образования Европейской ассоциации гастроэнтерологов, эндоскопистов и нутрициологов (EAGEN), Скрыпник И.Н. (2013) резюмировал проблемные вопросы относительно роли кишечной микробиоты. Так, в своем докладе G. Mingrone показал, что взаимодействие питания и микробиоты кишечника человека может модулировать проницаемость кишечной стенки, приводя к синтезу провоспалительных цитокинов и последующей активации воспалительных сигнальных путей в периферических тканях, которые способствуют развитию ожирения, стеатозу и сахарному диабету. Исследуя роль микробиоты, А. Gasbarrini отмечает, что у субъектов одной популяции могут выявляться разные микроорганизмы с общим метаболизмом [2].

Для своего существования микробиота кишечника получает питание из компонентов пищи (углеводы, белки, и липиды), а также использует компоненты из эпителиальных клеток и слизи стенки кишечника. В процессе использования этих субстратов микробиота производит ряд метаболитов, оказывающих влияние на здоровье человека [166].

Чрезвычайно важным представляется участие микробиоты толстой кишки в липидном метаболизме. К первым убедительным доказательствам роли микробиоты кишечника в регуляции энергетического гомеостаза хозяина пришли Gordon J.L. et al. [78; 191; 204]. В эксперименте они заметили, что у 40% мышей, выросших в стерильных условиях, даже при большей калорийности рациона ожирение отсутствовало по сравнению с обычно выведенными мышами. Через 2 недели конвенционализации (т.е. колонизации в слепой кишке, полученных дистальнее микробных сообществ) стерильных мышей, при том же уровне потребления и расхода энергии, уровень содержания липидов составил 57%, отмечалось двух, трехкратное увеличение печени, увеличение содержания триглицеридов и значительное увеличение уровня инсулина [285].

Точная природа изменений кишечной микробиоты, связанной с ожирением у людей, остается до конца неизвестной [87; 148; 206]. Тем не менее некоторые исследования выявили взаимосвязь между бактериальным индексом и массой тела (ИМТ), ожирением, дислипидемией и резистентностью к инсулину [253].

Микробиота кишечника влияет на фенотип метаболизма с помощью ряда механизмов, одним из которых является производство энергетических субстратов ферментации, особенно короткоцепочечных жирных кислот – ацетата, бутирата и пропионата [60; 230]. Позитивным в процессе образования КЦЖК можно считать факт анаэробного брожения ди-, олиго- и полисахаридов, следствием чего является снижение pH, и переход аммиака, образующегося в толстой кишке при микробном преобразовании белков и аминокислот в ионы аммония, не способных свободно проникать через кишечную стенку в кровь (они выводятся с калом в виде аммонийных солей) [172].

Бутират является основным источником энергии для колоноцитов в толстом кишечнике. При его отсутствии может произойти модификация в структуре кишечного эпителия, вследствие чего увеличивается проницаемость кишечника и усиливается прохождение молекул из просвета кишечника в кровотоки [43]. Среди этих молекул находятся эндотоксины (липополисахариды – ЛПС), играющие ключевую роль в развитии системного воспаления, связанного с ожирением [46; 199; 226]. Хроническое системное воспаление развивается под влиянием дисбиотической микрофлоры. При снижении количества видов лактобацилл, производящих бутират, развивается эндотоксемия и ожирение [43; 199; 290]. В циркулирующей крови содержание ЛПС составляет 1– 200 пг/мл, при ожирении увеличивается на 20%, у пациентов с сахарным диабетом - 125 % [143]. Повышение содержания жиров в пище вызывает гибель грамотрицательных микроорганизмов. ЛПС, представляющие собой производные их мембраны, абсорбируются в кровь и вызывают системную эндотоксинемию, инициируя развитие ожирения и инсулиновой резистентности [158]. Запускается каскад с активацией

запускающих воспалительный процесс эффекторных молекул, таких как нуклеарный фактор каппа В (NF-kb), а также активатор протеина (AP-1), состоящий из белков Fos- и Jun-семейств [45]. Следует отметить, что через попадание в кровоток ЛПС как высокожировая, так и высокоуглеводная диеты активируют экспрессию TLR4, супрессор цитокина (SOC)₃, которые регулируют метаболические пути секреции инсулина и лептина [77; 159; 184]. Бутират обладает противовоспалительными свойствами, связанным со снижением числа лейкоцитов, макрофагов и уменьшением производства провоспалительных цитокинов [248; 259].

Ацетат является основным из короткоцепочечных жирных кислот в толстой кишке и действует в качестве субстрата для синтеза холестерина в печени и синтеза жирных кислот (липогенеза), тем самым способствуя гиперхолестеринемии, гипертриглицеридемии и развитию стеатоза печени [276]. Вышеприведенные результаты получены в эксперименте на крысах с высоким содержанием жира в питании. В настоящее время установлена следующая цепь биосинтеза холестерина, включающая в себя несколько ступеней: превращение трёх молекул активного ацетата → пятиуглеродный мевалонат → активный изопреноид (шесть молекул изопентенилпирофосфат) → тридцатиуглеродный изопреноида сквален → циклизация сквалена → ланостерин → холестерин [192].

Другой представитель КЦЖК – пропионат является субстратом для глюконеогенеза и ингибирует синтез холестерина в печеночной ткани [276]. Процесс ингибирования происходит через активацию G-белок связывающий рецептор 43 или рецептор двух свободных жирных кислот. Он противодействует синтезу липогенеза из ацетата в печени и участвует в дифференцировке адипоцитов (увеличивает адипогенез), что приводит к увеличению степени ожирения [20; 157].

Таким образом, отношение этилацетат /пропионат играет важную роль в регуляции липидного и холестеринового обменов [44; 60; 247]. Тем не менее, эти эффекты пропионата в отношении подавления липогенеза являются

спорными. Так, Zhang С. и соавторы [276] сообщили о значительно повышенных уровнях уксусной и пропионовой кислот у крыс, получавших питание с высоким содержанием жира.

Микробиота кишечника принимает активное участие в метаболизме белковых компонентов пищи [58]. При ферментации белка образуются фенольные метаболиты, которые могут оказать вредное воздействие на хозяина [304]. Ряд других метаболитов ароматических аминокислот, таких как триптофан, фенилаланин, тирозин, оказывает неоднозначный эффект на организм. Так, из триптофана под влиянием триптофаназы бактериального происхождения образуется индол [58]. Часть индола поступает в кровь, а затем в печень, где благодаря процессам окисления и последующего сульфатирования образуется 3-индоксилсульфата [223], относящийся к семейству уремических токсинов. Однако большая часть индола в кишечнике подвергается дальнейшей трансформации с образованием ряда метаболитов, в частности, индол-3-пирувата, который улучшает функции кишечного барьера и уменьшает поступление ЛПС в кровоток [170; 279].

При сравнении метагеномов мышей одного помета с нормальной массой тела и с ожирением обнаружен ген, кодирующий катаболизм сложных полисахаридов, в том числе гликозидных гидролаз, что приводит к увеличению поглощения энергии из кишечника [78].

Нормализация нарушений липидного обмена при помощи коррекции микробиоты является эффективной стратегией, в том числе и в связи с влиянием кишечной микрофлоры на метаболизм желчных кислот путем преобразования их в холевую кислоту [141]. Конъюгированная холевая кислота, не всосавшись в подвздошной кишке, подвергается преобразованиям микробной холеглицингидролазой и через ряд метаболических превращений переходит в дезоксихолевую кислоту, выделяясь в составе пищевых волокон с калом. Процесс выведения желчных кислот из организма нарушается при повышении значений рН, вызывая ионизацию дезоксихолевой кислоты, повторное ее всасывание в толстом кишечнике, что впоследствии стимулирует

синтез холестерина [141]. К причинам повышения pH относят недостаток в принимаемой пище пребиотиков, вследствие чего наблюдается дефицит бифидо- и лактобактерий [141].

Микроорганизмы, населяющие кишечник, выполняют защиту от инфекций. В основном это связано с конкуренцией бактерий нормальной микробиоты с другими микроорганизмами. Существует несколько путей, при помощи которых одни бактерии подавляют другие – это борьба за место обитания с активизацией перистальтики кишечника, клеток иммунной системы хозяина, синтеза веществ, обладающих антибактериальными свойствами, формированием неблагоприятных факторов среды обитания, включая метаболические превращения желчных кислот [256]. Показано, что при воспалительных процессах в кишечнике эффективным методом восстановления экосистемы со стороны микрофлоры является трансплантация фекальной микробиоты [57].

Таким образом, дисбиотическая и нормобиотическая микрофлора оказывают заметные и диаметрально противоположное влияние на организм хозяина.

1.3 Клеточные и молекулярные основы влияния лептина и грелина при диет-индуцированных метаболических нарушениях

Ожирение, являющееся главным фактором риска развития сахарного диабета 2 типа, сердечно-сосудистых заболеваний, определенных форм рака, признается следствием длительно протекающего положительного энергетического дисбаланса. Изучение ключевых метаболических гормонов, таких как лептин и грелин, участвующих в нейроэндокринном контроле энергетического гомеостаза, является весьма актуальной задачей [184].

Лептин - это пептидный гормон, представленный 167 аминокислотами, секретируется в основном адипоцитами, участвует в передаче афферентных сигналов в зону гипоталамуса, что приводит к подавлению аппетита и

снижению потребления пищи [182; 184; 187]. С другой стороны падение циркулирующих уровней лептина, связанных с отрицательным энергетическим балансом в организме, обуславливает сильную мотивацию к потреблению и пищи, и сохранению энергии [266]. По мере накопления жировых масс в организме, вызванного положительным энергетическим балансом, продукция лептина возрастает [184; 187]. Хотя большинство людей с ожирением имеют достаточно высокую скорость метаболизма, но умеренная потеря веса активирует анаболическую систему, усиливает чувство голода [193].

Синтез лептина контролируется геном ожирения (*obese gene* – *ob*-геном), который экспрессируется преимущественно адипоцитами [196]. Секреция лептина частично регулируется гормонами – инсулином, кортизолом и половыми стероидами, главным образом тестостероном [109]. Эксперименты на тучных мышах, имеющих аутосомно-рецессивный аллель *ob* из-за мутаций в гене, ответственном за производство лептина, показали, что введение экзогенного лептина способно привести к потере веса. Данный факт указывает на важность лептина как регулятора энергетического баланса [109].

Лептин выделяется из жировой ткани в прямой пропорции к содержанию жира в организме и проникает в гематоэнцефалический барьер, взаимодействуя с рецепторами лептина в гипоталамусе и мозговом стволе [29; 261]. Уровень лептина также определяется анатомическими, функциональными характеристиками гипоталамуса и другими отделами головного мозга, которые, в свою очередь, зависят от генетических факторов и факторов развития [242].

Лептин обладает способностью активировать или ингибировать гипоталамические нейроны [183]. Воздействие лептина на энергетический баланс опосредуется через рецепторы лептина (*LepR*), которые расположены в аркуатном (*ARC*), паравентрикулярном, вентромедиальном ядрах гипоталамуса и в его латеральных областях (*LHA*) [48; 190]. Хотя у грызунов обнаружено шесть изоформ *LepR*, именно изоформа лептинового рецептора *LepRb* обнаружена во всех вышеперечисленных областях мозга и играет наибольшую роль в регулировании потребления пищи и расходования энергии [190].

Связывание лептина с рецептором LepRb приводит к фосфорилированию цитоплазматической тирозинкиназы JAK2 (Janus kinase), а с ее помощью происходит фосфорилирование белков -переносчиков сигнала (Tyr985, Tyr1077 и Tyr1138) и активаторов транскрипции (Signal transducer and activator of transcription – STAT3) [23; 109]. Каждый из тирозиновых остатков связывается с определёнными сигнальными белками, в частности, Tyr1138 рекрутирует белки семейства STAT3, которые являются транскрипционными факторами и способствуют модуляции экспрессии генов [23]. Сигнализация STAT3 играет решающую роль в действии гормона лептина, который, в конечном счете, способствует фосфорилированию тирозина STAT3 (p STAT3) [271].

Многие экстрагипоталамические области также чувствительны к лептину, в том числе ядра солитарного тракта и среднего мозга, сигнализируя о насыщении (reward and motivation) [108]. Некоторые исследователи показали важность прямого действия лептина на астроциты [301].

Через чувствительные к лептину нейроны аркуатное ядро играет главную роль в интеграции сигналов, регулирующих аппетит. Помимо лептина нейроны стимулируются инсулином и экспрессируют про-опиомеланокортин (POMC), синтезируя и высвобождая пептиды меланокортина, а именно α -MSH, которые ингибируют потребление пищи [14]. В исследовании Butler A.A. и коллег (2001) отмечалось, что передача сигналов и высвобождение меланокортина играют ключевую физиологическую роль в борьбе с избыточной массой тела, особенно при потреблении высококалорийных продуктов.

Существуют различные точки зрения относительно вклада центральных и периферических рецепторов в реализацию метаболических эффектов лептина. Согласно одной из них центральные рецепторные структуры головного мозга являются основными в реализации эффектов лептина, поскольку экспериментальное удаление всех периферических рецепторов к лептину, включая кишечник, не изменяет энергетический метаболизм, а также приводит к увеличению производства лептина [81]. Guilmeau S. и коллеги (2004) представили иную точку зрения, подчеркивая важность влияния лептина на

функциональную работу желудочно-кишечного тракта и прием пищи посредством активизации рецепторов желудочно-кишечного тракта [248]. Внутривентрикулярное введение лептина активирует рецепторы тощей кишки и ведет к снижению выработки глюкозы у грызунов с ожирением и неконтролируемым сахарным диабетом, что указывает на роль лептиновых рецепторов в раннем противодиабетическом эффекте [171]. Чтобы оценить важность рецепторов к лептину в кишечнике, была создана модель в виде мышей с генетическим нарушением, проявляющимся в отсутствии функции данных рецепторов, в результате чего подопытные животные имели меньшую восприимчивость к ожирению, связанную с диетой. Последнее можно объяснить уменьшением абсорбции питательных веществ (жиров, сахара и белков) в кишечнике [231]. Также отмечено, что в данной экспериментальной модели при наличии слизистой тощей кишки с ворсинками, длина которых превышала норму, нарушались механизмы абсорбции в кишечнике [165]. Лептин повышал резистентность слизистой оболочки по отношению к амебной инфекции и делал это, главным образом, через рецепторы к лептину, экспрессирующиеся на эпителиальных клетках кишечника [16].

Известно, что снижение уровня лептина способствует повышению потребления пищи, что приводящее к положительному энергетическому балансу и увеличению массы жировой ткани [262]. В своем исследовании Chehab F. (2000) пришел к выводу, что при снижении запасов жировой ткани в организме первичная функциональная роль лептина заключается в создании условий формирования положительного энергетического баланса за счет увеличения количества потребляемой пищи [53]. Краткосрочные диеты с высоким содержанием жиров ведут к уменьшению секреции лептина. Снижение секреции лептина может способствовать дальнейшему увеличению веса, которое наблюдали в исследовании на лабораторных животных, находящихся на диете с преимущественным потреблением жиров [138].

У большинства людей с ожирением, а также грызунов, находящихся на высококалорийной жировой диете, отмечается высокая концентрация

циркулирующего лептина, соизмеримая с повышенной адипозностью [95]. Гипотеза о том, что резистентность к лептину способствует развитию ожирения, подтверждается экспериментально, поскольку грызуны, получавшие диету с высоким содержанием жиров (HFD), в результате теряли чувствительность к лептину в нейронах аркуатного ядра [197, 212]. Проведен эксперимент, в котором удалялись рецепторы лептина в области гипоталамических нейронов, что спровоцировало ожирение у мышей [295].

Механизмы формирования резистентности к лептину, несмотря на многочисленные исследования, до сих пор до конца не установлены. К потенциальным механизмам, ограничивающим передачу лептина на лептиновые рецепторы при ожирении, относят выброс ингибиторов сигнального пути LepRb [77; 184]. Другим объяснением неэффективности высоких концентраций лептина в предотвращении ожирения считается нарушение прохождения лептина у пациентов с ожирением через гематоэнцефалический барьер [31]. Высокие концентрации лептина вызывают развитие воспаления в астроцитах, содержащих лептиновые рецепторы, вследствие чего концентрация лептина в мозге падает [92]. Важная роль отводится активации при ожирении воспалительных сигнальных путей и цитокинов, в том числе в гипоталамусе, что ослабляет передачу сигналов LepRb [219]. Активируются внутриклеточные сигнальные каскады, включая путь ядерного фактора κB (NF- κB), способствующего экспрессии провоспалительных цитокинов, что может ослабить действие лептина [224]. Экспериментально показано, что при жировом типе питания одним из факторов усиления функционирования воспалительных сигнальных путей является повышение содержания насыщенных жирных кислот, что способствует увеличению массы тела [17; 208]. Полная абляция NF- κB пути в гипоталамусе приводит к потере веса [47].

Генетические мутации, препятствующие формированию резистентности к лептину, не приводят к набору массы тела [213; 244].

Существенное влияние на энергетический метаболизм оказывает грелин, ацилированный пептид с 28 аминокислотами, преимущественно продуцируемый слизистой оболочкой желудка [228]. Он является единственным известным периферическим гормоном, который стимулирует потребление пищи и снижает расход энергии [70; 216]. Грелин обнаруживается во многих других органах, таких как кишечник, поджелудочная железа, почка, плацента, лимфатическая ткань, гонады, щитовидная железа, надпочечник, легкие, гипофиз и гипоталамус [37; 116; 117; 128; 129;]. После выхода в кровоток, грелин так же как и лептин, пересекает гематоэнцефалический барьер и связывается с рецепторами в аркуатном ядре гипоталамуса [284; 287]. Изменения уровня грелина в ответ на изменения веса противоположны динамике лептина, в связи, с чем высказалось предположение, что оба гормона могут действовать как сигналы к центральной нервной системе о состоянии метаболического баланса [25; 125; 186; 209].

Механорецепторные нейроны в желудке через вагусные афферентные и спинальные сенсорные нервы передают импульсы о растяжении желудка в задний мозг [255]. Пептиды желудочно-кишечного тракта индуцируют насыщение посредством вагусных афферентных волокон, а также через кровоток, попадая в головной мозг, непосредственно воздействуют на них [228].

Перед началом приема пищи уровень грелина достигает своего максимума и быстро снижается во время, и сразу после еды [68; 228]. Сигналом к увеличению циркулирующих уровней грелина является ограничение энергии, т.е. его секреция в основном регулируется метаболическими процессами [118; 125; 215; 275].

Циркулирующие уровни грелина отрицательно коррелируют с индексом массы тела. Секреция грелина увеличивается при анорексии и кахексии, снижается при ожирении и нормализуется при восстановлении индекса массы тела [34; 55; 265; 275].

Секреция грелина снижается на фоне пероральной и внутривенной нагрузки глюкозой и даже может наблюдаться после инсулин-индуцированной гипогликемии [99; 120; 124; 152; 288]. Ингибирующее влияние чрезмерного воздействия инсулина на секрецию грелина обусловлено сильной отрицательной связью между уровнями грелина и инсулина, аналогичной обратной корреляции между уровнями грелина и индексом массы тела [229]. Тем не менее, пока неясно, оказывают ли инсулин и глюкоза, как таковые, прямое ингибирующее действие на секрецию грелина [163; 227].

Показано, что пероральное, внутривенное и внутрижелудочное введение жира снижает циркулирующие уровни грелина [127; 132]. Однако данные других авторов не продемонстрировали влияние постоянной липидной инфузии на уровни грелина в плазме [99]. Существует точка зрения, согласно которой пероральное введение жира уменьшает содержание грелина, хотя и в меньшей степени, чем после приема глюкозы [80; 98; 125], а по данным Erdmann et al. (2004) даже увеличивает циркулирующие уровни грелина.

Пероральное введение белка повышает уровень грелина в плазме [127]. Однако некоторые авторы получили противоположные результаты на фоне белкового питания так, уровень грелина несколько снижается, по сравнению с другими видами питания [132].

Следует отметить, что секреция грелина также ингибируется активацией рецепторов соматостатина [119; 122; 123]. Введение фармакологических доз нативного соматостатина, его естественного аналога кортистатина и синтетического аналога, такого как октреотида, заметно снижает уровень циркулирующего уровня грелина у людей в той же степени, что и уровень глюкозы или инсулина. Снижение содержания грелина увеличивает циркулирующие уровни соматостатина [274], предполагая наличие обратной связи между этими двумя пептидами.

У людей секреция грелина находится также под холинергическим контролем, поскольку уровни грелина стимулируются и ингибируются холинергическими мускариновыми агонистами и антагонистами

соответственно [124]. Эти данные согласуются с доказательствами того, что повышение уровня грелина, вызванное лишением пищи, предотвращается поддиафрагмальной ваготомией и значительно снижается атропином у крыс [299].

Способностью модулировать экспрессию и/или секрецию грелина, включая PYY3-36, обладают оксинтомодулин, урокортин, гормоны щитовидной железы, стероиды, тестостерон [161; 162; 283].

Нам встречались единичные исследования, касающиеся изменений со стороны выработки лептина и грелина на фоне коррекции микробиоты кишечника. Как показано, конъюгированная линолевая кислота, являющаяся естественным производным линолевой кислоты, содержащейся в пищевых и молочных продуктах, увеличивает скорость метаболизма у мышей [236]. Применение у мышей, потребляющих пищу с высоким содержанием жиров, пробиотического штамма, продуцирующего конъюгированную линолевую кислоту, *L. rhamnosus* PL60, приводит к меньшему набору веса и количества белой жировой ткани без влияния на количество потребляемой пищи. Эффект сочетался с высокой экспрессией *Mitochondrial uncoupling protein 2* (семейство разобщающих белков, нарушающих аккумуляцию энергии в виде АТФ) на фоне снижения экспрессии синтазы жирных кислот, падения уровней лептина и глюкозы в сыворотке крови. Использование других пробиотических штаммов, продуцирующих конъюгированную линолевую кислоту, также вызывало снижение массы тела и уровня глюкозы у мышей с пищевым ожирением [154; 243,].

Доказана эффективность перорального применения пребиотиков инулина или инулинного типа, которые достигают толстой кишки, где подвергаются бактериальной ферментации и стимулируют рост *Bifidobacteria* видов [176]. Эти типы пребиотиков могут влиять на производство ряда гормонов через короткоцепочечные жирные кислоты, таких как глюкагоноподобный пептид-1, пептид YY (PYY), грелин и лептин [84; 281]. Поскольку грелин привлек большое внимание среди исследователей как гормон голода [126], сделан вывод

о том, что микробиота может влиять не только на метаболизм хозяина, но и потребление пищи, и регулирование аппетита [69].

Таким образом, анализ имеющихся публикаций свидетельствует о противоречивости полученных исследователями данных о содержании лептина и грелина, а также их рецепторов в крови и тканях на фоне различных диетических стратегий. Остается мало изученным вопрос об эффективности использования пре- и пробиотиков в коррекции метаболических нарушений, вызванных особенностями питания, их влиянии на продукцию лептина и грелина.

1.4 Терапевтические воздействия на микробиоту как метод коррекции диет-индуцированных нарушений обмена веществ

Метаболический синдром является сложным расстройством, вызванным кластером взаимосвязанных факторов, что увеличивает риск развития сердечно-сосудистых заболеваний и диабета 2 типа. После установления прочных взаимосвязей между диетой, микробиотой кишечника и патофизиологическими факторами метаболического синдрома предложены различные пищевые стратегии, основанные на пробиотических и пребиотических вмешательствах.

Среди методов коррекции ожирения и метаболического синдрома диетические стратегии являются более подходящими, без каких-либо неблагоприятных последствий для здоровья. Применение пробиотиков и пребиотиков, как биотерапевтических препаратов, – это новая область в разработке стратегии питания. Недавние исследования установили роль пробиотиков и пребиотиков в управлении весом с возможными механизмами повышения баланса микробиоты, снижения потребления пищи и абдоминального ожирения, повышения целостности слизистой со снижением воспалительной активности. Возникла необходимость в получении глубоких знаний о предполагаемых механизмах действия пробиотиков и пребиотиков для

того, чтобы развивать диетические стратегии управления метаболическим синдромом [195]. Однако для того, чтобы эти стратегии оказались эффективными, они должны быть направлены против конкретных видов бактерий, участвующих в развитии метаболического синдрома.

Установлено, что диета с ограниченной калорийностью менее эффективна применительно к детям, страдающим ожирением. Существующие фармакологические методы лечения, безусловно, не лишены негативных побочных эффектов и высокой стоимости лечения [140]. Таким образом, для коррекции питания необходимы натуральные пищевые продукты, сочетающие активность пробиотиков и пребиотиков, которые модулируют метаболический синдром, очевидно, что этот подход окажется экономически эффективным, без влияния побочных эффектов на здоровье. Пробиотики - это живые микроорганизмы, безопасные для здоровья, введение которых в адекватных количествах приносит пользу для здоровья хозяина [105]. Ключевыми микроорганизмами этой группы являются лактобациллы и бифидобактерии.

Пребиотики представляют собой неперевариваемые вещества, такие как инулин, олигофруктозные/галактозные комплексы, которые избирательно поддерживают рост и развитие пробиотических бактерий и других микроорганизмов в кишечнике. Многие ученые из разных стран мира пытаются понять, как биотерапевтические пробиотики участвуют в управлении воспалительными нарушениями обмена веществ. Для того, чтобы продемонстрировать функциональную эффективность пробиотиков, необходимо отобрать именно те штаммы, которые будут оказывать положительное влияние на обмен веществ в организме человека.

Еще И.И. Мечников в начале XX века обозначил новое научное направление, касающееся межмикробного антогонизма и оценку влияния молочнокислых бактерий (*lactic acid bacteria* (LAB)) на организм хозяина, а также сформулировал основные положения современной научной дисциплины «пробиотической микробиологии» [3, 8].

Активное, но часто необоснованно длительное использование пробиотических пищевых продуктов и препаратов привело к возникновению ряда серьезных проблем. Среди последних можно отметить низкую эффективность воздействия некоторых субстанций подавление собственной микробиоты в организме хозяина, развитие инфекционно-индуцированной патологии при введении пробиотиков ослабленным больным [179; 181]. Отсюда становится очевидным, что для повышения эффективности лечебно-профилактического влияния использования и максимально возможного предотвращения развития побочных эффектов LAB необходимо применять учитывая индивидуальные особенности больного. Именно поэтому в настоящее время одним из наиболее актуальным следует признать разработку многогранных научных исследований по изучению действия молочнокислых бактерий на макроорганизм и его микробиоту.

Предметом настоящего исследования и явились LAB относящиеся к бактериям родов *Lactobacillus* и *Enterococcus* [32; 135]. Научный и практический интерес определяется тем что, находясь в составе нормальной микробиоты человека и животных [280], они широко распространены во внешней среде, а также являются составной частью большинства пробиотических препаратов и продуктов. Рядом авторов продемонстрировано разностороннее влияние энтерококков и лактобацилл на биохимические, физиологические, нейрогуморальные и иммунные процессы в организмах человека и животных [89; 131; 238]. Определяющим признается их участие в поддержании колонизационной резистентности и гомеостаза, нормализации содержания в организме углеводов, желчных кислот, холестерина, в синтезе витаминов и других биологически активных соединений [130]. Более того, некоторые штаммы энтерококков и лактобацилл продуцируют такие продукты, как перекись водорода, лизоцим, бактериоцины и бактериоциноподобные субстанции в окружающую среду, способны конкурировать с патогенными микроорганизмами за сайты на эпителиальных клетках кишечника и пищевые субстраты [135].

В настоящее время к пробиотическим штаммам LAB предъявляют ряд требований, основным из которых является наличие выраженной антимикробной активности [249]. Именно это качество пробиотика позволяет использовать его для усиления или коррекции эффектов антибиотиков, а в ряде случаев – как их альтернативу. Можно полагать, что пробиотики практически незаменимы в терапии дисбиотических состояний, болезни Крона, язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки [10]. Кроме того, LAB активно используются в терапии больных с сахарным диабетом, аллергическими заболеваниями [233], ишемической болезни сердца и коррекции нарушений липидного и минерального обменов.

В ряде исследований показаны существенные различия в спектрах антибактериального действия различных штаммов молочнокислых бактерий и их способности влиять на иммунную систему и метаболические процессы, происходящие в организме человека и животных. Разнообразие соматической патологии и особенности собственной микробиоты организма хозяина создают фундамент для индивидуального (персонализированного) подбора пробиотиков в каждом конкретном случае.

На сегодняшний день в большинстве работ кишечная флора, связанная с ожирением, анализировалась только на уровне типа. Были проведены исследования, связанные с дисбалансом микробиоты кишечника и восприимчивостью к инфекциям, нарушениями иммунной системы и, что еще более важно, с ожирением и инсулинорезистентностью [50; 137]. Эти исследования являются научным доказательством возможности использования пробиотиков и пребиотиков в разработке стратегии питания и управления метаболическим синдромом [50; 169; 221; 222]. В организме человека картина несколько более ясная - там, где количество *Bacteroidetes* высокое, то после потери веса их количество остается нейтральным или уменьшается [82; 148; 164; 268].

В другом исследовании с применением 16S рРНК клонов, полученных от пациентов, страдающих ожирением, которые были рандомизированы и

ограничены в жирах и углеводах, было отмечено, что *Bacteroidetes* положительно коррелировали с уменьшением веса хозяина [204].

Предполагаемая роль пребиотиков в управлении метаболическими расстройствами также изучалась различными исследователями. В научной литературе имеются работы, показывающие эффективное влияние пребиотиков на потребление пищи, на массу тела, глюкозу плазмы, липидный профиль, и другие сопутствующих факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний [59]. Для поддержки этой гипотезы были предложены несколько механизмов: во-первых, модуляция кишечной флоры микробиоты поддерживая полезными микроорганизмами [232; 191]. Во-вторых, индуцируют пролиферацию энтероэндокринных L-клеток и модулировать продукцию и секрецию пептида (т.е., глюкагон-подобный пептид-1 [GLP-1], пептид YY-и грелина) [59; 72; 137]. В-третьих, модулировать воспаление у тучных людей [79].

Интересен тот факт, что долгосрочный прием с пищей *Lactobacillus SPP.* уменьшает вес тела у крыс [146] и человека [246], и можно предположить, что *Lactobacillus SPP* могут быть полезны при метаболических нарушениях и значимы для поддержания здоровья желудочно-кишечного тракта. Благотворное воздействие оказывают на организм лактобактерии, их обилие в кишечнике связано с продолжительностью жизни мышей [276]. Кроме того, молочнокислые бактерии, как было показано, участвуют в поддержании целостности кишечного барьера через восстановление клеточных контактов и восстановление эпителия после повреждения. Таким образом, с уменьшением их численности, вероятно, увеличивается продукция бактериального эндотоксина, его поступление в кровоток, что является основным фактором, способствующим воспалению и ожирению [50; 199]. Тем не менее, воздействие *Lactobacillus* на ожирение, как было показано, связано с низким весом, либо с его увеличением [62; 63].

Было проведено исследование пробиотиков в качестве перспективной терапии в управлении метаболическими расстройствами, включая ожирение и диабет. Настоящим исследованием показано, что пробиотический штамм

Bifidobacterium animalis, подвид *Lactis* 420 (B420), может существенно невелировать возникшие метаболические нарушения, противодействуя негативным последствиям потребления жиров (<http://www.danisco.com/wps/wcm/connect>). Полученные результаты продемонстрировали значительное снижение воспаления ткани и эндотоксемии, связанной с метаболическими изменениями, при лечении пробиотиками.

Y. Kadooka и соавторы описали характеристики 87 больных с высоким индексом массы тела, получали *Lactobacillus (L.) gasseri* (LG2055.) в качестве дополнительной культуры в йогурте [246]. Йогурт сбрасывался с использованием обычных культур *Streptococcus thermophilus* и *L. Delbrueckii* SSP. *Bulgaricus*. Авторами показано, что пробиотический штамм значительно снижает абдоминальное ожирение, подавляя активность висцеральных адипоцитов, массу тела и способствует нормализации метаболических расстройств. В последующем те же исследователи использовали уровень растворимой межклеточной адгезии молекулы-1 (SICAM-1) в крови в качестве маркера воспаления, который повышался при ожирении [294]. В другом эксперименте пероральное введение *L. gasseri* BNR17 предотвратило увеличение массы тела и жировой ткани у крыс с избыточным весом [174]. Добавка пробиотика *Bifidobacterium* в модели мышей с ожирением, вызванным высоким содержанием жира в диете, подавило накопление массы тела [27].

В борьбе с ожирением, пациенты, получавшие в течение 8 недель *L. rhamnosus* PL60, PL62 *L. Plantarum* [28; 150] добились снижения веса тела, при этом не уменьшая количество потребляемых калорий, что способствовало значительному уменьшению жировой ткани. Таким образом, количество конъюгированной линолевой кислоты, производимой *L. rhamnosus* PL60 было достаточно, чтобы бороться с ожирением [150].

Рекомбинантный *L. paracasei* NFBC 338 (Lb338) и конъюгированная линолевая кислота показала 4-кратное увеличение транс-10, цис-12 конъюгированной линолевой кислоты в жировой ткани мышей по сравнению с

мышами, получившими изогенный без конъюгированной линолевой кислоты штамм-продуцент [243]. Эти данные показали, что один ген (кодирующий конъюгированную линолевую кислоту изомеразы) экспрессирующийся в кишечной микробиоте, может улучшить липидный профиль хозяина. Пищевые стратегии с применением пробиотиков могут быть успешными в разработке диетического режима и фармацевтических препаратов для достижения и поддержания нормального веса тела у тучных людей.

Необходимо более глубокое изучение микробного профиля, связанного с повышенным риском развития метаболического заболевания и его последующей модификации, определение влияния пребиотиков, пробиотиков или целевых антибиотиков будет необходимо для развития новых терапевтических подходов в лечении метаболического заболевания [136].

Среди методов коррекции микробиоты была попытка трансплантации микробиоты от мышей с ожирением в стерильных мышей дикого типа C57BL, что вызвало ожирение последних. В случае трансплантации микробиоты от мышей, не страдающих ожирением, было показано, что набор массы не происходил, в связи, с чем был сделан вывод, что микробиота кишечника может модулировать ожирение [78; 204].

Таким образом, терапевтический потенциал пре- и пробиотиков для коррекции обменных нарушений используется достаточно широко. Однако, по-прежнему, отсутствуют комплексные исследования, посвященные изучению эффективности использования синбиотиков для коррекции диет-индуцированных нарушений обмена у подростков.

Глава 2 Материалы и методы исследования

2.1 Экспериментальные животные

Исследование проводилось на базе кафедры патологической физиологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Исследование выполнено на 156 крысах линии Вистар, среди которых 29 животных были самки фертильного возраста массой 250-300 грамм и 127 – крысята в возрасте 7 недель массой 50-78 грамм. Все животные прошли карантинный режим вивария Башкирского государственного медицинского университета и не имели внешних признаков заболеваний.

Содержание, питание, уход за животными и выведение их из эксперимента проводили с соблюдением принципов, изложенных в «Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Страсбург, 18 марта 1986 г., ETS №123) и в Приказе Минздрава России №199н от 01.04.2016 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики».

Выбор экспериментальных животных, протоколы проведения экспериментальных исследований, вывод животных из эксперимента утверждены локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «БГМУ» МЗ РФ (протокол № 5 от 22.05.2019 г.).

Взрослые половозрелые крысы (5-6 месяцев) были разделены на контрольную группу и три группы с различными типами питания – высокожировую, высокоуглеводную и высокобелковую, каждая из групп содержала по 6-7 особей. Крысы содержались на обычном питьевом режиме.

Контрольная группа находилась на сбалансированном типе питания [52] (Таблица 1).

Таблица 1 – Состав рациона группы лабораторных животных со сбалансированным типом питания

Продукты питания	Вес, г	Белки, г	Жиры, г	Углеводы, г	Калорийность, Ккал
Морковь	10	0,1	0	0,7	4,1
Картофель	10	0,2	0	1,6	8,0
Овес	15	1,5	0,9	8,3	63,2
Мясо 2 сорт	10	2,0	0,98	0	16,8
Итого	45	3,8	1,88	10,6	

При моделировании диеты с преимущественным потреблением жиров процентное содержание жира в суточном рационе жиров составляло 51% [52] (Таблица 2).

Таблица 2 — Состав рациона группы лабораторных животных с преимущественным потреблением жиров

Продукты питания	Вес, г	Белки, г	Жиры, г	Углеводы, г	Калорийность, Ккал
Морковь	10	0,1	0	0,7	4,1
Картофель	10	0,2	0	1,6	8,0
Овес	15	1,5	0,9	8,3	63,2
Мясо, 2 сорт.	5	1,0	0,49	0	8,4
Сало	14	0,2	13	0	84,1
Итого	46	2,8	14,39	10,6	

Высокоуглеводный тип питания предусматривал включение в рацион питания 77% углеводов, что достигалось потреблением сахара [286] (Таблица 3).

Таблица 3 — Состав рациона группы лабораторных животных с преимущественным потреблением углеводов

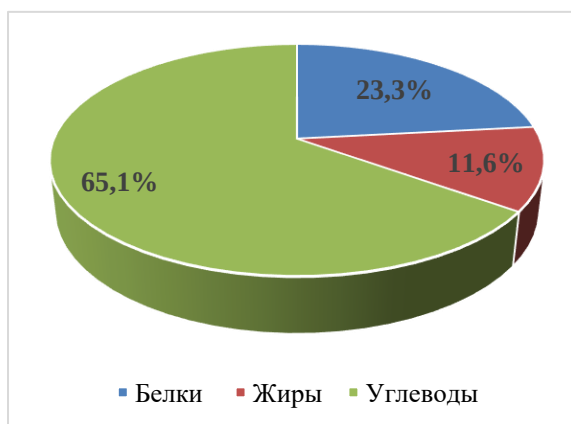
Продукты питания	Вес, г	Белки, г	Жиры, г	Углеводы, г	Калорийность, Ккал
Морковь	10	0,1	0	0,7	4,1
Картофель	10	0,2	0	1,6	8,0
Овес	10	1	0,6	5,5	31,6
Мясо 2 сорт.	10	2,0	0,98	0	16,8
Сахар	9	0	0	9	39,9
Итого	49	3,3	1,58	16,8	

В группе с высокобелковым типом питания вводился изолят сывороточного белка 100% (LEVELUP, Россия), вследствие чего доля белка в рационе составила 35% от общего рациона [239] (Таблица 4).

Таблица 4- Состав рациона группы лабораторных животных с преимущественным потреблением белков

Продукты питания	Вес, г	Белки, г	Жиры, г	Углеводы, г	Калорийность, Ккал
Морковь	10	0,1	0	0,7	4,1
Картофель	10	0,2	0	1,6	8,0
Овес	15	1,5	0,9	8,3	63,2
Мясо 2 сорт.	5	1,0	0,49	0	8,4
Изолят соевого белка	5	3,95	0,11	0,04	17,08
Итого	45	6,75	1,5	10,64	

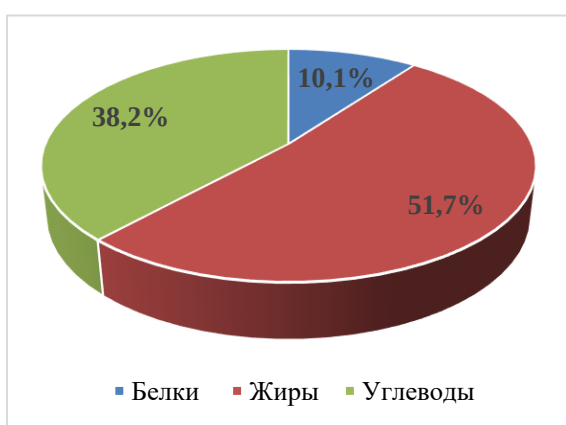
Пищевой рацион лабораторных животных с различными типами питания интерпретирован графически (Рисунок 1).



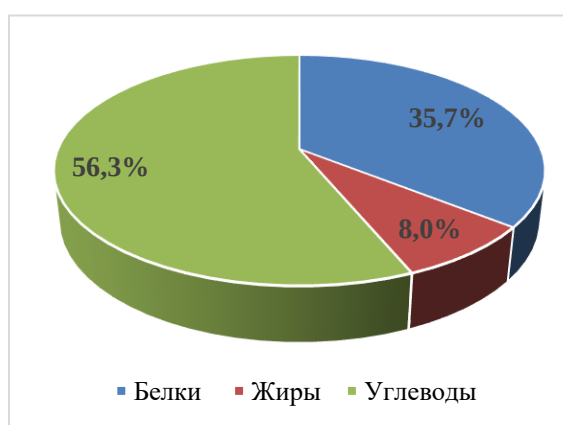
А) Сбалансированный тип питания



Б) Высокоуглеводный тип питания



В) Высокожировой тип питания



Г) Высокобелковый тип питания

Рисунок 1 – Содержание белков, жиров и углеводов в рационе крыс с различными типами питания, участвовавших в эксперименте

После появления потомства крысята до 14-16 дней находились на лактотрофном питании у крыс соответствующих экспериментальных групп, в дальнейшем, потомство было отсажено от самок, типы питания в группах молодых особей сохранялись. В возрасте пяти недель экспериментальные группы были дополнительно разделены на 2 подгруппы (соответствующая диета и коррекция препаратом «Нормобакт»). «Нормобакт» препарат (ОАО «Акрихин», Россия) содержит штаммы двух видов бактерий, в соотношении 1:1, *Lactobacillus acidophilus* LA-5 и *Bifidobacterium* BB-12 + фруктоолигосахариды. Препарат применялся 1 раз в день в течение 14 дней. В

100 мл воды разводилось 3 г препарата и 0,5 мл препарата вводилось интрагастрально.

Животные в возрасте 7 недель выводились из эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом. Забор крови животных осуществлялся в чистую пробирку, после чего пробы центрифугировали при 3000 оборотах в течение 20 минут. Сыворотку крови, полученную после центрифугирования помещали в эппендорфы объемом 2,0 мл, хранили в холодильнике при температуре воздуха -80°C . Непосредственно после забоя животного, производили забор тканей желудка, тонкого кишечника, толстого кишечника, кала; жировой ткани и головного мозга, образцы так же замораживали при -80°C для дальнейших исследований. Размораживание образцов биологического материала проводили на водяной бане при температуре 37°C , повторное замораживание не допускалось.

2.2 Методы анализа экспериментальных данных

2.2.1 Биохимические методы исследования

Биохимические исследования сыворотки крови проводили на автоматическом биохимическом анализаторе CA-400 (производство FURUNO ELECTRIC CO., LTD, Япония). Использовались жидкие стабильные диагностические наборы (DiaSys Diagnostic Systems GMBH, Германия), готовые к применению.

2.2.1.1 Характеристика углеводного обмена

Определение концентрации глюкозы. Концентрацию глюкозы в сыворотке крови определяли с помощью ферментативного фотометрического теста «GOD-PAP» с использованием глюкозооксидазы. Принцип метода основан на регистрации глюкозы ферментативным окислением в присутствии глюкозооксидазы. Окрашенный индикатор хинонимин образуется из фенола и 4-аминоантипирина под действием пероксида водорода при каталитическом

воздействии пероксидазы (реакция Триндера) [35]. Результаты выражали в ммоль/л.

2.2.1.2 Характеристика липидного обмена

Определение концентрации общего холестерина. Концентрацию общего холестерина определяли с помощью ферментативного фотометрического теста «CHOD-PAP».

Принцип метода: при гидролизе эфиров холестерина образуется свободный холестерин. Образовавшийся в результате гидролиза и имеющийся в пробе холестерин окисляется кислородом воздуха под действием холестеролоксидазы с образованием эквимольных количеств перекиси водорода. Под действием пероксидазы перекись водорода окисляет хромогенные субстраты с образованием окрашенного соединения, интенсивность окраски которого прямо пропорциональна концентрации холестерина в пробе. Результаты выражали в ммоль/л.

Определение концентрации триглицеридов. Использовался набор «Triglycerides DiaS», Германия. Данный метод является ферментативным фотометрическим тестом с глицерол-3-фосфатоксидазой. Отделение триглицеридов от липопротеидов проводили с помощью липазы. Окрашенный индикатор хинонимин образуется из 4-хлорфенола и 4-аминоантипирина под действием пероксида водорода при каталитическом воздействии пероксидазы. Результаты выражали в ммоль/л.

Определение концентрации липопротеинов низкой плотности (ЛПНП). Измерение выполнялось с применением набора «LDL-C Select FS», Германия. Метод является гомогенным методом прямого измерения липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) без осаждения в сыворотке. Концентрацию ЛПНП определяли в два этапа, на первом этапе липопротеины, не относящиеся к ЛПНП, подвергались воздействию ферментов (холестеринэстераза и холестериноксидаза). На втором этапе ЛПНП освобождали и селективно

определяли с помощью цветной ферментативной реакции. Результаты выражали в ммоль/л.

Определение концентрации липопротеинов высокой плотности (ЛПВП). Определение концентрации липопротеинов высокой плотности выполнялось с использованием набора «HDL-C Immuno FS». [214].

Метод основан на свойствах уникального детергента, а также на усилении реакции холестериноксидазы с не-ЛПВП незэстерифицированным холестерином при растворении ЛПВП с помощью детергента. При добавлении первого реагента происходит ферментативная реакция не-ЛПВП холестерина с образованием пероксида. Пероксид поглощается в пероксидазной реакции с DSBmT с образованием бесцветного продукта. Второй реагент содержит детергент, растворяющий ЛПВП, холестеринэстеразу и хромогенное вещество, обеспечивающее реакции цветность.

Определение выполнялось при длине волны 600-700 нм и длине оптического пути 10мм. Результаты выражали в ммоль/л.

Определение концентрации аполипопротеина A1. Метод с использованием набора «TruCal Apo A1» (DiaSys Diagnostic Systems GmbH, Germany). Длина волны составляла 580 нм (500 - 700 нм), длина оптического пути 10 мм. Результаты выражали в г/л.

Определение концентрации аполипопротеина В. Метод с использованием иммунотурбидиметрического теста «Apolipoprotein В FS». Принцип определения основан на выявлении концентрации Апо В по конечной точке путем фотометрического измерения реакции антиген–антитело между антителами к Апо В и присутствующим в образце Апо В. Длина волны составляла 340 нм, длина оптического пути 10 мм. Результаты выражали в г/л.

2.2.1.3 Характеристика белкового обмена

Определение концентрации общего белка. Метод с использованием набора «Total protein Dias» (Россия), основанного на фотометрическом тесте с использованием биуретовой реакции. В щелочной среде белок с ионами меди

образует комплекс сине-фиолетового цвета. Оптическая плотность прямо пропорциональна концентрации белка. Определение белка проводилась по монореагентной схеме. Определение концентрации общего белка выполняли на автоматическом биохимическом анализаторе при длине волны 540 нм, длина оптического пути составила 10 мм. Результаты выражали в г/л.

2.2.1.4 Оценка изменений ферментативных реакций

Определение активности аланинаминотрансферазы (АЛТ). Для определения АЛТ использовался набор «ALAT (GPT) DiaS». Данный метод является оптимизированным УФ тестом, рекомендованным Международной Федерацией Клинической Химии и Лабораторной Медицины (IFCC). Фермент АЛТ катализирует реакцию между L-аланином и 2-оксоглутаратом, в результате которой они превращаются в L-глутамат и соль пировиноградной кислоты. Определение основано на измерении оптической плотности гидразонов 2-оксоглутаровой и пировиноградной кислот в щелочной среде. Гидразон пировиноградной кислоты обладает более высокой оптической плотностью. Результаты выражали в Ед/л.

Определение активности аспартатаминотрансферазы (АСТ)

Количественное измерение АСТ выполнялось с использованием набора «ASAT (GOT) DiaS», так же рекомендованного IFCC. Аспартатаминотрансфераза катализирует реакцию между L-аспартатом и 2-оксоглутаратом, в результате которой они превращаются в L-глутамат и оксалоацетат. Определение основано на измерении оптической плотности гидразонов 2-оксоглутаровой и пировиноградной кислоты в щелочной среде. Гидразон пировиноградной кислоты, возникающей при самопроизвольном декарбоксилировании оксалоацетата, обладает более высокой оптической плотностью. Определение концентрации АСТ выполняли на автоматическом биохимическом анализаторе при длине волны 334-365 нм, длине оптического пути 10 мм. Показатели выражали в Ед/л.

2.2.2 Количественные и качественные характеристики мукозной микробиоты желудка, тонкого, толстого кишечника и кала

Количественный и качественный состав пристеночного микробиоценоза желудка, тонкого и толстого кишечника крыс определялся по методике Кафарской Л.И. и Коршунова В.М. [5]. Биоптаты слизистой оболочки желудка, тонкого, толстого кишечника освобождались от внутреннего содержимого, после чего производилось взвешивание в стерильных условиях. Далее материал помещали в стерильный фосфатно-буферный раствор с pH 7,0 в соотношении 1:10 и выдерживали 2 часа. Готовились разведения 10^{-1} – 10^{-9} , после чего по 1,0 мл каждого разведения взвеси засеивали на соответствующие питательные среды (бульон для бифидобактерий, бульон MRS для лактобактерий, хромогенный агар для грибов *Candida*, агар для клостридий, желточно-солевой агар для стафилококка) и инкубировали при температуре 37 °C в аэробных и анаэробных условиях.

Для определения количественного и качественного состава кала применялась методика по выделению микроорганизмов [12], в которой из взвеси фекалий лабораторных животных готовились десятикратные серийные разведения от 10^{-1} до 10^{-9} , после чего по 1,0 мл из каждого разведения засеивали на селективные питательные среды.

Для выделения бифидобактерий использовался бульон для Бифидобактерий (*Bifidobacterium* broth) М-1395 (Himedia, Индия). Бактериологическое исследование с применением Бифидум-среды проводили в соответствии с методическими рекомендациями Минздрава СССР «Применение бактериальных биологических препаратов в практике лечения больных кишечными инфекциями. Диагностика и лечение дисбактериоза кишечника» (Москва, 1986). Бульон рекомендован как среда для культивирования бифидобактерий. Среду разливали в стеклянные пробирки высоким столбиком по 10 мл с дальнейшей стерилизацией в течение 30 мин. Перед посевом пробирки со средой нагревали на водяной бане при температуре

80°C в течение 20 мин, после чего охлаждали до 37°C. При посеве использовали разведения 10^{-5} - 10^{-11} , дальнейший рост культуры в течение 48-72 часов также происходил при температуре 37°C. Бифидобактерии давали рост на питательной среде в виде гвоздикообразных характерных колоний.

Для культивирования лактобактерий использовался бульон MRS для лактобактерий M369 (Himedia, Индия). Посев производили из разведений 10^{-5} и 10^{-7} . Чашки Петри помещались в анаэробные условия с использованием CO_2 инкубатора и инкубировались при температуре 37 °C в течение 48 ч.

Для селективного выделения *Clostridium spp.* из смешанных культур использовался агар для клостридий M 497 (Himedia, Индия). Посев производили из разведений 10^{-3} , 10^{-5} и 10^{-7} , инкубировали при 37 °C в течение 24 часов. В глубине питательной среды образуются колонии в виде комочков ваты.

Для выделения стафилококков использовали в качестве питательной среды желточно-солевой агар M-739 (Himedia, Индия). Посев производили из разведений 10^{-3} и 10^{-5} . Чашки Петри инкубировали в течение 48 часов в термостате при температуре 37 °C. На данной среде стафилококк образует колонии золотистого цвета, округлой формы, с ровными краями.

Дрожжеподобные грибы выделяли на хромогенном агаре для грибов *Candida* (Chromocandida agar) M-1297 (Himedia, Индия). Хромогенный агар для грибов рода *Candida* является селективной и дифференциальной средой, способствующей быстрому выделению грибов из смешанных культур. Посев производили из 10^{-3} и 10^{-5} разведений. Чашки Петри инкубировали при 28°C в течение 48 ч. Грибы рода *Candida* определяли по наличию матовых белых колоний.

Количество микроорганизмов каждого вида в грамме исследуемого материала подсчитывали по формуле:

$K = E \cdot 10^{n+1}$, где K – количество микроорганизмов, E – количество выросших колоний в данном разведении, N_0 – степень разведения.

Данные, полученные при проведении количественного микробиологического анализа были представлены в lg числа колониеобразующих единиц на 1 г исследуемого материала (КОЕ/г).

2.2.3 Иммуноферментные методы исследования

2.2.3.1 Определение уровня грелина в сыворотке крови

Содержание грелина в сыворотке крови определяли методом конкурентного иммуноферментного анализа с использованием набора ELISA Kit for Ghrelin (GHRL) для крыс согласно протоколу фирмы производителя реагентов «Cloud-Clone Corp.» (КНР). Микропланшет сорбирован моноклональными антителами, специфичными к грелину. Методика основана на конкурентной реакции между грелином, меченным биотином, немеченым грелином (в образцах) и сорбированными антителами, специфичными к грелину. В ходе проведения иммуноферментного исследования применялся термошейкер (Biosan Thermo shaker PST-60 HL plus, Латвия), автоматический промыватель планшетоов «Аквамарин», восьми канальный микропланшетный ридер (Tecan infinite f50, Австрия) с шириной полосы пропускания 10 нм и оптической плотностью 0-3 O.D. при 450 ± 10 нм. Расчет проводился с помощью программного обеспечения Curve Expert. Результаты выражали в пг/мл.

2.2.3.2 Определение уровня лептина в сыворотке крови

Уровень лептина в сыворотке крови определяли сэндвич-методом иммуноферментного анализа с использованием набора ELISA Kit for Leptin (LEP) для крыс в соответствии с протоколом фирмы производителя реагентов «Cloud-Clone Corp.» (КНР). Микропланшет сорбирован конъюгированными антителами с биотином, специфичными к лептину. Оптическую плотность содержимого ячеек планшета регистрировали на восьмиканальном микропланшетном ридере (Tecan infinite f50, Австрия) при длине волны $450 \pm$

10 нм. Расчет проводился с помощью программного обеспечения Curve Expert. Результаты выражали в нг/мл.

2.2.3.3 Изучение содержания рецепторов к грелину в тканях

Перед проведением исследования осуществлялась пробоподготовка, в протокол которой входили забор ткани (жировая ткань, головной мозг), тщательное промывание в ледяном буфере (0,01 моль/л, pH 7,0-7,2) для удаления крови. Последующее взвешивание образцов ткани проводилось с использованием аналитических весов VIBRA HTR-220CE (Shinco Denshi Co. Ltd., Япония). Гомогенизация выполнялась в стеклянном гомогенизаторе на льду, после чего полученные образцы обрабатывали в ультразвуковом дезинтеграторе Bioruptor UCD-200 (Diagenode, США) с циклом озвучивания в режиме «включено» 30 сек., в режиме «выключено» 30 сек. в течение 5 мин. Далее гомогенаты подвергались центрифугированию в течение 5 минут с ускорением 10000 об/мин при температуре 5⁰ С на центрифуге Hettich® MIKRO 200/200R (Германия), после чего супернатант хранился при температуре ниже 20⁰ С до момента постановки ИФА.

Количественную оценку содержания рецепторов в тканях выполняли сэндвич-методом иммуноферментного анализа с использованием набора «SEC516Ra» для определения рецептора стимулятора секреции гормона роста (GHSR)» для крыс («Cloud-Clone Corp.», КНР). Микропланшет в наборе сорбирован антителами, специфичными к рецепторам грелина. В лунки планшета добавлялись образцы, затем конъюгированный авидин с пероксидазой, проводилась инкубация. После добавления тетраметилбензидин менялся цвет в лунках, содержащих рецепторы к грелину. Ферментативная реакция прекращалась добавлением раствора серной кислоты. Оптическая плотность измерялась фотометрическим методом.

Стандарт и растворитель для стандарта выдерживали 10 минут при комнатной температуре, концентрация стандарта составляла 10 нг/мл. Затем в 7 пробирках, содержащих 0,5 мл (500 мкл) растворителя для стандарта,

приготовились разведения в следующих концентрациях: 10; 5; 2.5; 1.25; 0.625; 0.312; 0.156 нг/мл и последняя пробирка с растворителем для стандарта - 0 нг/мл.

Детектирующий реагент А и детектирующий реагент В разводили до рабочих концентраций при помощи растворителя А и растворителя В (1:100). Промывающий раствор 20 мл смешивали с 580 мл дистиллированной воды для дальнейшего использования в работе с планшетом.

Супернатанты, приготовленные из расчета 1:2,5, разводились дополнительно: ткани головного мозга - 1:5, жировая ткань - 1:10.

В восемь лунок планшета добавлялось по 100 мкл стандарта в полученных нами ранее концентрациях, в оставшиеся лунки - образцы. Заклеенный пленкой планшет инкубировался в течение 1 часа при температуре 37 °С. Затем жидкость из каждой лунки удалялась и добавлялось по 100 мкл доведенного до рабочей концентрации детектирующий реагент А. Планшет инкубировали в течение еще 1 часа при температуре 37 °С. После чего жидкость из лунок удалялась, лунки промывались 350 мл промывающего раствора при помощи автоматического промывателя планшетов «Аквамарин». Оставшаяся жидкость из всех лунок удалялась встряхиванием на фильтровальную бумагу, процедура повторялась 3 раза. Далее добавлялось по 100 мкл рабочего раствора детектирующего реагента В в каждую лунку, планшет инкубировался 30 минут при температуре 37 °С с последующим промыванием лунок 350 мкл промывающего раствора с пятикратным повторением. По окончании промывания и встряхивания добавлялось 90 мкл ТМБ в каждую лунку, с дальнейшим инкубированием в течение 10-20 минут при температуре 37 °С. После добавления стоп-реагента в каждую лунку планшет незамедлительно помещался в 8 - канальный микропланшетный ридер (Tecan infinite f50, Австрия) с шириной полосы пропускания 10 нм и оптической плотностью 0-3 O.D. при 450 ± 10 нм.

Минимальная определяемая концентрация составляла 3.2 нг/мл, которая определялась в диапазоне двух стандартных отклонений от медианы

оптической плотности величины нулевого стандарта (бланка) при 20 измерениях. Затем вычислялась соответствующая концентрация.

2.2.3.4 Определение рецепторов к лептину в тканях

Количественное определение рецепторов к лептину в жировой ткани и гомогенатах головного мозга проводили сэндвич-методом иммуноферментного анализа с использованием набора «SEA083Ra для определения лептинового рецептора (LEPR)» для крыс. Микропланшет в наборе сорбирован антителами специфичными к лептиновым рецепторам. В лунки планшета добавлялись образцы, затем конъюгированный авидин с пероксидазой, проводилась инкубация. После добавления тетраметилбензидин менялся цвет в лунках, в которых содержались рецепторы к лептину. Ферментативная реакция прекращалась добавлением раствора серной кислоты. Оптическая плотность измерялась фотометрическим методом.

Стандарт и растворитель для стандарта выдерживали 10 минут при комнатной температуре, концентрация стандарта составляла 4,0 нг/мл. Исходный стандарт разводили до концентрации 2,0 нг/мл. Затем в 7 пробирках, содержащих 0,5 мл (500 мкл) растворителя для стандарта, готовили разведения в следующих концентрациях: 2,0; 1,0; 500; 250; 125; 62,5; 31,2 нг/мл и последняя пробирка с растворителем для стандарта - 0 нг/мл. Детектирующий реагент А и детектирующий реагент В разводили до рабочих концентраций при помощи растворителя А и растворителя В (1:100). Промывающий раствор 20 мл смешивали с 580 мл дистиллированной воды для дальнейшего использования в работе с планшетом.

Супернатанты, приготовленные из расчета 1:2,5, разводились дополнительно: ткани головного мозга - 1:5, жировая ткань - 1:10.

В 8 лунок планшета добавляли по 100 мкл стандарта в полученных ранее концентрациях, в оставшиеся лунки – образцы. Заклеенный пленкой планшет инкубировался в течение 1 часа при температуре 37 °С. Далее жидкость из каждой лунки удалялась и добавляли по 100 мкл доведенного до рабочей

концентрации детектирующий реагент А в каждую лунку с последующей инкубацией планшета в течение еще 1 часа при температуре 37 °С. Затем жидкость из лунок удалялась, лунки промывались 350 мкл промывающего раствора при помощи автоматического промывателя планшетов «Аквамарин». Оставшаяся жидкость из всех лунок удалялась встряхиванием на фильтровальную бумагу, процедура повторялась 3 раза. Далее добавлялось по 100 мкл рабочего раствора детектирующего реагента В в каждую лунку, планшет инкубировался 30 минут при температуре 37 °С с последующим промыванием лунок 350 мкл промывающего раствора с пятикратным повторением. По окончании промывания и встряхивания добавляли 90 мкл ТМБ в каждую лунку с дальнейшей инкубацией в течение 10-20 минут при температуре 37 °С. После добавления стоп-реагента в каждую лунку планшет незамедлительно помещали в 8 - канальный микропланшетный ридер (Tecan infinite f50, Австрия) с шириной полосы пропускания 10 нм и оптической плотностью 0-3 O.D. при 450 ± 10 нм. Минимальная определяемая концентрация составляла 11,9 нг/мл.

2.2.4 Методы статистической обработки результатов

Статистическую обработку полученного материала проводили с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 6.0. Рассчитывались такие показатели описательной статистики как стандартные отклонения и средние значения, а также медиана (Me) и межквартильные интервалы [25%; 75%]. Достоверность межгрупповых различий средних величин оценивали, используя U-критерий Манна-Уитни. Критической величиной уровня значимости считали 0,05. Для выявления связи признаков использовали корреляционный анализ по Пирсону. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Глава 3 Результаты собственных исследований

3.1 Исследование биохимических параметров сыворотки крови и состояния пристеночной микробиоты желудочно-кишечного тракта при различных типах питания и последующей коррекции выявленных нарушений синбиотиком

3.1.1 Влияние высокожировой, высокоуглеводной и высокобелковой диет на фертильную способность самок и массу тела их потомства

Неблагоприятные метаболические эффекты различных диет на антропометрические параметры достаточно хорошо установлены, однако влияние их на организм в период внутриутробного развития, а также в послеродовом периоде остается неясным [102]. Настоящее исследование направлено на оценку роли семейного типа питания с преимущественным потреблением жиров, углеводов и белков с периода новорожденности до полового созревания на массу тела. Масса тела каждой крысы препубертатного периода измерялась непосредственно перед забоем и выражалась в граммах.

На рисунке 2 изображены параметры массы тела крыс, полученных в результате использования разных видов диет.

В сравнении с контрольной группой, находящейся на сбалансированном типе питания, преимущественное потребление углеводов и жиров привело к достоверному снижению массы тела лабораторных животных на 9,49% ($p \leq 0,001$) и 17,3% ($p \leq 0,001$) соответственно. В группе с высокобелковым типом питания масса тела лабораторных животных достоверно увеличилась на 76,7% ($p \leq 0,001$).

Коррекция различных типов несбалансированного питания синбиотиком не приводила к значимым изменениям массы тела, которая оставалась ниже показателей контрольной группы при высокоуглеводном и высокожировом типах питания и выше - при высокобелковом.

Следовательно, коррекционная методика, применяемая в отношении потомства с качественными нарушениями рациона питания, практически не влияла на изменение массы тела крысят.

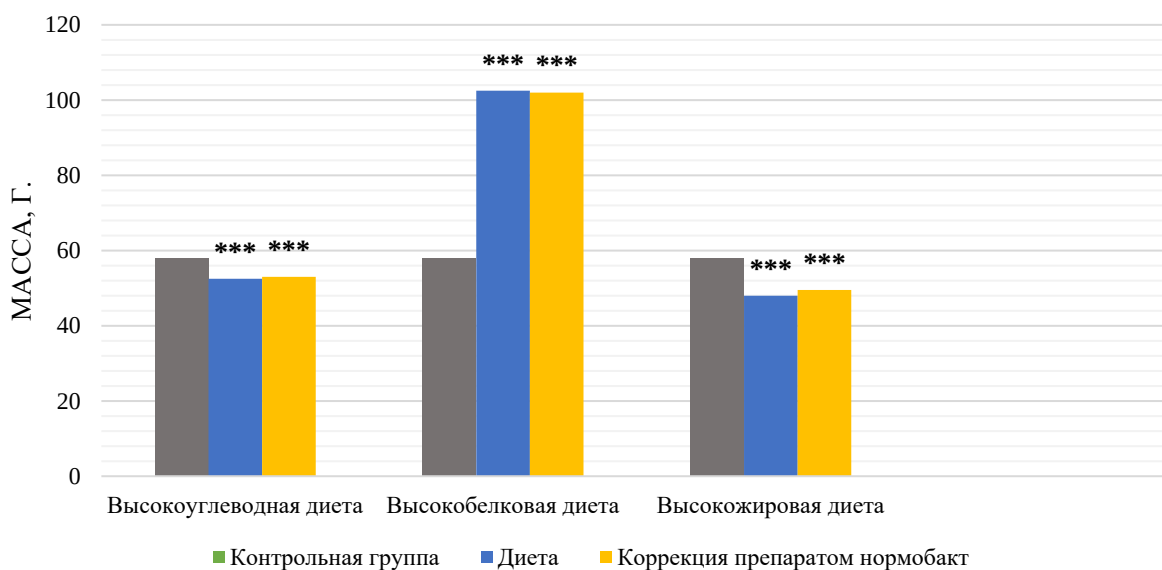


Рисунок 2 - Показатели массы тела крыс с различным типом питания и последующей коррекцией рациона синбиотиком.

Примечание: * статистическая значимость различий по показателям, в сравнении с группой контроля (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$); ^ статистическая значимость различий в группах с диетами и коррекцией синбиотиком (^ $p \leq 0,05$; ^^ $\leq 0,01$).

Необходимо отметить, что количество беременностей половозрелой крысы, число крысят, появившихся на свет из одного помета, а также физические параметры потомства менялись в зависимости от типа питания.

В контрольной среднее количество беременностей у крыс фертильного возраста группе составило 3-4 раза в течение шести месяцев, у крыс с высокобелковым типом питания - не более 3-х, высокоуглеводным - не более 2-х, в то время как при высокожировом типе питания оно достигало до 5-6 беременностей за полгода.

Количество крысят в одном помете оказалось различным в зависимости от типа питания. В контрольной группе среднее количество особей не превышало 9 крысят, в группе с преимущественным потреблением белков и углеводов - не более 5-6 особей в одном помете, однако при высокожировом типе питания количество крысят достигало 10-11.

Нами также показано, что патологически избыточное потребление жиров привело к дефектам развития потомства, поскольку 5% крысят рождались с физическими недостатками, выжившие особи отличались значительно сниженной массой тела и задержкой развития в сравнении с другими группами, более того, они не доживали до 4-х недельного возраста. В группе с преобладанием жирового компонента в питании наблюдался каннибализм, внешний вид крыс менялся в худшую сторону, отмечался редкий рост, тусклость, изменения цвета с преобладанием желтого оттенка шерстяного покрова, возникали периоды отказа от пищи, которые вели к смерти экспериментального животного.

При высокобелковом и высокоуглеводном типах питания не отмечалось задержек развития, отставания в росте, физических недостатков. Также в данных группах отсутствовал каннибализм. В группе с преобладанием белкового компонента в питании у потомства наблюдался быстрый темп роста и хорошая физическая активность.

3.1.2 Изменения биохимических показателей крови и микробиоценоза желудочно-кишечного тракта крыс при преимущественно жировом типе питания

Рацион с избыточным количеством жира животного происхождения в питании приводил к существенным изменениям биохимических показателей сыворотки крови в сравнении с группой контроля (Таблица 5). Так, общий белок увеличился на 9,04% ($p \leq 0,05$), а уровень глюкозы на - 43% ($p \leq 0,001$).

Динамика изменений показателей печеночных ферментов, характеризующих функциональное состояние клеток печени, показала, что в группе с высокожировым типом питания значения АСТ не имели значимых отличий от контроля, активность АЛТ превысила показатели контрольной группы на 10,5% ($p \leq 0,01$), однако оставалась в пределах референсных значений.

Таблица 5 – Биохимические показатели сыворотки крови крыс с преимущественно жировым типом питания и последующей коррекцией синбиотиком, Ме [25; 75]

Показатель	Контрольная группа	Группа с высокожировым типом питания	Группа дополнительно получавшая синбиотик	P ₁	P ₂	P ₃
1	2	3	4	5	6	7
Общий белок, г/л	63,05 [61,80; 63,60]	68,75 [63,40; 70,40]	63,10 [62,90; 63,80]	<u>0,0376</u>	<u>0,0412</u>	0,7623
Глюкоза, ммоль/л	6,99 [6,70; 7,10]	10,05 [8,80; 10,70]	6,90 [6,80; 7,20]	<u>0,0003</u>	<u>0,0004</u>	0,7623
АСТ, Ед/л	172,00 [166,0; 189,0]	155,50 [112,0; 250,0]	154,50 [127,0; 180,0]	0,5453	0,6501	0,1124
АЛТ, Ед/л	47,50 [45,0; 50,0]	52,50 [50,0; 56,0]	50,50 [49,00-54,00]	<u>0,0065</u>	0,2413	0,1212
Холестерин, ммоль/л	1,75 [1,60-2,10]	2,40 [2,30-2,50]	2,39 [2,30-2,50]	<u>0,0002</u>	0,8798	<u>0,0002</u>
Триглицериды, ммоль/л	0,955 [0,920-0,970]	1,175 [1,050-1,250]	1,025 [1,000-1,100]	<u>0,0001</u>	<u>0,0450</u>	<u>0,0001</u>
Апо-А1-протеин	0,045 [0,04-0,05]	0,03 [0,01-0,03]	0,05 [0,04-0,05]	<u>0,0376</u>	<u>0,0211</u>	0,6231
Апо-В1-протеин	0,02 [0,02-0,02]	0,015 [0,01-0,03]	0,02 [0,01-0,02]	0,6501	0,9097	0,7054
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,01 [1,01-1,040]	0,880 [0,760-0,930]	0,97 [0,82 – 0,99]	<u>0,0001</u>	<u>0,0451</u>	<u>0,0002</u>
ХС ЛПНП, ммоль/л	0,665 [0,66-0,67]	0,73 [0,69-0,98]	0,65 [0,60-0,67]	<u>0,0004</u>	<u>0,0013</u>	0,7054
Коэфф. атерогенности	0,70 [0,70-0,80]	0,80 [0,60-0,80]	0,70 [0,70-0,80]	0,6501	0,344	0,4056
Примечание: *P ₁ – статистическая значимость различий в группах контроль – высокожировая диета; **P ₂ – статистическая значимость различий по показателям в группах высокожировая диета – коррекция синбиотиком; ***P ₃ – статистическая значимость различий по показателям в группах контроль – коррекция синбиотиком						

Наиболее существенные нарушения нами установлены при анализе липидного профиля. Так, значения общего холестерина и триглицеридов

превысили показатели контрольной группы на 37,1% ($p \leq 0,001$) и 12% ($p \leq 0,001$) соответственно, в то время как ХС ЛПВП снизился на 12,9% ($p \leq 0,01$).

Уровень Апо-А1-протеина, белка, входящего в состав липопротеидов высокой плотности, снизился на треть (33,4%, $p \leq 0,05$), что свидетельствует о замедлении элиминации холестерина из сосудов и увеличении риска развития атеросклеротических поражений. В результате несбалансированного питания значения ХС ЛПНП превысили показатели контроля на 10,5% ($p \leq 0,001$).

Нами изучалось содержание аполипопротеина В-1 (Апо-В1), являющегося формой аполипопротеина, синтезирующегося в печени и использующегося для синтеза холестерина липопротеинов очень низкой плотности (ХС ЛПОНП), которая в последующем преобразуется в богатые холестерином липопротеины низкой плотности (ХС ЛПНП), уровень Апо-В1 достоверно не изменился. Коэффициент атерогенности превысил норму на 14,28%, но отличия оказались статистически не значимыми.

Таким образом, диета с высоким содержанием жиров животного происхождения способствовала значительным изменениям липидного профиля крови и существенному повышению уровня глюкозы.

Последующая коррекция выявленных нарушений синбиотиком привела к снижению уровня общего белка и глюкозы крови, значения которых приблизились к показателям группы контроля (Таблица 1). Активность АСТ практически не изменилась, составляя 89,8% от контрольной группы, в то время как показатели активности АЛТ приближались к значениям группы контроля.

Коррекция питания синбиотиком способствовала следующим изменениям со стороны липидного профиля: повысился уровень Апо-А1-протеина на 66,6% ($p \leq 0,05$), уровень общего холестерина не изменился, показатели Апо-В1 протеина, ХС ЛПНП и триглицеридов ($p \leq 0,001$) достигли значений контрольной группы, также отмечалась тенденция к росту уровня ХС ЛПВП. Таким образом, анализ биохимических показателей сыворотки крови крыс на фоне диеты с высоким содержанием жиров животного происхождения показал

существенное изменение биохимических показателей крови по сравнению со значениями группы контроля, в частности, статистически значимо повышались уровни триглицеридов и ХС ЛПНП при снижении значений ХС ЛПВП. После использования синбиотика в питание отмечалась тенденция, ведущая к нормализации основных показателей липидного профиля: ЛПВП, ЛПНП, Апо-А1, Апо-В1 протеинов, коэффициента атерогенности.

При бактериологическом исследовании желудочно-кишечного тракта экспериментальных животных на фоне избыточного жирового питания выявлялись изменения со стороны количественного и качественного состава микробиоценоза.

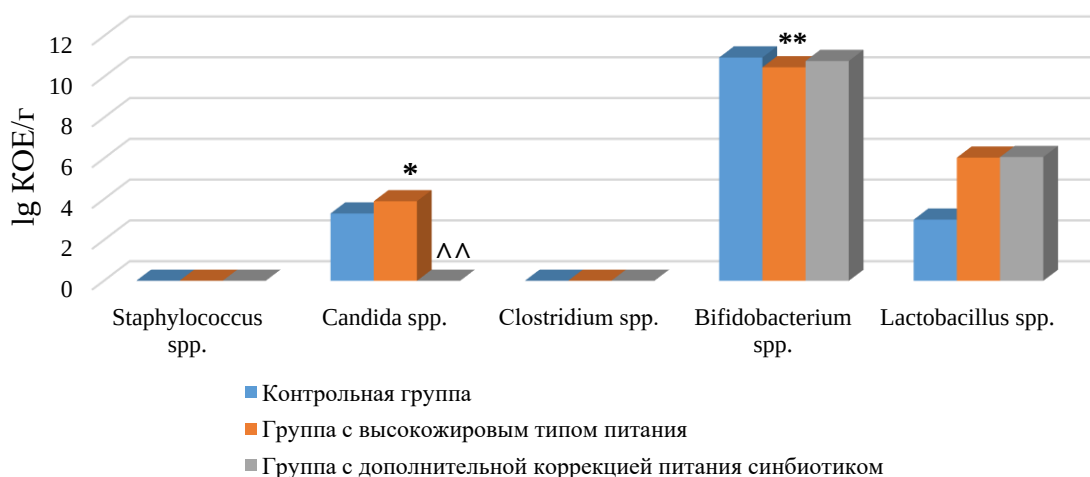


Рисунок 3 – Состояние микробиоты желудка крыс препубертатного возраста при высокожировом типе питания и дополнительной коррекции питания синбиотиком.

Примечание: *статистическая значимость различий по показателям, в сравнении с группой контроля (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$); ^ статистическая значимость различий в группах с высокожировым типом питания и коррекцией питания синбиотиком (^ $p \leq 0,05$; ^^ $p \leq 0,01$; ^^ ^ $p \leq 0,001$).

Так, в желудке уровень *Candida spp.* достоверно превысил значения контрольной группы в 8 раз ($p = 0,0233$), в то время как рост *Bifidobacterium spp.* снизился в 22,4 раза ($p = 0,0376$) (Рисунок 3).

На фоне приема синбиотика при избыточном содержании жира в дневном рационе грибы рода *Candida spp.* не определялись ($p = 0,0024$) в сравнении с группой без коррекции питания синбиотиком, наметилась тенденция к

повышению уровня *Bifidobacterium spp.*, показатели роста *Lactobacillus spp.* существенно не изменились.

На фоне высокожирового питания изучение микробиоценоза тонкого кишечника показало достоверное снижение показателя роста *Bifidobacterium spp.* в 3,9 раз ($p = 0,0283$), уровень *Lactobacillus spp.* снизился в 66,7 раз ($p = 0,0493$), в то время как рост условно-патогенной микробиоты (*Staphylococcus spp.* и *Candida spp.*) значимо не отличался в сравнении с контрольной группой. *Clostridium spp.* не выявлялись (Рисунок 4).

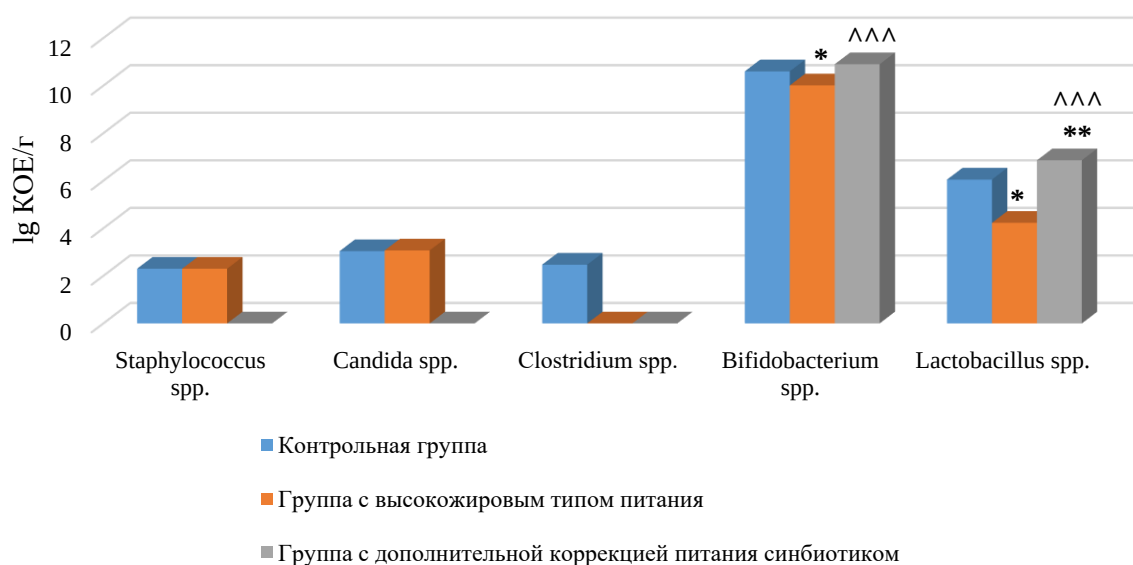


Рисунок 4 – Состояние микробиоты тонкого кишечника крыс препубертатного возраста при высокожировом типе питания и дополнительной коррекции питания синбиотиком.

Примечание: * статистическая значимость различий по показателям, в сравнении с группой контроля (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$); ^ статистическая значимость различий в группах с высокожировым типом питания и коррекцией питания синбиотиком (^ $p \leq 0,05$; ^^ $p \leq 0,01$; ^^^ $p \leq 0,001$).

Прием синбиотика способствовал значительному увеличению роста *Bifidobacterium spp.* в 7,8 раз ($p = 0,0019$) и *Lactobacillus spp.* в 371,2 раза ($p = 0,0001$) в сравнении с группой с высокожировым типом питания без коррекции питания синбиотиком. Условно-патогенная микробиота не выявлялась.

В микробиоте толстого кишечника на фоне избыточного потребления жиров нами обнаруживались грибы рода *Candida spp.* и условно-патогенные бактерии рода *Staphylococcus spp.*, которые также высевались в группе

контроля (Рисунок 5). Высокожировая диета способствовала снижению содержания *Bifidobacterium spp.* в два раза в сравнении с группой контроля ($p=0,0342$), в то время как количество *Lactobacillus spp.* снизилось более существенно - в 10,3 раза ($p=0,0140$).

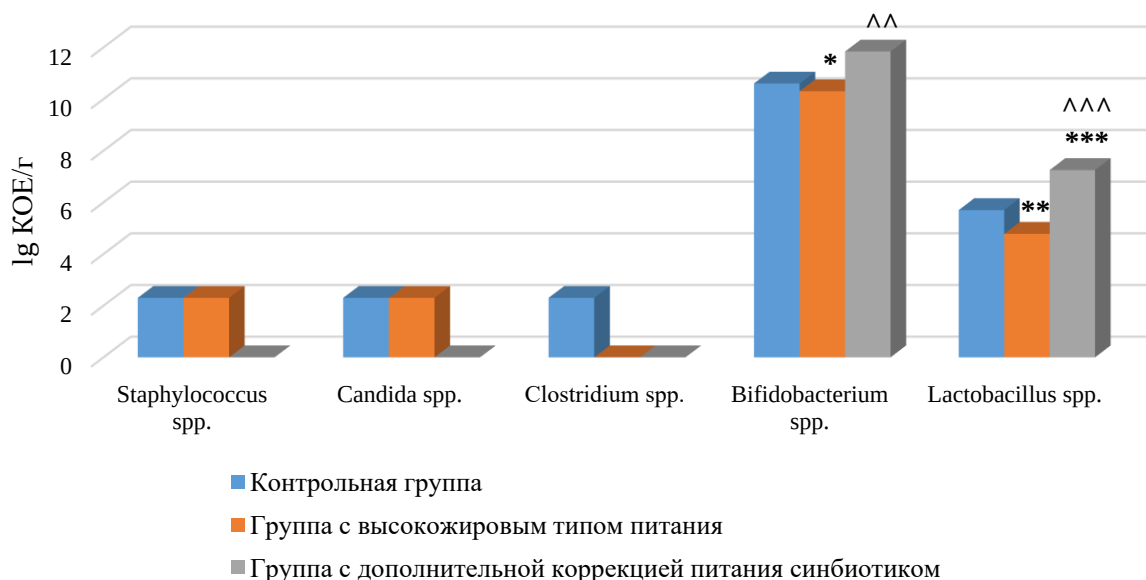


Рисунок 5 – Состояние микробиоценоза толстого кишечника крыс препубертатного возраста при высокожировом типе питания и дополнительной коррекции питания синбиотиком.

Примечание: * статистическая значимость различий по показателям, в сравнении с группой контроля (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$); ^ статистическая значимость различий в группах с высокожировым типом питания и коррекцией синбиотиком (^ $p \leq 0,05$; ^^ $p \leq 0,01$; ^^^ $p \leq 0,001$).

Применение коррекционной методики с использованием синбиотика способствовало подавлению роста условно-патогенной микробиоты (*Staphylococcus spp.*, *Clostridium spp.*, грибы рода *Candida spp.*), повышению содержания *Bifidobacterium spp.* в 3 раза ($p=0,0211$), уровня *Lactobacillus spp.* - в 300 раз ($p=0,0001$) в сравнении с группой с преимущественным потреблением жиров без коррекцией питания синбиотиком.

На фоне высокожировой диеты микробиота кала также содержала условно-патогенные бактерии рода *Staphylococcus spp.* и *Clostridium spp.*, уровень которых превысил значения контрольной группы в 12,5 ($p=0,0412$) и

2,6 ($p=0,0337$) раза. Содержание *Bifidobacterium spp.* и *Lactobacillus spp.* достоверно снизилось в 2,5 ($p=0,0233$) и 34,5 ($p=0,0283$) раз соответственно.

Коррекция питания синбиотиком способствовала подавлению роста условно-патогенной микробиоты кала. Наблюдалось достоверное повышение уровня *Lactobacillus spp.* в 16,2 раза ($p=0,0005$) и незначительное изменение значений *Bifidobacterium spp.* (Рисунок 6).

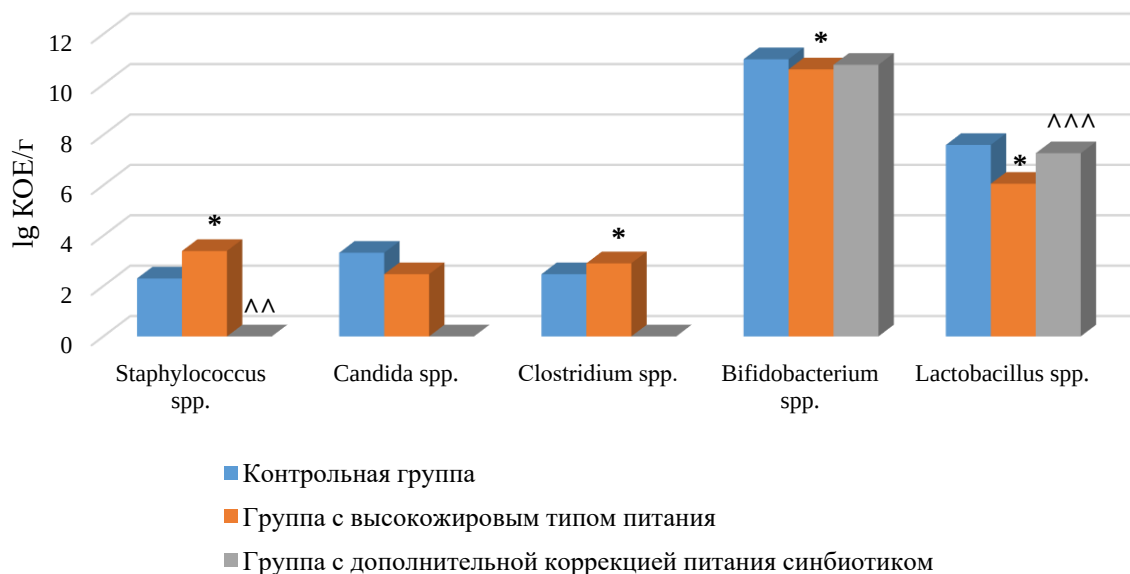


Рисунок 6 - Состояние микробиоты кала крыс препубертатного возраста при высокожировом типе питания и дополнительной коррекции питания синбиотиком.

Примечание: * статистическая значимость различий по показателям, в сравнении с группой контроля (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$); ^ статистическая значимость различий в группах с высокожировым типом питания и коррекцией питания синбиотиком (^ $p \leq 0,05$; ^^ $p \leq 0,01$; ^^ $p \leq 0,001$).

Таким образом, в результате проведенного анализа нами показано, что на фоне высокожирового типа питания у крыс препубертатного периода рост условно-патогенной микробиоты увеличивается в сравнении с группой контроля, а рост *Bifidobacterium spp.* и *Lactobacillus spp.* значительно подавляется. Коррекционная методика питания синбиотиком способствовала значительному увеличению роста *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.* и подавлению условно-патогенной микробиоты во всех отделах желудочно-кишечного тракта.

Так, значения общего белка снизились на 12,4% ($p \leq 0,01$) в сравнении с контрольной группой (Таблица 6). При диете с избытком углеводов наблюдалось достоверное повышение уровня глюкозы сыворотки на 3,7% ($p \leq 0,05$), а также наблюдалось повышение активности печеночного фермента АСТ на 13,9% ($p \leq 0,01$). Необходимо отметить, что в показателях липидного профиля значимых различий в сравнении с контролем нами не обнаружено, однако регистрировалась тенденция к росту уровня общего холестерина и Апо-А1-протеина.

После проведенной коррекции питания синбиотиком отмечалась некоторая тенденция к росту уровня общего белка, снизились показатели глюкозы на 11,73% ($p \leq 0,01$) в сравнении с контролем, приблизились к показателям контрольной группы значения активности АСТ ($p \leq 0,05$).

Представляют определенный интерес полученные нами данные о снижении уровня Апо-А1 на 40% ($p \leq 0,01$) и практическая нормализация содержания общего холестерина у крыс, находившихся на коррекции.

Несмотря на избыток углеводов в рационе лабораторных животных, при бактериологическом исследовании микробиоты желудка нами не обнаружен рост условно-патогенных бактерий (*Staphylococcus spp.*, *Clostridium spp.*) (Рисунок 7). На фоне высокоуглеводной диеты обсемененность грибами рода *Candida spp.* не изменялась и соответствовала уровню контроля. Содержание *Bifidobacterium spp.* достоверно снизилось в 892 раза ($p = 0,0001$) в сравнении с показателем контрольной группы, а *Lactobacillus spp.* вообще не высевались.

На фоне приема синбиотика изменился показатель роста *Bifidobacterium spp.* достоверно привысив значения группы с высокоуглеводным типом питания в 991 раз ($p = 0,000157$) приблизившись к значению контрольной группы. Уровень *Lactobacillus spp.* достиг значений контроля. Условно-патогенные бактерии, а так же грибы рода *Candida spp.* на фоне приема синбиотика не обнаруживались.

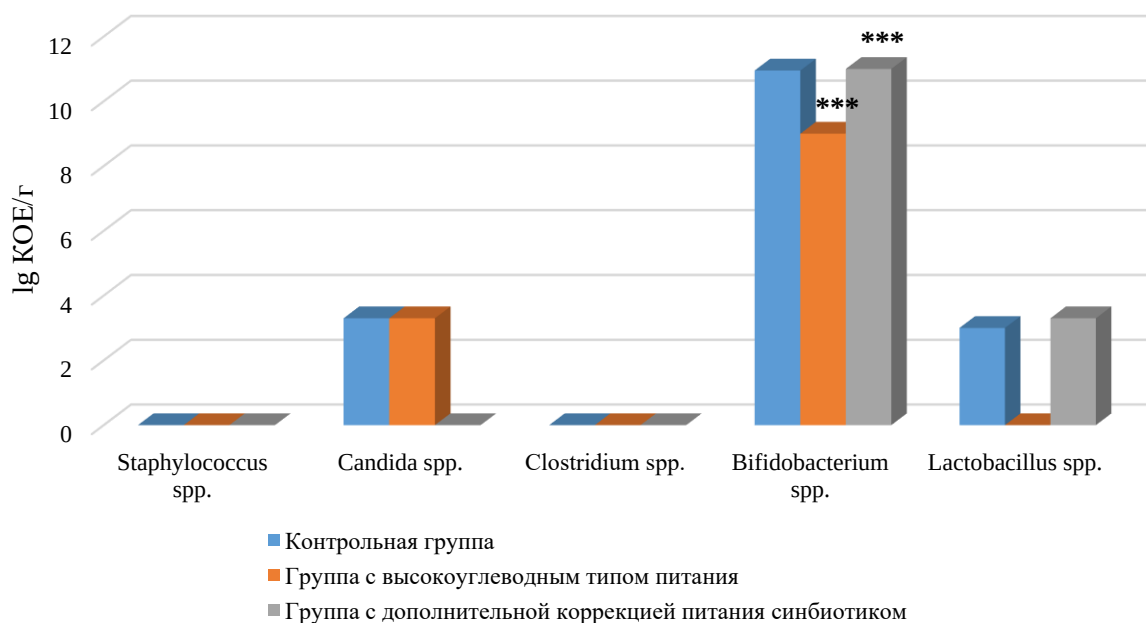


Рисунок 7 – Состояние микробиоценоза желудка крыс препубертатного возраста при высокоуглеводном типе питания и дополнительной коррекции питания синбиотиком.

Примечание: * статистическая значимость различий по показателям, в сравнении с группой контроля (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$); ^ статистическая значимость различий в группах с высокоуглеводным типом питания и коррекцией питания синбиотиком (^ $p \leq 0,05$; ^^ $p \leq 0,01$; ^^ $p \leq 0,001$).

Бактериологический анализ содержимого тонкого кишечника на фоне высокоуглеводной диеты показал отсутствие роста *Staphylococcus spp. spp.*, отмечалась тенденция к снижению *Clostridium spp.*, а уровень грибов рода *Candida* практически не отличался от значений контроля (Рисунок 8).

Наиболее существенные изменения отмечались в содержании *Lactobacillus spp.*, уровень которых достоверно снизился в сравнении с контрольной группой в 4500011 раз ($p = 0,0001$), так же была выявлена тенденция к снижению *Bifidobacterium spp.*

В ходе настоящего эксперимента после проведенной коррекции питания препаратом пре- и пробиотического назначения рост условно-патогенной микробиоты отсутствовал. Уровни *Bifidobacterium spp.* и *Lactobacillus spp.* возросли в 2,4 ($p = 0,0233$) и 1111 ($p = 0,0001$) раз соответственно в сравнении с группой находящейся на высокоуглеводном типе питания.

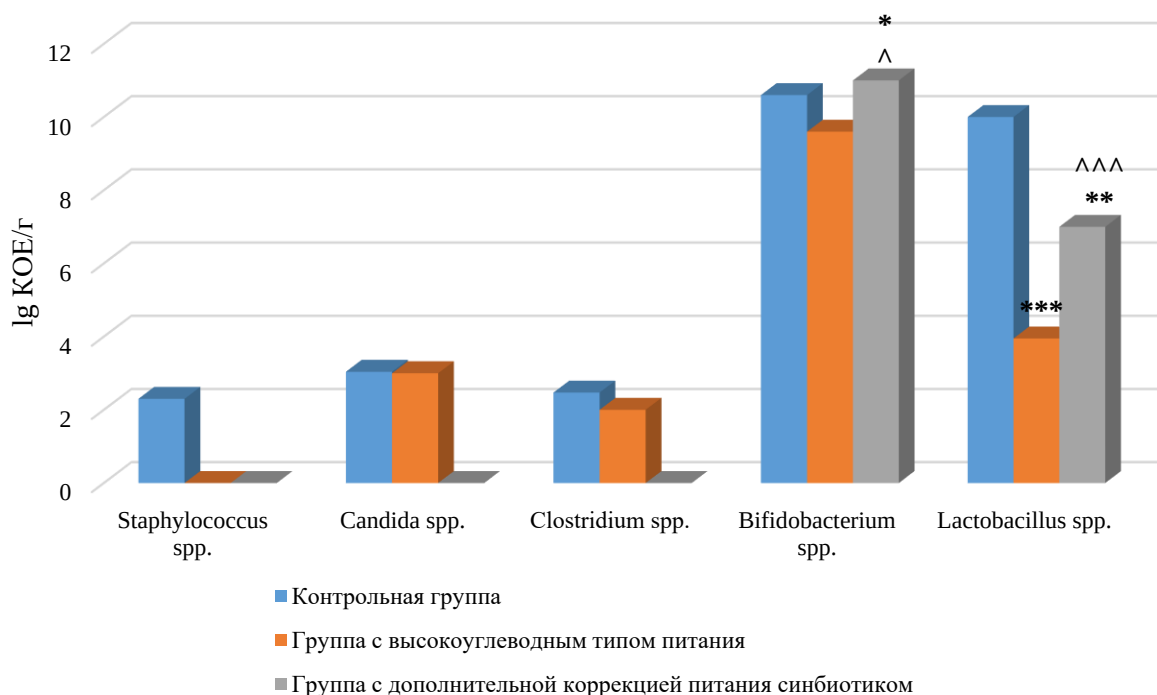


Рисунок 8 – Состояние микробиоценоза тонкого кишечника крыс препубертатного возраста при высокоуглеводном типе питания и дополнительной коррекции питания синбиотиком.

Примечание; * статистическая значимость различий по показателям, в сравнении с группой контроля (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$); ^ статистическая значимость различий в группах с высокоуглеводным типом питания и коррекцией питания синбиотиком (^ $p \leq 0,05$; ^^ $p \leq 0,01$; ^^^ $p \leq 0,001$).

При исследовании микробиома толстого кишечника крыс находившихся на фоне диеты с преимущественным потреблением углеводов установлено достоверное снижение роста *Bifidobacterium spp.* в 3,8 раз ($p=0,0235$) в сравнении с группой контроля, отмечалась тенденция к снижению *Lactobacillus spp.* в 3,4 раза. (Рисунок 9). Что касается условно-патогенной микробиоты, регистрировались статистически значимые высокие показатели роста *Candida spp.* ($p=0,0233$), что в 4 раза превышало показатели группы находившейся на сбалансированном типе питания. После приема синбиотика грибы рода *Candida spp.*, *Staphylococcus spp.* и *Clostridium spp.* не определялись. Значимо возросло содержание *Bifidobacterium spp.* в 9,5 раз ($p=0,0006$) и *Lactobacillus spp.* в - 41,9 раз ($p=0,0002$) в сравнении с группой с преимущественным потреблением углеводов.

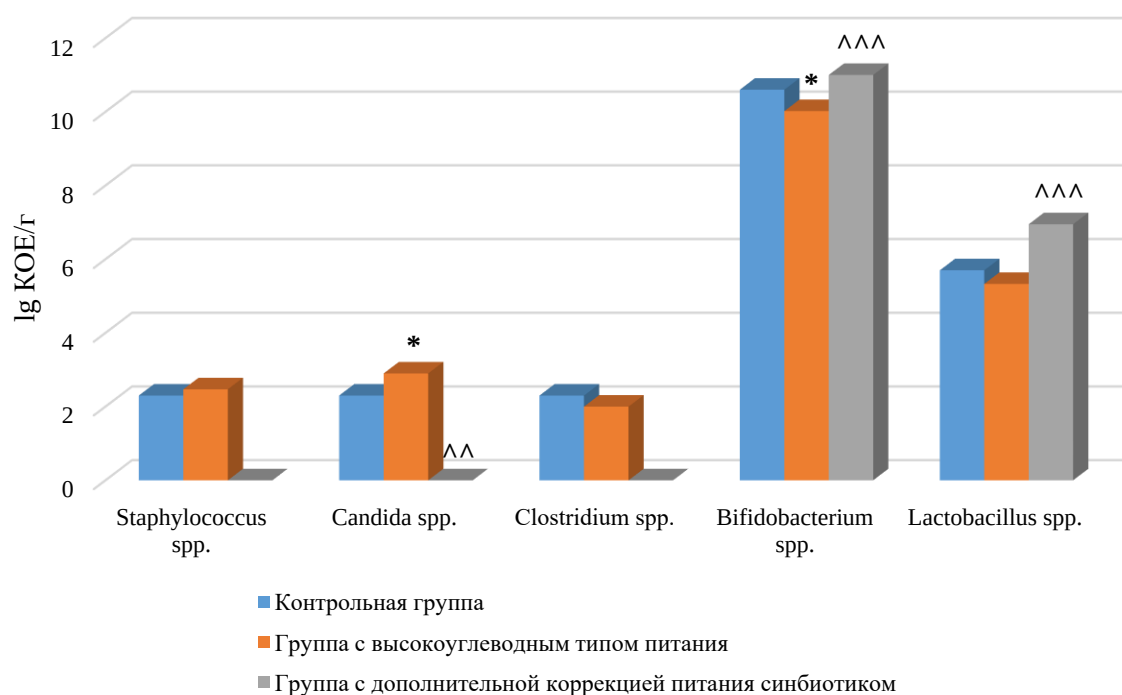


Рисунок 9 - Состояние микробиоценоза толстого кишечника крыс препубертатного возраста при высокоуглеводном типе питания и дополнительной коррекции синбиотиком.

Примечание: * статистическая значимость различий по показателям, в сравнении с группой контроля (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$); ^ статистическая значимость различий в группах с высокоуглеводным типом питания и коррекцией питания синбиотиком (^ $p \leq 0,05$; ^^ $p \leq 0,01$; ^^ $p \leq 0,001$).

Анализ микробиоты кала показал, что в группе животных с преимущественно углеводной диетой также выявлялся активный рост грибов рода *Candida spp.* ($p=0,0493$) (Рисунок 10). Содержание *Bifidobacterium spp.* оказалось достоверно ниже показателей контрольной группы в 2,4 ($p=0,0233$) раза и *Lactobacillus spp.* в 34,2 раза ($p=0,0376$).

Прием синбиотика в рационе питания способствовал подавлению роста условно-патогенной микробиоты, а содержание *Lactobacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.* достоверно повысилось в 77,1 и в 2,4 раза ($p=0,0001$, $p=0,0233$) соответственно.

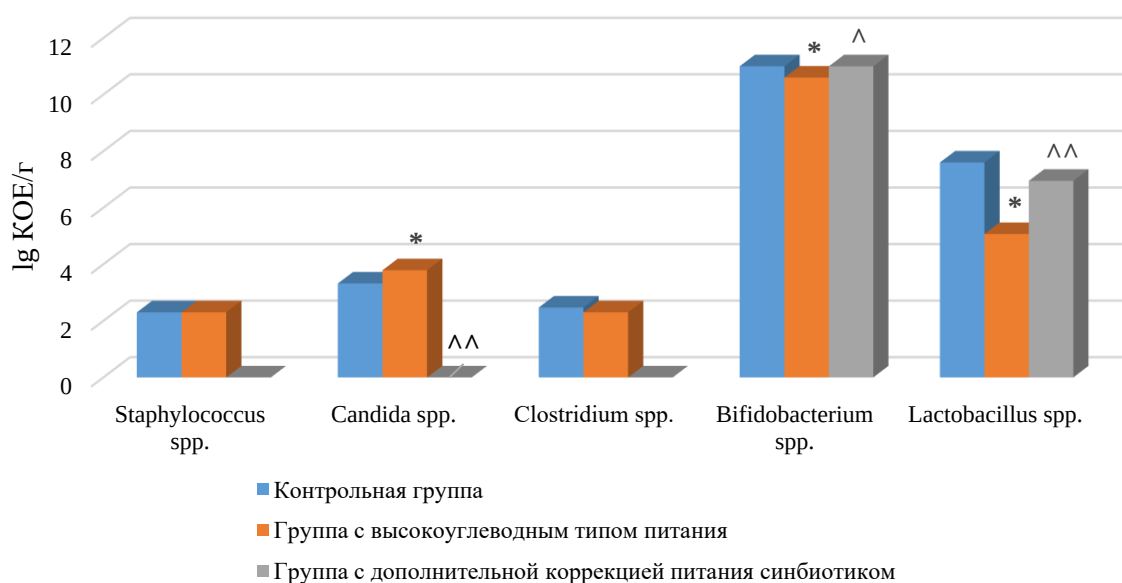


Рисунок 10 - Состояние микробиоты кала крыс при высокоуглеводном типе питания и дополнительной коррекции питания синбиотиком.

Примечание: * статистическая значимость различий по показателям, в сравнении с группой контроля (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$); ^ статистическая значимость различий в группах с высокоуглеводным типом питания и коррекцией питания синбиотиком (^ $p \leq 0,05$; ^^ $p \leq 0,01$; ^^^ $p \leq 0,001$).

Таким образом, высокоуглеводная диета способствовала некоторому росту условно-патогенной микробиоты в толстом кишечнике и кале, а также снижению численности *Bifidobacterium spp.* и *Lactobacillus spp.* на всем протяжении желудочно-кишечного тракта относительно значений группы находившейся на сбалансированном типе питания. Прием синбиотика способствовал значительным изменениям микробиоты, в частности отмечалось достоверное увеличение численности *Lactobacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.* в кале, тонком и толстом кишечнике, при одновременном подавлении роста условно-патогенных бактерий и грибов рода *Candida spp.*

3.1.4 Изменения биохимических показателей сыворотки крови и микробиоценоза желудочно-кишечного тракта крыс препубертатного возраста при преимущественно белковом типе питания

При анализе биохимических показателей сыворотки крови в группе лабораторных крыс, находившихся на преимущественно белковом типе питания, отмечались значительные изменения со стороны печеночных проб и липидного профиля сыворотки (Таблица 7).

Так, в сыворотке крови достоверно снижался уровень холестерина на 20% ($p \leq 0,05$), Апо-А1-протеина - на 33,4% ($p \leq 0,05$), повышались значения триглицеридов на 6,3% ($p \leq 0,01$) в сравнении с группой контроля.

Высокобелковая диета способствовала повышению активности цитолитических печеночных ферментов АЛТ на 16,8%; ($p \leq 0,01$) и АСТ - на 24,7% ($p \leq 0,001$). Общий белок также превысил значения контрольной группы на 40,6% ($p \leq 0,001$). Необходимо отметить тенденцию к снижению уровня глюкозы на 4,87%.

Последующая коррекция питания препаратом, в составе которого содержится как пре- так и пробиотик, приводила к незначительному снижению уровня общего белка на 2,83% ($p \leq 0,05$), глюкозы - на 7,52% ($p \leq 0,05$) и активности АСТ - на 9,8% ($p \leq 0,01$). Значения показателей липидного спектра сыворотки крови (триглицеридов, Апо-А1 и Апо-В1-протеина, ХС ЛПВП, ХС ЛПНП, коэффициента атерогенности) приближались к значениям контрольной группы.

Таким образом, в рамках настоящего исследования на фоне диеты с преимущественным потреблением белка наиболее существенные изменения наблюдались со стороны печеночных трансаминаз, что свидетельствует о гепатотоксичном эффекте данной диеты. Достоверно увеличилось содержание общего белка, а со стороны липидного профиля - снижались значения холестерина и Апо-А1протеина, превышали уровень контрольной группы показатели содержания триглицеридов. В результате коррекции питания

синбиотиком в биохимических параметрах сыворотки крови отмечалось достоверное снижение показателей общего белка, глюкозы и активности АСТ.

Таблица 7 – Биохимические показатели сыворотки крови крыс препубертатного возраста с преимущественно белковым типом питания и дополнительной коррекцией питания синбиотиком

Показатель	Контрольная группа	Группа с высокобелковым типом питания	Группа, получавшая дополнительно синбиотик	P1	P2	P3
1	2	3	4	5	6	7
Общий белок, г/л	63,05 [61,80-63,60]	88,65 [85,70-91,50]	86,15 [84,60-87,40]	<u>0,0001</u>	<u>0,0493</u>	<u>0,0001</u>
Глюкоза, ммоль/л	6,99 [6,70-7,10]	6,65 [6,30-7,00]	6,15 [5,50-6,40]	0,1619	<u>0,0172</u>	<u>0,0017</u>
АЛТ, Ед/л	47,50 [45,00-50,00]	55,50 [51,00-58,00]	54,00 [52,00-57,00]	<u>0,0045</u>	0,6231	<u>0,0045</u>
АСТ, Ед/л	172,00 [166,0-189,0]	214,50 [196,00-236,00]	193,50 [191,00-195,00]	<u>0,0005</u>	<u>0,0065</u>	<u>0,0031</u>
Холестерин, ммоль/л	1,75 [1,60-2,10]	1,40 [1,40-1,50]	1,50 [1,40-1,60]	<u>0,0155</u>	0,1987	<u>0,0493</u>
Триглицериды, ммоль/л	0,955 [0,920-0,970]	1,015 [0,980-1,080]	0,995 [0,980-1,000]	<u>0,0028</u>	0,3447	<u>0,0036</u>
Апо-А1-протеин, г/л	0,045 [0,04-0,05]	0,03 [0,03-0,04]	0,04 [0,03-0,05]	<u>0,0140</u>	0,1404	0,3257
Апо-В-протеин, г/л	0,02 [0,02-0,02]	0,02 [0,01-0,03]	0,02 [0,02-0,02]	0,8501	0,9397	0,8205
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,01 [0,98-1,04]	1,020 [1,01-1,04]	1,055 [1,05 – 1,07]	0,9097	0,0140	<u>0,0045</u>
ХС ЛПНП, ммоль/л	0,665 [0,66-0,67]	0,67 [0,66-0,68]	0,665 [0,66-0,68]	0,6231	0,3074	0,7623
Коэфф. атерогенности	0,70 [0,70-0,80]	0,70 [0,70-0,80]	0,70 [0,70-0,70]	0,7054	0,7054	0,4496
Примечание: *P ₁ - статистическая значимость различий по показателям в группах контроль-высокобелковая диета; **P ₂ – статистическая значимость различий по показателям в группах высокобелковая диета-коррекция питания синбиотиком; ***P ₃ – статистическая значимость различий по показателям в группах контроль-коррекция синбиотиком						

При исследовании микробиома желудка на фоне преимущественно белкового питания, достоверных изменений в показателях нами не выявлено -

отсутствовал рост условно-патогенной микробиоты. При коррекции питания синбиотиком уровень *Bifidobacterium spp.* не изменился, а содержание *Lactobacillus spp.* возросло в 21 раз в сравнении с группой на фоне диеты с преимущественным потреблением белков (Рисунок 11).

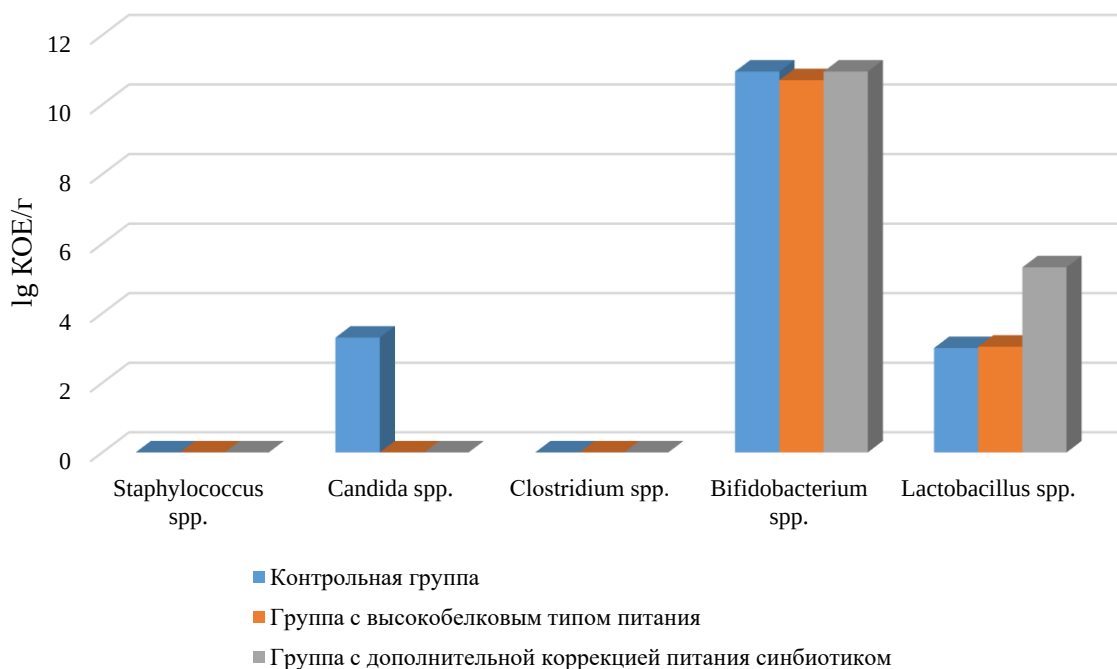


Рисунок 11 – Состояние микробиоты желудка крыс препубертатного возраста при высокобелковом типе питания и дополнительной коррекции питания синбиотиком.

Примечание: * статистическая значимость различий по показателям, в сравнении с группой контроля (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$); ^ статистическая значимость различий в группах с высокобелковым типом питания и коррекцией питания синбиотиком (^ $p \leq 0,05$; ^^ $p \leq 0,01$; ^^ $p \leq 0,001$).

При высокобелковом питании в микробиоте тонкого кишечника отсутствовал рост грибов рода *Candida spp.* и *Clostridium spp.* в сравнении с контрольной группой, а показатели роста *Staphylococcus spp.* не изменились (Рисунок 12). Однако отмечалось достоверное повышение роста *Bifidobacterium spp.* в 2,4 раза ($p = 0,023343$) в сравнении с группой контроля, без значительных изменений со стороны *Lactobacillus spp.*

На фоне приема синбиотика у крыс, находящихся на преимущественно белковом типе питания, условно-патогенная микробиота не выявлялась, а содержание *Lactobacillus spp.* достоверно превысили в 5,1 раз ($p = 0,0081$)

показатели группы животных, находящихся на высокобелковой диете и в 6,3 раза ($p = 0,0024$) - в сравнении с контролем. Следует отметить, что при высокобелковой диете коррекция питания не приводила к значительным изменениям уровня *Bifidobacterium spp.* в сравнении с группой крыс без коррекции диеты синбиотиком и оставался выше контрольного в 2,4 раза ($p = 0,0233$).

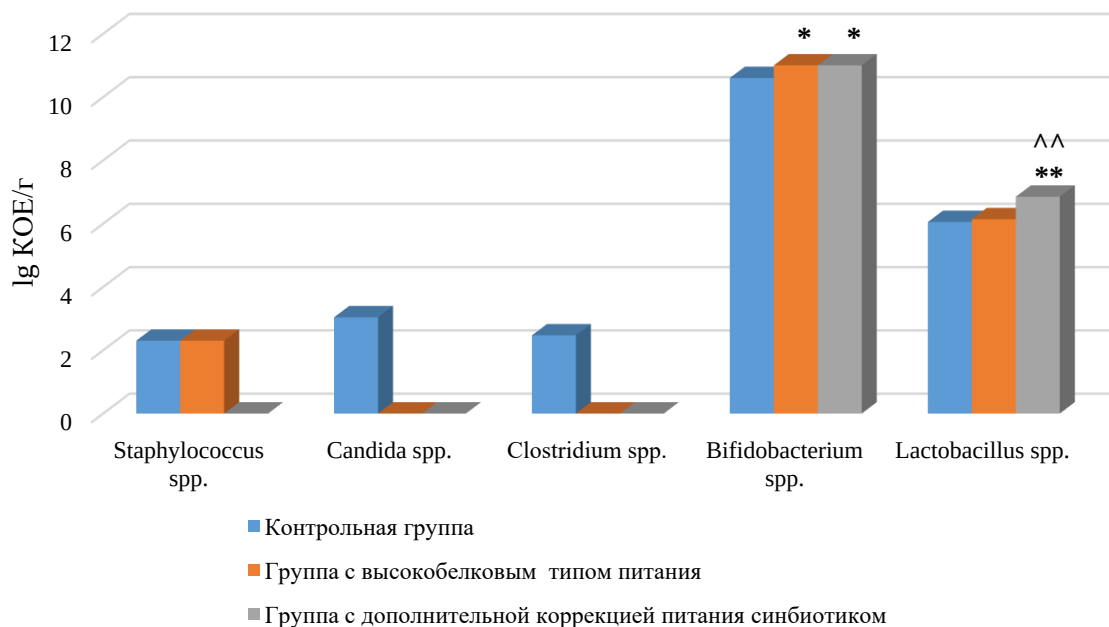


Рисунок 12 – Состояние микробиоты тонкого кишечника крыс препубертатного возраста при высокобелковом типе питания и дополнительной коррекции питания синбиотиком.

Примечание: * статистическая значимость различий по показателям, в сравнении с группой контроля (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$); ^ статистическая значимость различий в группах с высокобелковым типом питания и коррекцией питания синбиотиком (^ $p \leq 0,05$; ^^ $p \leq 0,01$; ^^^ $p \leq 0,001$).

При высокобелковой диете наиболее существенные изменения наблюдались в толстом кишечнике крыс, где достоверно снижалось содержание *Bifidobacterium spp.* в 50,7 раз ($p=0,0493$) и *Lactobacillus spp.* - в 3,9 раз ($p=0,0451$) в сравнении с группой контроля (Рисунок 13). Рост условно-патогенных бактерий и грибов рода *Candida spp.* оставалось на уровне контрольных значений.

Использование синбиотика в питании привело к повышению уровня *Bifidobacterium spp.* в 112,6 раз ($p=0,0005$) и *Lactobacillus spp.* - в 56,8 раз ($p = 0,0001$) в сравнении с группой на фоне высокобелковой диеты без коррекции питания. Коррекционная методика способствовала подавлению роста условно-патогенной микрофлоры (*Staphylococcus spp.*, *Clostridium spp.*, грибы рода *Candida spp.*), которая не высевалась, так же как и в микробном сообществе желудка и тонкого кишечника.

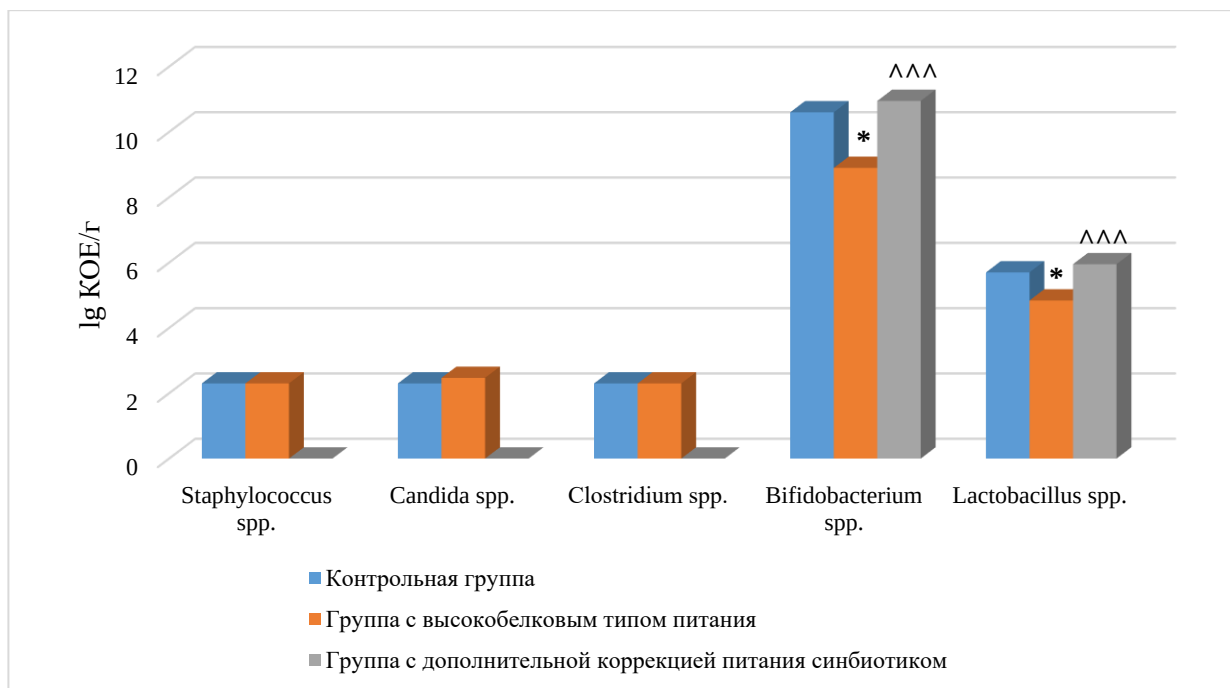


Рисунок 13 – Состояние микробиоценоза толстого кишечника крыс препубертатного возраста при высокобелковом типе питания и дополнительной коррекции питания синбиотиком.

Примечание: * статистическая значимость различий по показателям, в сравнении с группой контроля (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$); ^ статистическая значимость различий в группах с высокобелковым типом питания и коррекцией синбиотиком (^ $p \leq 0,05$; ^^ $p \leq 0,01$; ^^^ $p \leq 0,001$).

Избыточное белковое питание крыс способствовало изменению со стороны микробиоценоза кала, в котором выявлялась условно-патогенная микрофлора (*Staphylococcus spp.*, *Candida spp.*, *Clostridium spp.*). Содержание *Bifidobacterium spp.* и *Lactobacillus spp.* достоверно снижалось в 100 ($p = 0,0001$) и в 144 ($p = 0,0283$) раз соответственно (Рисунок 14).

После коррекции питания синбиотиком в сравнении с группой лабораторных животных, потреблявших высокобелковую пищу, условно-патогенная микробиота не высевалась, содержание *Lactobacillus spp.* достоверно повышалось в 292,8 раза ($p = 0,0001$) и *Bifidobacterium spp.* - в 70,3 раза ($p = 0,0081$).

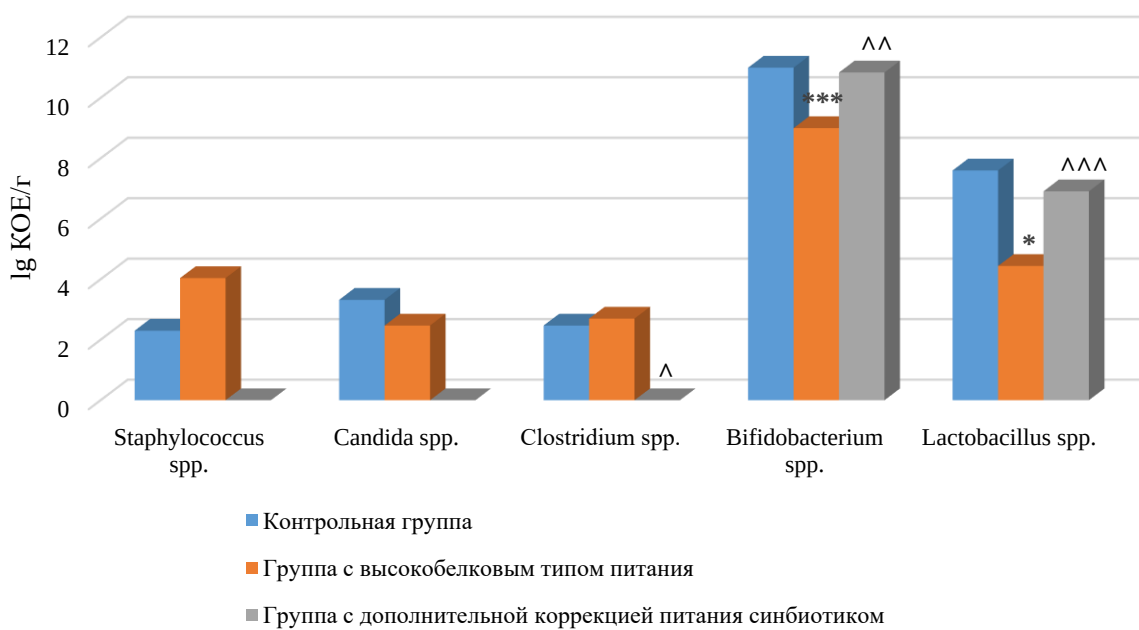


Рисунок 14 - Состояние микробиоты кала крыс препубертатного возраста при высокобелковом типе питания и дополнительной коррекции питания синбиотиком.

Примечание: * статистическая значимость различий по показателям, в сравнении с группой контроля (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$); ^ статистическая значимость различий в группах с высокобелковым типом питания и коррекцией питания синбиотиком (^ $p \leq 0,05$; ^^ $p \leq 0,01$; ^^ $p \leq 0,001$).

Таким образом, диета с избыточным потреблением белков не увеличивает высеваемость условно-патогенных бактерий и грибов в микробиоте желудочно-кишечного тракта. В то же время в микробиоте толстого кишечника и кала на фоне высокобелковой диеты показатели *Bifidobacterium spp.* и *Lactobacillus spp.* существенно снижаются относительно значений контрольной группы.

Прием препарата пре- и пробиотического направления способствовал увеличению содержания *Lactobacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.* в кале, которые

значимо превысили показатели группы крыс без коррекции питания. Условно-патогенная микробиота не обнаруживалась ни в толстом кишечнике, ни в кале.

3.2 Изменения уровня грелина и лептина в сыворотке крови и рецепторов к ним при преимущественно углеводном типе питания

При исследовании уровня пептидного гормона лептина в сыворотке крови крыс на фоне избыточного потребления углеводов установлено достоверное превышение показателей контрольной группы на 54,4 % ($p=0,0003$). Прием комбинированного препарата, содержащего про- и пребиотические компоненты, способствовал достоверному снижению уровня гормона на 27,8% ($p=0,0005$) (Рисунок 15).

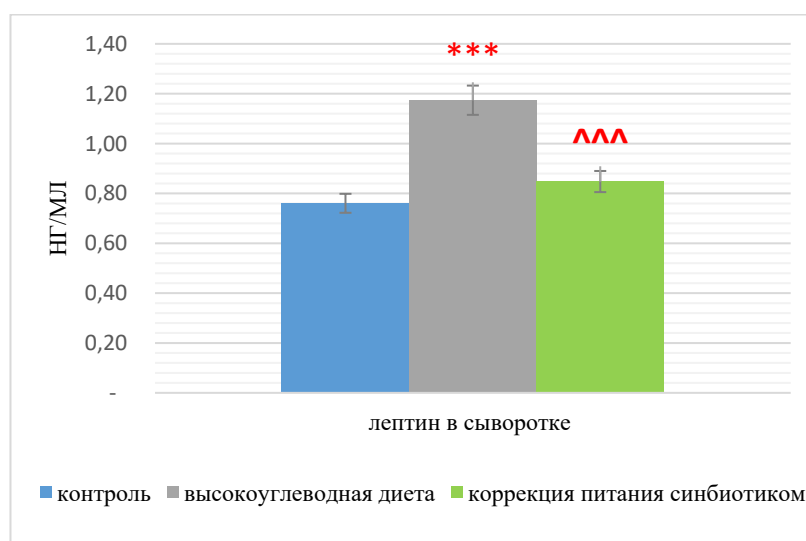


Рисунок 15 – Динамика показателей уровня лептина (нг/мл) в сыворотке крови крыс препубертатного возраста на фоне высокоуглеводного питания.

Примечание: * статистическая значимость различий по показателям, в сравнении с группой контроля (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$); ^ статистическая значимость различий в группе с высокоуглеводным типом питания и коррекцией питания синбиотиком (^ $p \leq 0,05$; ^^ $p \leq 0,01$; ^^^ $p \leq 0,001$).

Изучение рецепторов к лептину в жировой ткани показало повышение их плотности на 15,8% в сравнении с контрольной группой. Прием синбиотика в

качестве коррекционной методики привел к достоверному увеличению плотности рецепторов на 135,5% ($p=0,0005$) в сравнении с группой контроля и на 103,3% ($p=0,0011$) в сравнении с группой на фоне высокоуглеводной диеты без коррекции питания (Рисунок 16 А).

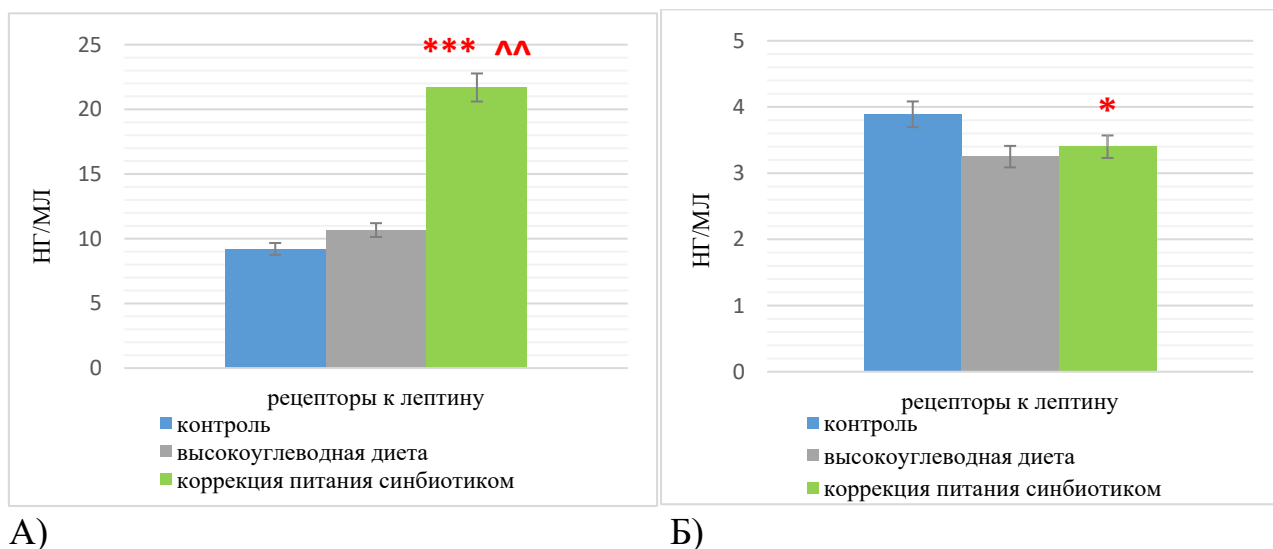


Рисунок 16 - Уровень рецепторов к лептину (нг/мл) в жировой ткани (А) и тканях головного мозга (Б) крыс препубертатного возраста при высокоуглеводном типе питания.

Примечание: * статистическая значимость различий по показателям, в сравнении с группой контроля (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$); ^ статистическая значимость различий в группе с высокоуглеводным типом питания и коррекцией питания синбиотиком (^ $p \leq 0,05$; ^^ $p \leq 0,01$; ^^ $p \leq 0,001$).

Концентрация рецепторов к лептину в тканях головного мозга крыс также претерпела некоторые изменения на фоне высокоуглеводного рациона в виде снижения на 16,4%, однако достоверность различий не выявлялась (Рисунок 16 Б). При дополнительном приеме синбиотика отмечалась тенденция к повышению плотности рецепторов к лептину на 4,6% в сравнении с группой, находившейся на диете, однако значения оставались ниже контрольных на 12,6% ($p=0,0126$).

Нами изучался уровень гормона, регулирующего энергетический обмен и ответственного за повышение аппетита, грелина, в сыворотке крови. Полученные данные свидетельствуют о достоверном снижении на 54,1% ($p=0,0126$) содержания грелина на фоне высокоуглеводной диеты (Рисунок 17).

Коррекция питания синбиотиком способствовала некоторому повышению уровня грелина по сравнению с группой крыс на фоне высокоуглеводной диеты. Тем не менее значения оставались ниже показателей контрольной группы на 42,8% ($p=0,0283$).

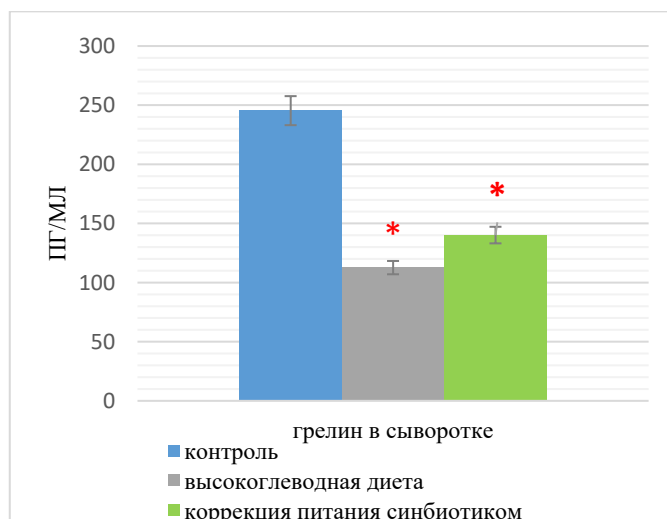


Рисунок 17 – Динамика показателей уровня грелина (пг/мл) в сыворотке крови крыс препубертатного возраста на фоне высокоуглеводного питания.

Примечание: * статистическая значимость различий по показателям, в сравнении с группой контроля (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$); ^ статистическая значимость различий в группе с высокоуглеводным типом питания и коррекцией питания синбиотиком (^ $p \leq 0,05$; ^^ $p \leq 0,01$; ^^^ $p \leq 0,001$).

Питание с избыточным потреблением углеводов привело к достоверному снижению уровня рецепторов к грелину в жировой ткани на 20,4% ($p=0,0155$) в сравнении с контрольной группой. Коррекция питания препаратом про- и пребиотического назначения способствовала некоторому повышению уровня рецепторов к грелину в жировой ткани на 16,7% в сравнении с группой без соответствующей коррекции питания (Рисунок 18 А), однако значения не достигли уровня контроля.

При исследовании плотности рецепторов к грелину в тканях головного мозга нами выявлено, что при высокоуглеводном питании уровень рецепторов снижался на 10,48% в сравнении с группой контроля (Рисунок 18 Б). Коррекция питания синбиотиком приводило к снижению плотности рецепторов к грелину

в тканях головного мозга на 24,95% ($p=0,0002$) в сравнении с контролем и на 16,2% в сравнении с группой, находящейся на высокоуглеводном рационе без коррекционной методики.

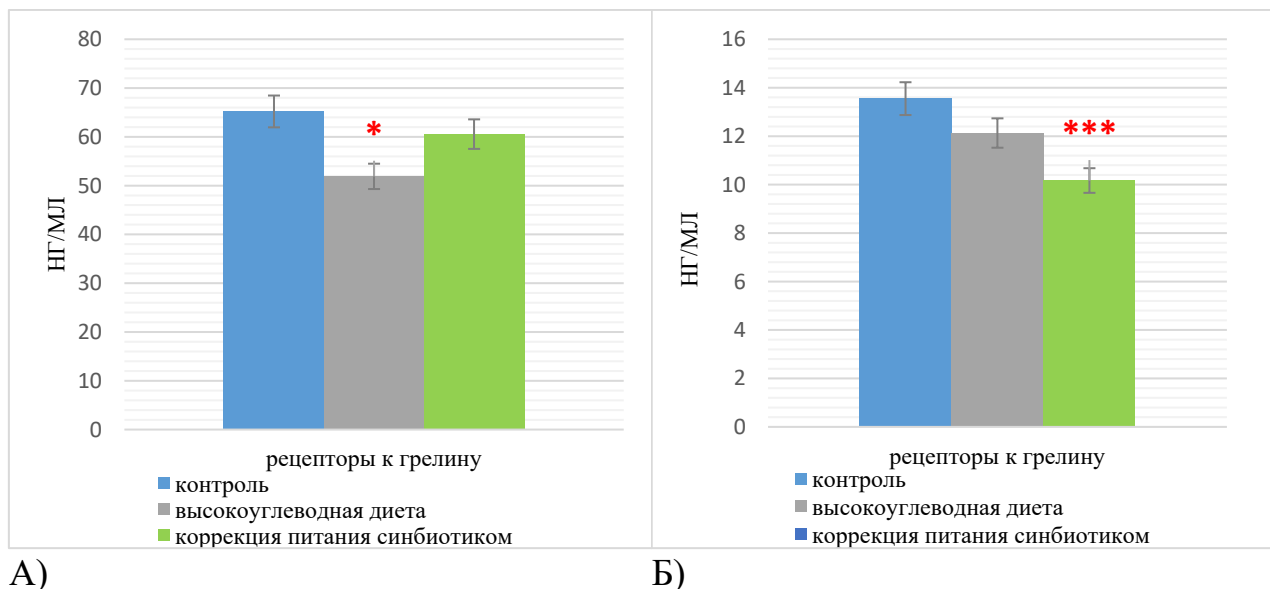


Рисунок 18 - Уровень рецепторов к грелину (нг/мл) в жировой ткани (А) и тканях головного мозга (Б) крыс препубертатного возраста при высокоуглеводном типе питания.

Примечание: * статистическая значимость различий по показателям, в сравнении с группой контроля (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$); ^ статистическая значимость различий в группе с высокоуглеводным типом питания и коррекцией питания синбиотиком (^ $p \leq 0,05$; ^^ $p \leq 0,01$; ^^ $p \leq 0,001$).

Анализ полученных нами данных показал, что высокоуглеводная диета вызывала снижение уровня грелина и повышение лептина в сыворотке крови. Добавление синбиотика в рацион питания приводил к некоторому росту значений уровня грелина, однако его характеристики оставались ниже данных контрольной группы.

Взаимоотношение пептидных гормонов и рецепторов к ним показано в процентном соотношении на рисунке 19.

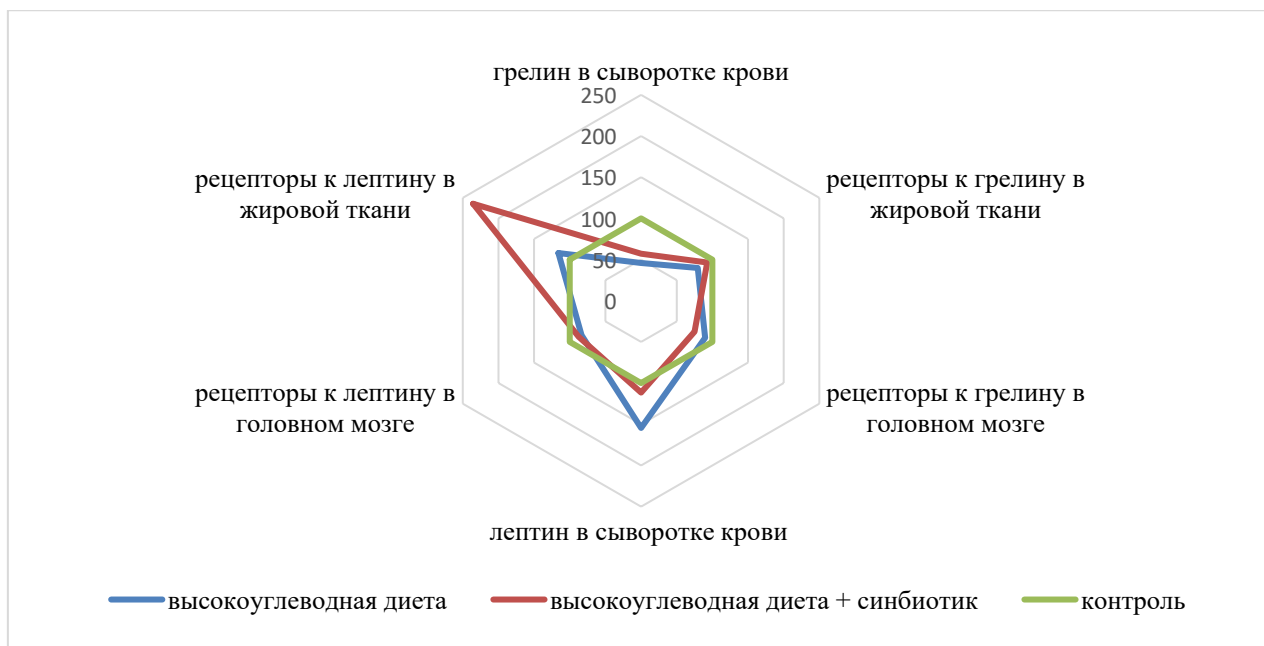


Рисунок 19 - Уровень лептина и грелина в сыворотке крови и рецепторов к ним на фоне высокоуглеводного питания до и после коррекции синбиотиком, (%).

Таким образом, коррекционная методика убедительно продемонстрировала свою эффективность по отношению содержания лептина в сыворотке крови крыс препубертатного возраста, так как после проведения коррекции питания его значения приблизились к показателям контроля.

Высокоуглеводная диета способствовала снижению уровня рецепторов к грелину и увеличению плотности рецепторов к лептину в жировой ткани экспериментальных животных. Важно отметить, что после проведенной коррекции питания синбиотиком повысилась плотность рецепторов как к грелину, так и к лептину. В тканях головного мозга на фоне высокоуглеводной диеты уровень рецепторов к грелину и лептину снижался. Добавление синбиотика в питание приводило к еще более выраженному снижению плотности рецепторов к грелину, а уровень рецепторов к лептину значимо не изменялся.

3.3 Изменения уровня грелина и лептина в сыворотке крови и рецепторов к ним у крыс препубертатного возраста при преимущественно белковом типе питания

При исследовании сыворотки крови экспериментальных животных препубертатного возраста установлено, что высокобелковая диета способствовала снижению значений лептина на 9,2%. При добавлении в рацион питания синбиотика уровень лептина снижался на 47,4% в сравнении с группой крыс, находящихся на фоне высокобелковой диеты без коррекции питания, однако различия оказались статистически не достоверными (Рисунок 20).

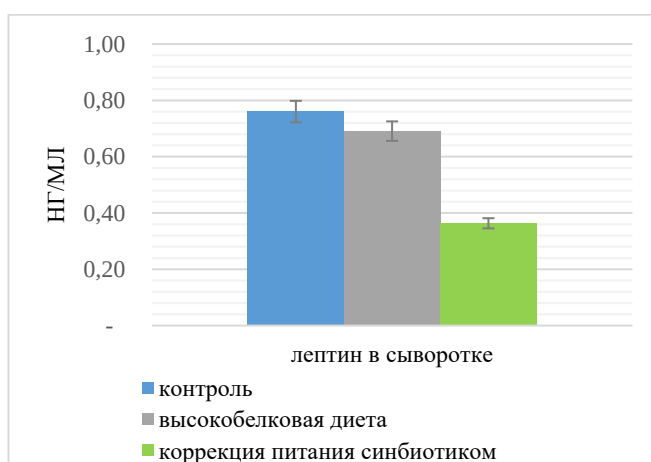


Рисунок 20 – Динамика показателей уровня лептина (нг/мл) в сыворотке крови крыс препубертатного возраста на фоне высокобелкового питания.

Примечание: * статистическая значимость различий по показателям, в сравнении с группой контроля (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$); ^статистическая значимость различий в группе с высокобелковым типом питания и коррекцией питания синбиотиком (^ $p \leq 0,05$; ^^ $p \leq 0,01$; ^^^ $p \leq 0,001$).

Интересно отметить значительный рост плотности рецепторов к лептину в жировой ткани на фоне высокобелковой диеты, что выражалось в достоверном превышении показателей на 128,4% ($p=0,0003$) в сравнении с контрольной группой. Добавление в рацион питания синбиотика провоцировал дальнейший рост плотности рецепторов к лептину в жировой ткани, на 230,7% ($p=0,0001$) в сравнении с группой контроля и на 44,8% в сравнении с группой, находящейся на высокобелковом питании (Рисунок 21А).

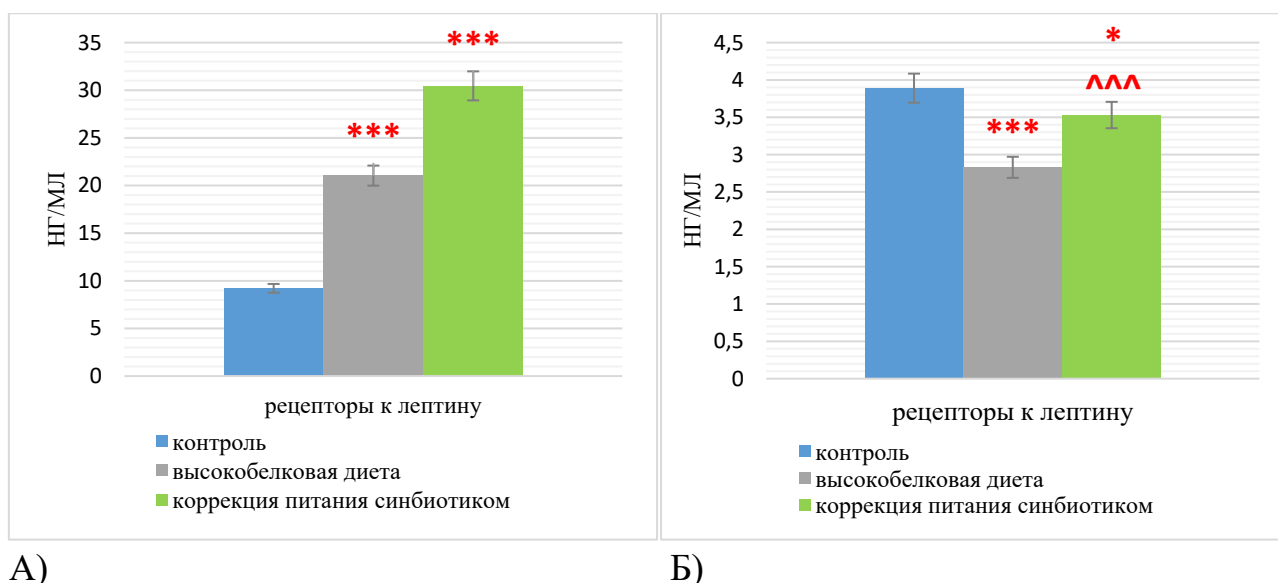


Рисунок 21 - Уровень рецепторов к лептину (нг/мл) в жировой ткани (А) и тканях головного мозга (Б) крыс препубертатного возраста при высокобелковом питании.

Примечание: * статистическая значимость различий по показателям, в сравнении с группой контроля (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$); ^ статистическая значимость различий в группе с высокобелковым типом питания и коррекцией питания синбиотиком (^ $p \leq 0,05$; ^^ $p \leq 0,01$; ^^^ $p \leq 0,001$).

На фоне высокобелковой диеты концентрация рецепторов к лептину в тканях головного мозга снизились на 27,25% ($p=0,0001$) (Рисунок 21 Б). Коррекция препаратом пре- и пробиотического направления привела к снижению плотности рецепторов на 9,26% ($p=0,0233$) в сравнении с группой контроля, однако в сравнении с группой с преимущественным потреблением белков без коррекционной методики уровень рецепторов повысился на 24,7% ($p=0,0003$).

При высокобелковой диете содержание грелина в сыворотке крови крыс, гормона синтезируемого клетками желудочно-кишечного тракта, превышало значения контрольной группы на 8,7%. Добавление пре- и пробиотических компонентов в рацион питания крыс привело к снижению уровня грелина на 24,7% в сравнении с группой без коррекции, однако различия в показателях не имели достаточной степени достоверности (Рисунок 22).

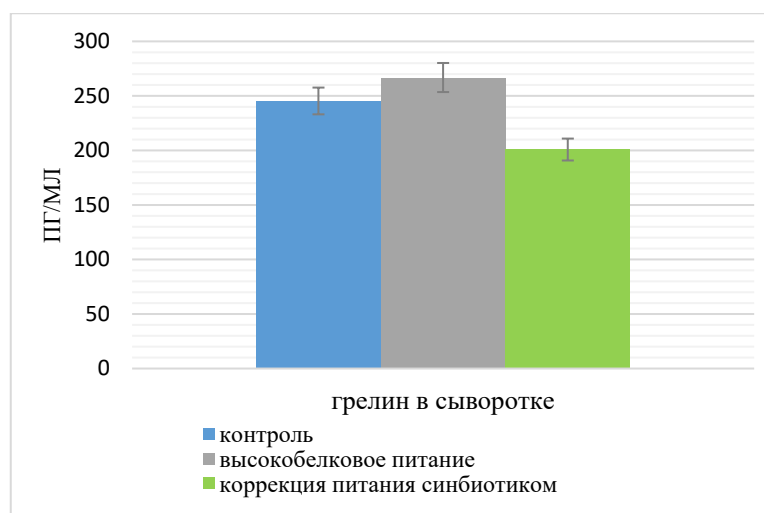


Рисунок 22 – Динамика показателей уровня грелина (пг/мл) в сыворотке крови крыс препубертатного возраста на фоне высокобелкового питания.

Примечание: * статистическая значимость различий по показателям, в сравнении с группой контроля (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$); ^статистическая значимость различий в группе с высокобелковым типом питания и коррекцией питания синбиотиком (^ $p \leq 0,05$; ^^ $p \leq 0,01$; ^^^ $p \leq 0,001$).

При избыточном потреблении белков плотность рецепторов к грелину в жировой ткани повысилась на 37,3% в сравнении с контролем (Рисунок 23 А). На фоне высокобелковой диеты проведенная коррекция привела к еще большему повышению плотности рецепторов на 145,5% ($p=0,0024$) в сравнении с группой контроля и на 78,8% ($p=0,0065$) в сравнении с группой, находящейся на высокобелковом рационе.

Исследование тканей головного мозга крыс показало следующие результаты, на фоне высокобелковой диеты плотность рецепторов к грелину снизилась на 27,53% ($p=0,0001$), в сравнении с группой контроля. В то же время на фоне коррекции питания плотность рецепторов к грелину повысилась на 28,2% ($p=0,0001$) в сравнении с группой без дополнительного приема синбиотика (Рисунок 23 Б), оставаясь достоверно ниже значений контрольной группы на 7,1% ($p=0,0493$).

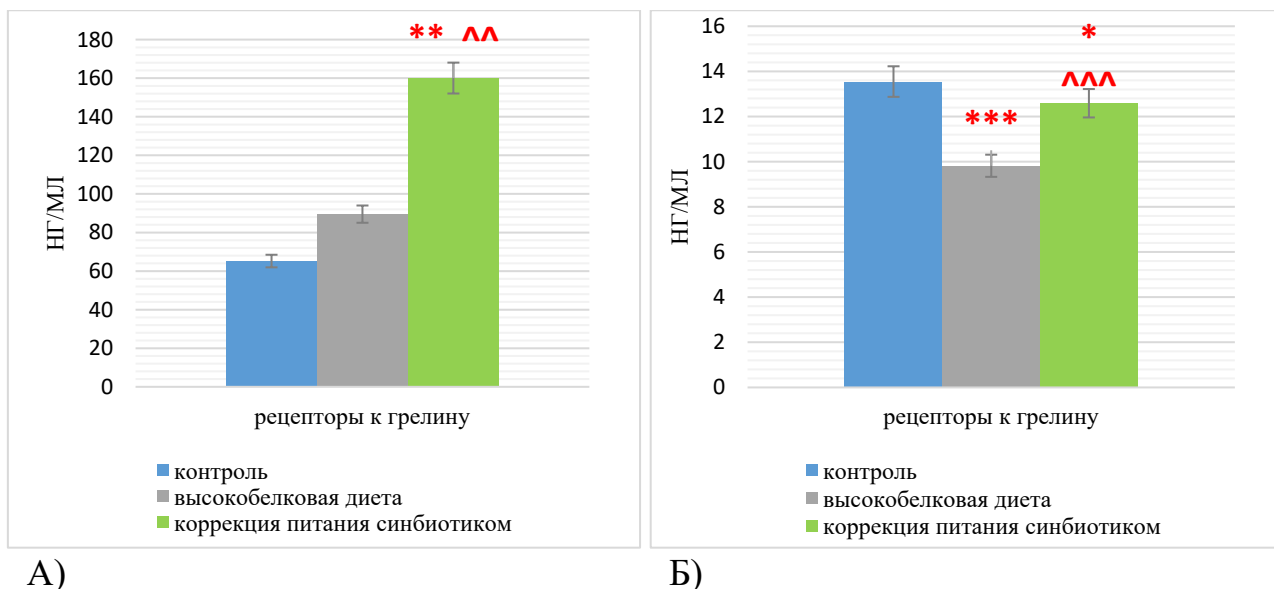


Рисунок 23 - Уровень рецепторов к грелину (нг/мл) в жировой ткани (А) и тканях головного мозга (Б) у крыс препубертатного возраста при высокобелковом питании.

Примечание: * статистическая значимость различий по показателям, в сравнении с группой контроля (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$); ^ статистическая значимость различий в группе с высокобелковым типом питания и коррекцией питания синбиотиком (^ $p \leq 0,05$; ^^ $p \leq 0,01$; ^^^ $p \leq 0,001$).

На рисунке 24 представлено взаимоотношение гормонов и их рецепторов в процентном соотношении.

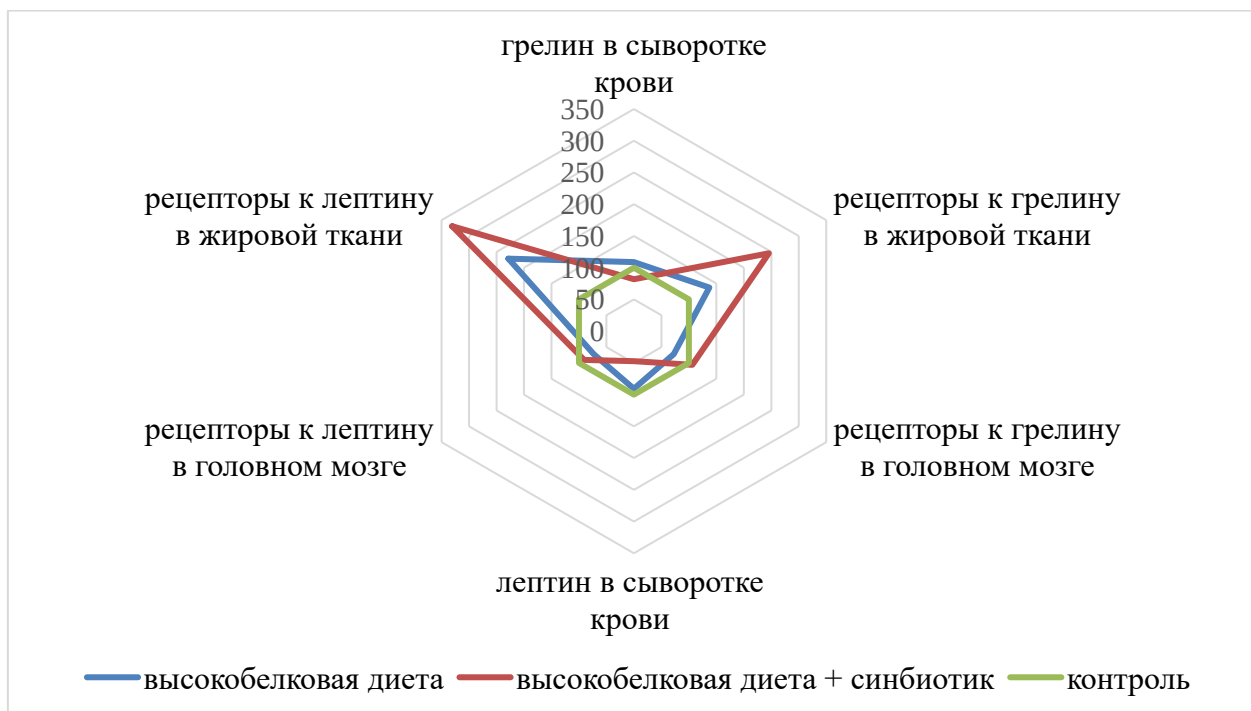


Рисунок 24 - Уровень лептина и грелина в сыворотке крови и рецепторов к ним на фоне высокобелкового питания до и после коррекции синбиотиком, (%).

Таким образом, анализ полученных данных показал, что прием высокобелковой диеты вызывает разнонаправленные изменения изучаемых гормонов, носящий характер тенденции: способствует снижению уровня лептина и повышению уровня грелина в сыворотке крови. После дополнительного включения в рацион питания синбиотика отмечалось снижение уровня как грелина, так и лептина в сыворотке крови. В тканях головного мозга крыс уровень рецепторов к грелину и лептину снижался на фоне высокобелкового питания, однако прием препарата про- и пребиотического направления способствовал повышению плотности рецепторов к грелину и лептину в тканях головного мозга.

На фоне высокобелковой диеты плотность рецепторов к грелину и лептину в жировой ткани повышалась, После проведенной коррекционной методики наблюдалось дальнейшее повышение плотности рецепторов к обоим гормонам.

3.4 Изменения уровня грелина и лептина в сыворотке крови и рецепторов к ним в жировой ткани и тканях головного мозга при преимущественно жировом типе питания крыс препубертатного возраста

Проведенное нами исследование показало, что уровень лептина в сыворотке крови крыс с преимущественным потреблением жиров достоверно превысил показатели контрольной группы на 49,9% ($p=0,0003$) (Рисунок 25). В результате использования коррекционной методики уровень лептина снизился на 13,4% ($p=0,0342$), хотя значения оставались выше показателей группы контроля.

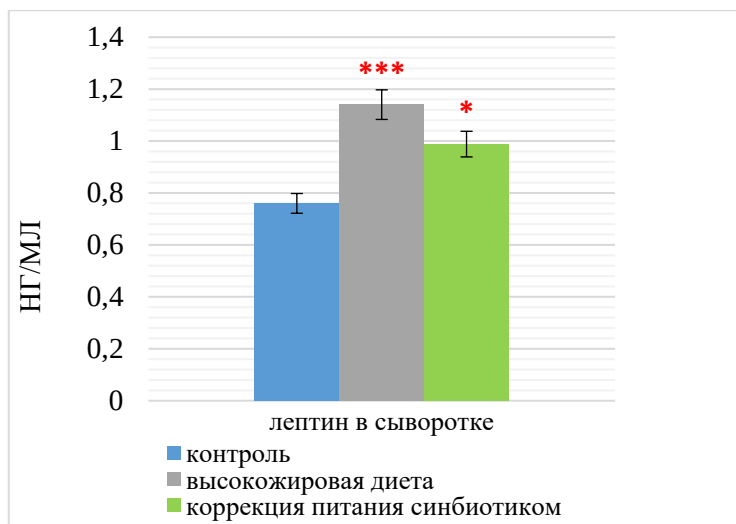
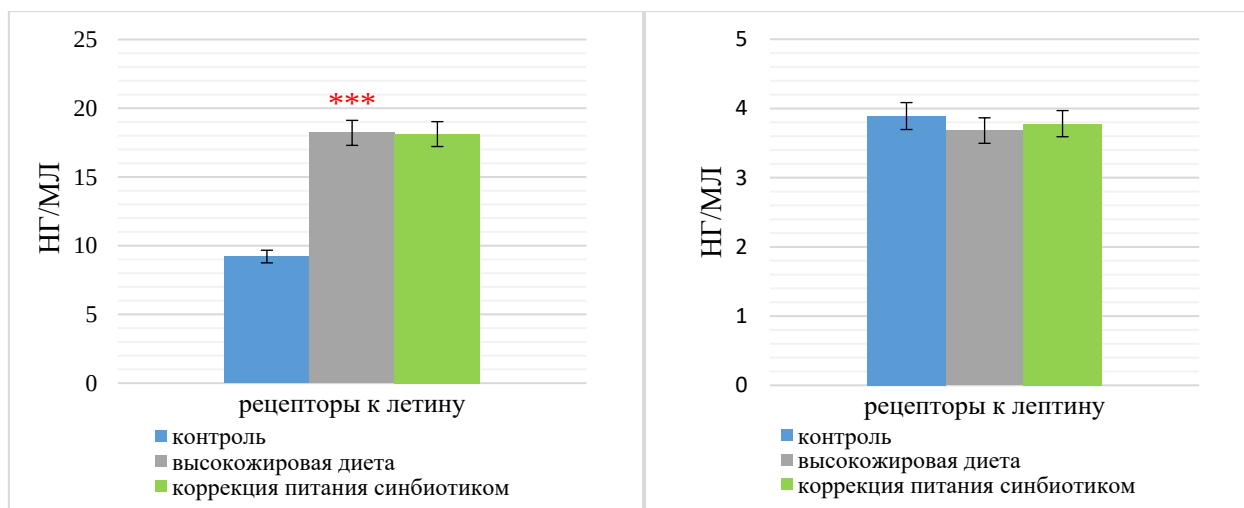


Рисунок 25 – Динамика показателей уровня лептина (нг/мл) в сыворотке крови крыс препубертатного возраста на фоне высокожирового питания.

Примечание: * статистическая значимость различий по показателям, в сравнении с группой контроля (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$); ^ статистическая значимость различий в группе с высокожировым типом питания и коррекцией синбиотиком (^ $p \leq 0,05$; ^^ $p \leq 0,01$; ^^^ $p \leq 0,001$).

На фоне высокожирового питания изучение содержания рецепторов к лептину в жировой ткани выявило достоверное двухкратное их повышение в сравнении с контролем ($p=0,0014$) (Рисунок 26 А).



А)

Б)

Рисунок 26 - Уровень рецепторов к лептину (нг/мл) в жировой ткани (А) и тканях головного мозга (Б) крыс препубертатного возраста при высокожировом типе питания.

Примечание: * статистическая значимость различий по показателям, в сравнении с группой контроля (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$); ^ статистическая значимость различий в группе с высокожировым типом питания и коррекцией питания синбиотиком (^ $p \leq 0,05$; ^^ $p \leq 0,01$; ^^^ $p \leq 0,001$)

Коррекция питания синбиотиком не привела к достоверным изменениям, и уровень рецепторов оставался высоким. Исследование плотности рецепторов к лептину в тканях головного мозга крыс не выявило количественных различий как при диетических нарушениях, так и на фоне проводимой коррекции (Рисунок 26 Б)

На фоне высокожировой диеты показатели грелина в сыворотке имели тенденцию к снижению на 24,8% в сравнении с контрольной группой (Рисунок 27).

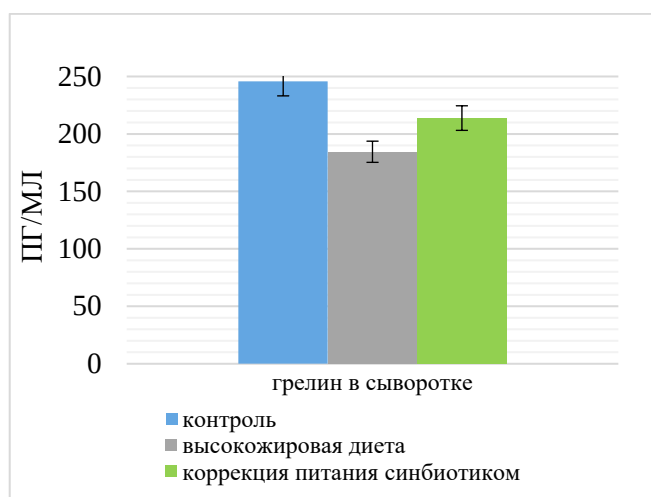


Рисунок 27 – Динамика показателей уровня грелина (пг/мл) в сыворотке крови крыс препубертатного возраста на фоне высокожирового типа питания.

Примечание: * статистическая значимость различий по показателям, в сравнении с группой контроля (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$); ^статистическая значимость различий в группе с высокожировым типом питания и коррекцией питания синбиотиком (^ $p \leq 0,05$; ^^ $p \leq 0,01$; ^^ $p \leq 0,001$).

При добавлении в питание синбиотика отмечалось повышение уровня грелина на 15,8% относительно группы, находившейся на высокожировой диете без коррекции питания.

Определение уровня рецепторов к грелину в жировой ткани крыс показало, что на фоне высокожировой диеты повышалась плотность рецепторов на 28,2%, в сравнении с контролем (Рисунок 28А). Прием синбиотика приводил к снижению содержания рецепторов к грелину на 33,1%

($p=0,0155$) в сравнении с группой на фоне высокожировой диеты и на 14,3% ($p=0,0101$) в сравнении с контрольной группой.

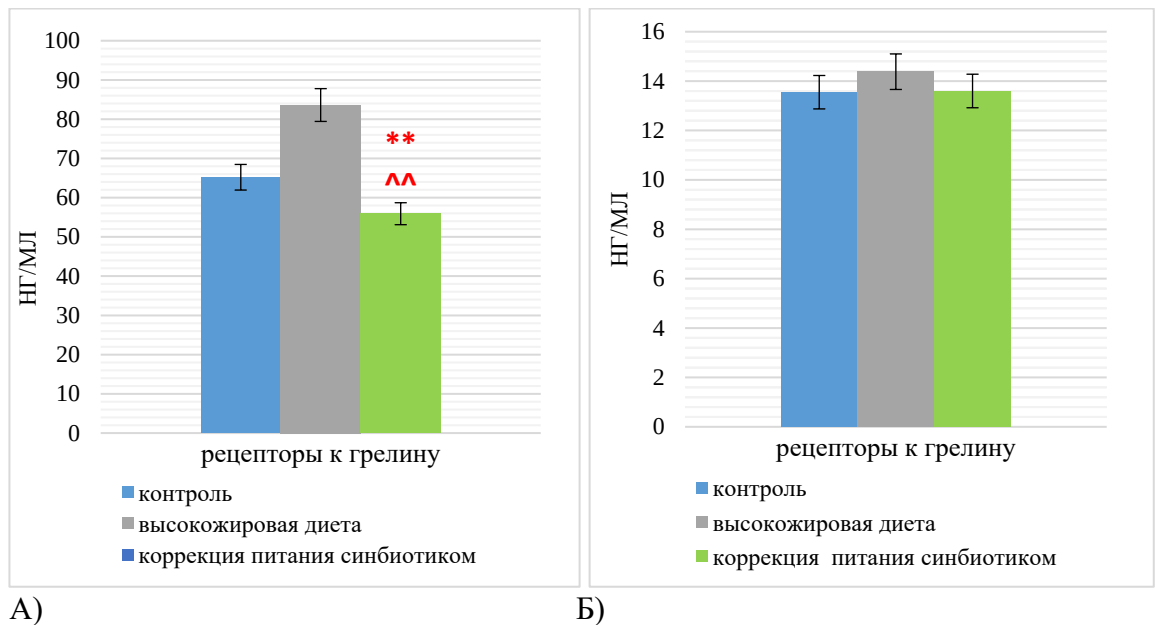


Рисунок 28 - Уровень рецепторов к грелину (нг/мл) в жировой ткани (А) и тканях головного мозга (Б) крыс препубертатного возраста при высокожировом питании.

Примечание: * статистическая значимость различий по показателям, в сравнении с группой контроля (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$); ^ статистическая значимость различий в группе с высокожировым типом питания и коррекцией питания синбиотиком (^ $p \leq 0,05$; ^^ $p \leq 0,01$; ^^ $p \leq 0,001$).

В тканях головного мозга крыс достоверных изменений в уровне рецепторов к грелину не отмечалось как при избыточном потреблении жиров, так и после применения коррекционной методики (Рисунок 28 Б).

Взаимоотношение уровня гормонов в сыворотке крови и рецепторов к ним в тканях приведено в процентном соотношении на рисунке 29.

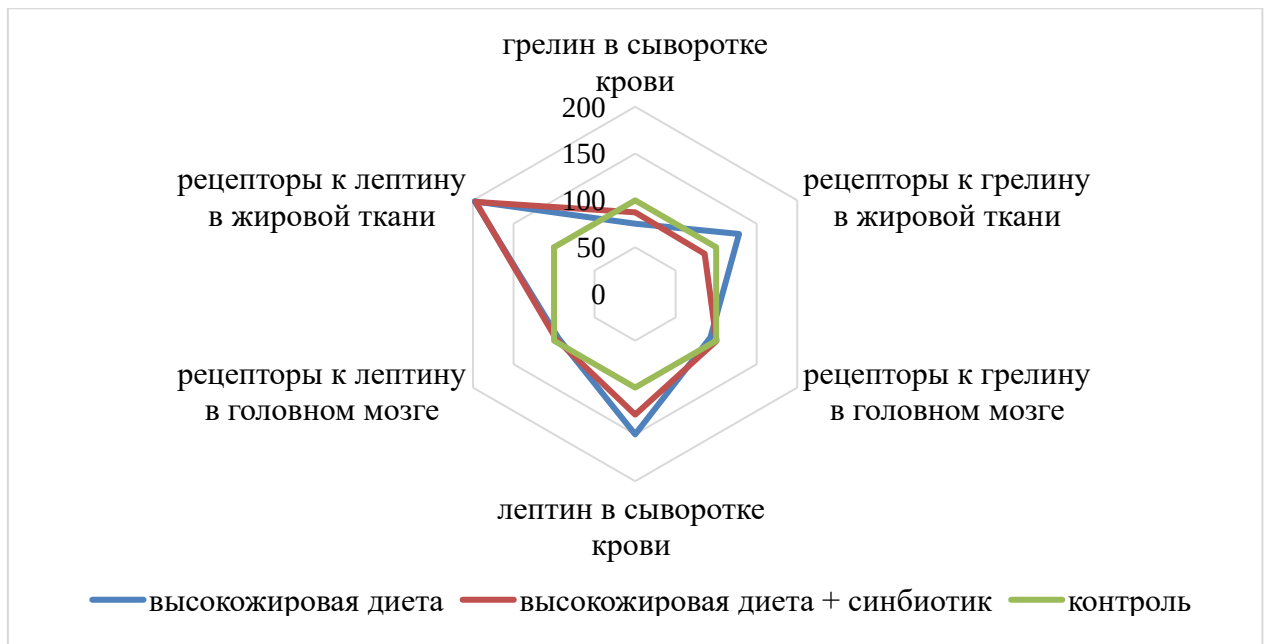


Рисунок 29 – Уровень лептина и грелина в сыворотке крови и рецепторов к ним на фоне высокожирового питания до и после коррекции синбиотиком (%).

Таким образом, при решении вопроса о вкладе диетических нарушений в изменение количественных характеристик содержания гормонов лептина и грелина нами установлено достоверное повышение уровня лептина и тенденция к снижению уровня грелина. Наиболее выраженные изменения в содержании рецепторов гормонов выявлены на периферии – в жировой ткани, что свидетельствует о важности периферических механизмов в реализацию эффектов гормонов. Центральные рецепторные структуры мозга достоверно не менялись как на фоне высокожировой диеты, так и после коррекции питания синбиотиком.

Глава 4 Обсуждение полученных результатов

Результатами исследований последних лет установлено участие различных вариантов нарушений питания в патогенезе целого ряда так называемых алиментарно-зависимых заболеваний и патологических состояний, среди которых центральное место занимает ожирение. Следствием формирующихся обменных расстройств являются сердечно-сосудистые заболевания, включая гипертоническую болезнь и дислипидемию, дисфункция поджелудочной железы, печени, психоэмоциональный и социальный дискомфорт [173]. Количественные отклонения в соотношении основных и минорных пищевых ингредиентов способствуют изменению состава микробиоты желудочно-кишечного тракта, которая, участвуя в регуляции обмена веществ, вносит существенный вклад в патогенез ожирения [1]. Среди наиболее изученных механизмов влияния микробиоты на обменные процессы в организме отмечаются такие, как извлечение микроорганизмами энергии из рациона посредством преобразования пищевых волокон в короткоцепочные жирные кислоты, повышение проницаемости кишечника для бактериальных липополисахаридов, поддержание процесса воспаления [178]. Появились сообщения о влиянии микробиоты на содержание гормонов, регулирующих энергетический, углеводный и жировой обмены – лептин и грелин [76].

Одной из эффективных терапевтических стратегий в борьбе с диет-индуцированными нарушениями обмена веществ на сегодняшний день рассматривается коррекция кишечной микробиоты пре- и пробиотиками. В то же время патогенетические механизмы, посредством которых происходит нормализация биохимических показателей крови остаются недостаточно изученными.

Для создания моделей метаболических нарушений, обусловленных различными типами питания – жировым, углеводным и белковым применялись диеты, на которых содержалось 2 поколения крыс, там самым создавалась модель «семейного типа питания». Коррекционная методика проводилась

комплексным препаратом про- и пребиотического направления в течение двух недель. В составе препарата содержались штаммы живых бактерий *Lactobacillus acidophilus* LA-5 и *Bifidobacterium* BB-12Y в соотношении 1:1, в качестве пребиотика в состав препарата входили фруктолигосахариды.

В наших экспериментах при моделировании диеты с преимущественным потреблением жиров, процентное содержание липидов в рационе составило 51%, что достигалось введением свиного сала в соответствии с методикой, предложенной [52]. Данное процентное содержание жиров было выбрано нами исходя из анализа литературных данных. Диета в экспериментальном исследовании на хомяках с 45% содержанием жиров от общего рациона, не способствовала избыточному накоплению жира в организме, однако диета с 60% содержанием привела к значительному росту избыточного веса [160; 296]. В долгосрочных рандомизированных клинических исследованиях было показано, что потребление жира в пределах от 18-40% от общего каллоража оказывает незначительное влияние на массу тела [303].

Углеводный тип питания предусматривал включение в рацион 77% углеводов, что достигалось потреблением сахара в количестве 19,3 грамм на 100 грамм продукта в соответствии с методикой, предложенной Shintani T.T. [286].

Высокобелковая диета в нашем эксперименте воспроизводилась использованием изолята соевого (сывороточного белка), составившего 35% от общего рациона крыс препубертатного периода [239].

Применение различных видов диет в нашем исследовании отразилось на параметрах веса крыс препубертатного возраста. Так диеты с преимущественным потреблением жиров и углеводов привели к достоверному снижению массы тела на 17,3 % ($p \leq 0,001$) и 9,49% ($p \leq 0,001$) соответственно по отношению к группе контроля. В ряде исследований сообщалось, что потомство экспериментальных животных, находившееся на диете с избыточным потреблением жиров и диете с комплексным избыточным потреблением жиров и углеводов, имело более низкий вес тела в сравнении с

контрольной группой [40; 96; 297]. Данный факт во многом обусловлен нехваткой питательных элементов, что в период роста организма особенно негативно сказывается на показателях. На показателе веса сказывается и качественней состав углеводов. В исследовании Xu Si (2018) установлено, что крысы, находившиеся на углеводном типе питания, основным ингредиентом которого являлись рисовые отруби, через 6 недель показали более низкий прирост массы тела, в том числе подкожно-жировой клетчатки, по сравнению с группой с преимущественным потреблением жиров [114]. Углеводы в виде фруктозы и сгущенного молока способствовали более активному набору массы тела и отложению висцерального жира, в сравнении с группой экспериментальных крыс, которые потребляли преимущественно кукурузный крахмал [144]. В настоящей работе была использована диета, основным ингредиентом которой был свекольный сахар из расчета 77% от общего рациона. На фоне данного типа питания лабораторные животные препубертатного периода имели массу тела ниже значений контрольной группы, что так же по нашему мнению обусловлено нехваткой питательных элементов в рационе.

Использование рядом исследователей получившей широкую распространенность в наше время высокобелковой диеты показало неоднозначные результаты. Так, в экспериментальном исследовании Magnus Michael Chukwudike Anyakudo (2017) кормление половозрелых крыс белками, составляющими 50% от общего рациона как растительного, так и животного происхождения, привело к значительному снижению массы тела [142]. Увеличение содержания белка в рационе от 10 до 20-25% так же способствует уменьшению массы тела и жировых отложений у крыс [86]. В нашем исследовании при использовании 51% изолята соевого белка от общего рациона крыс препубертатного периода привело к значительному – на 76,7% ($p \leq 0,001$) увеличению массы тела по сравнению с контролем, что подтверждает важность белков в период усиленного роста и развития организма. Потомство в белковой группе выделялось быстрым темпом роста, хорошей физической активностью,

по сравнению с группами, находящимися на жировом и углеводном типах питания.

В нашем исследовании было установлено, что диетические нарушения отражаются на показателях микрофлоры желудочно-кишечного тракта крыс препубертатного периода. Так, при бактериологическом исследовании на фоне высокожировой диеты отмечалось снижение роста *Bifidobacterium* spp. и *Lactobacillus* spp. на всем протяжении желудочно-кишечного тракта. Однако содержание условно патогенной микрофлоры – грибов рода *Candida* spp., а также *Staphylococcus* spp. и *Clostridium* spp., напротив, существенно повысилось. Наши данные согласуются с результатами, приведенными X. Zhao с соавт. (2011). Было установлено снижение уровня *Lactobacillus* spp. в дистальных отделах пищевода при диете с высоким содержанием жира [180]. Сниженный уровень *Lactobacillus* spp. в микробиоте желудочно-кишечного тракта был отмечен у подростков, страдающих ожирением [164]. В эксперименте Power S.E. с соавт. (2013) выявил взаимосвязь избыточной массы тела и снижение уровня Firmicutes на фоне высокожировой диеты. Количество Firmicutes снижается, по мнению автора, за счет угнетения роста *Lactobacillus intestinalis* и отрицательно коррелирует с уровнем лептина и индексом массы тела [166].

Использование высокоуглеводной диеты в нашем исследовании способствовало росту грибов рода *Candida* spp., снижению численности *Bifidobacterium* spp. в толстом кишечнике и кале относительно значений контрольной группы. Увеличение содержания условно-патогенной микрофлоры на фоне чрезмерного потребления углеводов было отмечено рядом авторов [36; 210]. Так, использование рафинированных сахаров в ежедневном питании опосредует чрезмерный рост оппортунистических бактерий, таких как *Clostridium difficile* и *Clostridium perfringens* [36]. На модели мышей показано, что количество добавляемой в рацион глюкозы коррелирует с ростом грибов рода *Candida albicans* [210].

Применение высокобелковой диеты в нашем исследовании выразилось в снижении показателей содержания *Bifidobacterium spp.* и *Lactobacillus spp.* относительно значений контрольной группы. Содержание условно-патогенной микробиоты осталось на прежнем уровне. Несколько иные данные приводят [282], отмечая, что избыточное потребление белков способствует росту условно-патогенных микроорганизмов, которые оказывают повреждающее воздействие на слизистую оболочку кишечника, что приводит к нарушению его барьерной функции, работы иммунной системы макроорганизма, изменению секреции метаболитов [282]. В другом исследовании, проведенном на пожилых женщинах, не было выявлено изменений микробиоты желудочно-кишечного тракта при использовании диеты с высоким содержанием белков растительного или животного происхождения [91].

В нашем исследовании была проведена коррекция нарушений микробиоты, вызванных чрезмерным содержанием жиров, углеводов и белков в рационе. В группах крыс, находящихся на несбалансированных типах питания отмечались существенные изменения со стороны биохимических показателей крови.

Анализ биохимических показателей сыворотки крови крыс на фоне диеты с высоким содержанием жиров животного происхождения показал существенное изменение биохимических показателей крови по сравнению со значениями группы контроля. В частности, статистически значимо повышались уровни триглицеридов (на 12%, $p \leq 0,001$) и общего холестерина (на 37,1%, $p \leq 0,001$) при снижении значений ХС ЛПВП на 12,9% ($p \leq 0,01$). Уровень Апо-А1-протеина, белка, входящего в состав липопротеидов высокой плотности, снизился на треть (33,4%, $p \leq 0,05$). Отмечалось существенное увеличение содержания глюкозы на - 43% ($p \leq 0,001$). Динамика показателей печеночных ферментов характеризовалась повышением активности АЛТ 10,5% ($p \leq 0,01$) в сравнении с показателями контрольной группы, однако изменения оставались в пределах референсных значений. После использования синбиотика, в питании отмечалась тенденция, ведущая к нормализации основных показателей

липидного профиля: ХС ЛПВП, ХС ЛПНП, Апо-А1, Апо-В1 протеинов, коэффициента атерогенности.

Влияние жирового типа питания на биохимические показатели крови отмечено рядом авторов [15; 107; 202]. Так, при использовании диеты с различным процентным содержанием жира в рационе - 10, 32 и 45%, были зафиксированы значительные изменения обмена веществ у экспериментальных животных, проявляющиеся в существенном увеличении содержания глюкозы, триглицеридов, общего холестерина [107]. Рост уровня свободных жирных кислот увеличивался в соответствии с ростом процентного содержания жиров в рационе. Рядом исследователей отмечалось существенное увеличение в плазме крови уровней общего холестерина, триглицеридов, ЛПНП и ЛПОНП при применении в эксперименте высокожировой диеты [15]. Триглицериды накапливаются в клетках печени и способствуют развитию инсулинорезистентности [202]. При высоком потреблении жиров Lindsey Kennedy и коллеги отметили повышение активности АСТ, АЛТ и щелочной фосфатазы в сыворотке крови лабораторных мышей [178]. Со стороны липидного профиля в данном исследовании отмечено повышение содержания ЛВНП при неизменности значений ЛПНП.

Множество научных работ посвящено изучению влияния высокоуглеводных диет различного типа на метаболизм, в том числе и с лечебной целью [22; 65, 273]. Однако нам не встретились исследования, освещавшие влияние высокоуглеводного питания на биохимические показатели крови и состояние микробиома кишечника. В ходе настоящего на фоне высокоуглеводной диеты нам удалось показать значимое повышение содержания глюкозы в сыворотке крови экспериментальных животных по сравнению с контролем, однако при данных обстоятельствах достоверные отклонения липидного спектра не установлены. Это, возможно, объясняется особенностями обмена в развивающемся организме, поскольку именно в период полового созревания наиболее выражены изменения показателей липидного обмена, зависящих от концентрации андрогенов и эстрогенов [41].

Повышенный уровень печеночного фермента (АСТ) свидетельствовал о функциональных нарушениях печени, связанных, очевидно, с изменениями микробиоценоза желудочно-кишечного тракта [260]. Следует отметить, что коррекция питания синбиотиком способствовала снижению содержания глюкозы, Апо-А1-протеина, активности АСТ. На фоне высокоуглеводной диеты повышение содержания глюкозы в крови лабораторных животных согласуется с результатами Seal C.J. et al. (2003), также показавшими, что высокоуглеводная диета меняет уровень глюкозы крови. В частности, потребление кукурузного крахмала индуцирует медленный и продолжительный постпрандиальный выброс глюкозы, а потребление легкоусвояемых углеводов способствует повышению уровня глюкозы в плазме с последующим ее падением и развитием гипогликемии. Повышение уровня глюкозы в крови на фоне высокоуглеводной диеты сопровождается увеличением содержания инсулина после приема пищи, повышением уровня триглицеридов натощак и снижением значений ЛПВП [175]. Концентрация глюкозы в крови является важным и независимым фактором риска развития сердечнососудистых заболеваний у пациентов с диабетом, а также у людей с уровнем глюкозы натощак в пределах референсных значений [106]. Неоднозначные изменения липидного спектра на фоне высокоуглеводного питания отмечено в работе Shikany J.M. et al (2009). Рандомизированное исследование пациентов с избыточным весом, в основе рациона которых лежали продукты с высоким гликемическим индексом и высокой гликемической нагрузкой, показало снижение уровней общего холестерина, ЛПНП и ЛПВП.

В настоящее время широкую распространенность получила высокобелковая диета среди пациентов с ожирением с целью снижения массы тела. Однако исследования показали, что избыточное потребление белков в рационе на протяжении длительного времени отрицательно воздействует на многие органы и системы организма [30]. В большинстве исследований регистрируется повышение уровня печеночных трансаминаз, что свидетельствует о повреждающем воздействии на печеночные клетки, ведущем

к деструктивным процессам в гепатоцитах с изменением структуры плазматических мембран [264]. Результаты исследований весьма противоречивы. Так, в экспериментальной работе Oarada M. [245] с использованием диеты с 25% содержанием белка в рационе, было отмечено значительное увеличение уровня печеночных трансаминаз, однако Kostogrys R. B. [90] при введении в рацион белка из расчета 50% от общего рациона, отклонений в активности АСВТ и АЛТ не выявил. Jean C. и его коллеги (2001) показали, что 50% содержание белков в рационе способствовало увеличению уровня АЛТ, в то время как показатели АСТ оставались в пределах референсных значений [200].

В нашем исследовании при применении диеты с 35% содержанием белка в рационе, отмечалось повышение активности цитолитических печеночных ферментов АЛТ на 16,8% ($p \leq 0,01$) и АСТ - на 24,7% ($p \leq 0,001$). Общий белок также превысил значения контрольной группы на 40,6% ($p \leq 0,001$). Отмечались положительные сдвиги в показателях липидного спектра. Так, в сыворотке крови достоверно снижался уровень холестерина на 20% ($p \leq 0,05$), Апо-А1-протеина - на 33,4% ($p \leq 0,05$), повышались значения триглицеридов на 6,3% ($p \leq 0,01$) в сравнении с группой контроля. Последующая коррекция питания препаратом, в составе которого содержался как пре- так и пробиотик, приводила снижению активности АСТ - на 9,8% ($p \leq 0,01$).

Таким образом, в рамках настоящего исследования на фоне диеты с преимущественным потреблением белка наиболее существенные изменения наблюдались со стороны печеночных трансаминаз, что свидетельствует о гепатотоксичном эффекте данной диеты, однако коррекция синбиотиком позволяет нивелировать подобные негативные эффекты.

Выявленные нами положительные эффекты применения синбиотика для коррекции негативных эффектов несбалансированного питания по жирам, углеводам и белкам подтолкнули нас к изучению механизмов, посредством которых кишечная микробиота оказывает влияние на метаболизм хозяина. Наиболее изученным на сегодняшний день является воздействие

короткоцепочных жирных кислот (КЦЖК) на сигнальные молекулы. Известно, что КЦЖК образуются в процессе ферментации пищевых волокон бактериями желудочно-кишечного тракта и выполняют сигнальную функцию, активируя G-протеин связанные рецепторы (GPR). Среди обширного семейства КЦЖК пропионовая кислота признается наиболее мощным активатором рецептора свободных жирных кислот 2 (FFAR2) [113]. Именно FFAR2 и рецептор свободных жирных кислот 3 (FFAR3) экспрессируются не только в большинстве клеток желудочно-кишечного тракта, но и в жировой ткани. В свою очередь L-клетки подвздошной и толстой кишки, продуцирующие глюкагоноподобный пептид-1 (GLP-1) и пептид YY (PYY), обладают высокой экспрессией рецепторов FFAR2 и FFAR3 [111]. В ходе ряда исследований показано, что КЦЖК способствуют секреции инкретинов, регулируют аппетит и накопление жира.

Согласно данным, полученным Chambers E.S. et al. (2015), у пациентов, получавших терапию пропионовой кислотой в течение 24 недель, повышалась выработка GLP-1 и PYY и снижался уровень накопления жировой ткани [93].

Пробиотики способны влиять как на состав, так и на метаболическую активность кишечной микробиоты [89; 153]. В настоящее время большая часть используемых пробиотических препаратов включают в себя два рода бактерий, это *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* [39, 177]. В свою очередь применение препаратов пребиотического направления способствует увеличению содержания *Bifidobacteria spp.* и *Lactobacillus spp.*, что было подтверждено у генетически тучных крыс [225]. Многочисленными исследованиями доказана эффективность пробиотических штаммов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* на фоне диеты с высоким содержанием жира, приводящая к снижению массы тела, улучшению гомеостаза глюкозы, инсулина и снижению стеатоза печени [71; 106; 150; 168].

Другим механизмом, включающимся при коррекции микробиоты кишечника, является возможность воздействия на гормоны лептин и грелин.

Лептин секретируется в основном адипоцитами, участвует в передаче афферентных сигналов в зону гипоталамуса, что приводит к подавлению аппетита и снижению потребления пищи [182, 184]. С другой стороны падение циркулирующих уровней лептина, связанных с отрицательным энергетическим балансом в организме, обуславливает сильную мотивацию к потреблению и пищи, и сохранению энергии [266]. По мере накопления жировых масс в организме, вызванного положительным энергетическим балансом, продукция лептина возрастает [184]. В нейроэндокринных L-клетках кишечника экспрессируются FFAR3, которые стимулируют выработку PYY и GLP-1 [103], что приводит в адипоцитах к усилению синтеза лептина [269]. Таким образом, КЦЖК, синтезирующиеся микробиотой обладают анорексигенным эффектом. Передача сигнала от лептина к гипоталамусу осуществляется через лептиновые рецепторы (LEPR-b) [300]. В аркуатной зоне гипоталамуса расположены 2 типа нейронов имеющих LEPR-b рецепторы, первый тип отвечает за синтез проопиомеланокортина (ПОМК), 2 тип — за синтез агутисвязанного протеина (AgRP) [211]. ПОМК — нейроны стимулируют синтез подавляющих аппетит нейропептидов [211]. Лептин, действуя через рецепторы LEPRb, стимулирует синтез проопиомеланокортина (ПОМК), который в свою очередь способствует синтезу α -меланоцито-стимулирующего гормона. Последний активирует снижение массы тела посредством активации и связывания рецепторов меланокортина — 3 (MC3R) и меланокортина — 4 (MC4R) [306]. В заключении авторы пришли к выводу, что изменения рецепторов меланокортина-4 и недостаточное количество рецепторов меланокортина-3 в эксперименте на мышах приводят к развитию лептинорезистентности и ожирения. Лептин влияет на распад триглицеридов в белой жировой ткани посредством действий на симпатическую нервную систему [67].

Существенное влияние на энергетический метаболизм оказывает грелин, преимущественно продуцируемый слизистой оболочкой желудка [228]. Он является единственным известным периферическим гормоном, который стимулирует потребление пищи и снижает расход энергии [70].

Нами была предпринята попытка изучения содержания грелина и лептина в сыворотке крови, а так же их рецепторов в структурах головного мозга и жировой ткани на фоне диетических нарушений и после коррекции синбиотиком.

Так при применении высокожировой диеты нами установлено достоверное повышение уровня лептина на 49,9% ($p=0,0003$) и тенденция к снижению уровня грелина. Наиболее выраженные изменения в содержании рецепторов гормонов выявлены на периферии – в жировой ткани. Так плотность рецепторов к грелину повысилась на 28,2% в сравнении с контролем, а со стороны рецепторов к лептину отмечалось достоверное двукратное их повышение ($p=0,0014$). На фоне проводимой коррекции синбиотиком уровень лептина снизился на 13,4% ($p=0,0342$), хотя значения оставались выше показателей группы контроля, а содержание грелина имело тенденцию к увеличению. При добавлении в питание синбиотика существенных изменений в содержании рецепторов к лептину и грелину в жировой ткани не наблюдалось. Исследование плотности рецепторов к лептину и грелину в тканях головного мозга не выявило количественных различий, как при диетических нарушениях, так и на фоне проводимой коррекции.

В литературных источниках аналогичное двукратное повышение концентрации лептина в плазме крыс 3-х недельного возраста выявлялось при избыточным потреблении углеводов и жиров по сравнению с потомством контрольной группы, находящемся на сбалансированном питании [26]. Значительное увеличение уровней лептина отмечалось в сыворотке крови хомячков, которые находились на диете с высоким содержанием жиров [189]. Формирующаяся резистентность к лептину ведет к нарушению контроля потребления, способствует гиперфагии и провоцирует развитию ожирения [189]. Снижение функции рецепторов к лептину приводит к снижению чувствительности к повышенным уровням эндогенного лептина [54]. Отсутствие достоверных изменений со стороны центральных лептиновых рецепторов на фоне высокожировой диеты свидетельствует об их низкой

вовлеченности в процесс изменений метаболизма, вызванных несбалансированным питанием. Удаление рецепторов к лептину из тканей головного мозга лишь незначительно изменяет потребление пищи и массу тела в эксперименте [56]. Существует и другая точка зрения, согласно которой раннее начало ожирения развивается у лабораторных мышей с гипоталамической резистентностью к лептину [254].

Проведенный нами корреляционный анализ изменений биохимических параметров сыворотки крови и содержания изучаемых гормонов, а так же их центральных и периферических рецепторов выявил статистически значимую положительную корреляцию между содержанием лептина и уровнем общего холестерина ($r=0,6794$, $p=0,031$), триглицеридов ($r=0,77664$, $p=0,010$) и глюкозы ($r=0,8103$, $p=0,004$). Отрицательная корреляция прослеживалась в отношении значений лептина и ХС ЛПВП ($r= - 0,7461$, $p=0,013$). Полученные результаты указывают на участие лептина в патогенезе дислипидемии.

Корреляционный анализ содержания грелина и биохимических параметров крови выявил отрицательную корреляцию в отношении глюкозы ($r= -0,8716$, $p=0,001$) и триглицеридов ($r=-0,8053$, $p=0,005$), положительная корреляция была установлена с ХС ЛПВП ($r=0,8644$ $p=0,001$).

Между уровнями гормонов лептина и грелина и количественными показателями микробиоты желудочно-кишечного тракта достоверных корреляционных зависимостей установлено не было. Однако корреляционный анализ содержания рецепторов к лептину в жировой ткани и уровня *Lactobacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.* толстого кишечника показал положительную корреляционную зависимость ($r = 0,7404$, $p = 0,014$; и $r=0,8611$, $p=0,001$ соответственно).

Анализ полученных нами данных на фоне высокоуглеводной диеты показал достоверное снижение уровня грелина на 54,1% ($p=0,0126$) и повышение лептина в сыворотке крови на 54,4 % ($p=0,0003$) по сравнению с контролем. Добавление синбиотика в рацион питания способствовало достоверному снижению содержания лептина на 27,8% ($p=0,0005$) и приводило

к некоторому росту значений грелина, однако его характеристики оставались ниже данных контрольной группы. Таким образом, коррекционная методика убедительно продемонстрировала свою эффективность по отношению к содержанию лептина в сыворотке крови крыс. Высокоуглеводная диета способствовала снижению уровня рецепторов к грелину и увеличению плотности рецепторов к лептину в жировой ткани экспериментальных животных. Важно отметить, что после проведенной коррекции питания синбиотиком повысилась плотность рецепторов как к грелину, так и к лептину.

Различные типы питательных веществ оказывают неоднозначное влияние на выработку грелина [21]. Рандомизированное кроссоверное исследование на пациентах показало, что липидный напиток не привел к значимым изменениям, белковый напиток способствовал некоторому снижению уровня циркулирующего грелина, углеводный привел к наибольшему падению уровня грелина после приема пищи, однако по истечению времени показал значительный рост концентрации до уровня выше прандиального [21]. В литературных источниках приводится все больше доказательств, свидетельствует о том, что потеря жировой ткани сопровождается увеличением циркулирующего уровня грелина и уменьшением уровня лептина в сыворотке крови [94; 228; 229; 252; 302].

Проведенный нами корреляционный анализ изменений биохимических параметров сыворотки крови на фоне высокоуглеводной диеты и содержания гормонов показал статистически значимую положительную корреляцию между содержанием лептина в сыворотке крови и уровнем глюкозы ($r=0,9113$, $p=0,000$), а так же общего холестерина ($r=0,6828$, $p=0,030$). Была выявлена отрицательная корреляция между содержанием грелина в сыворотке крови и уровнем глюкозы ($r=-0,6892$, $p=0,027$), триглицеридов ($r=-0,7832$, $p=0,007$), положительная корреляция отмечалась по отношению к ХС ЛПВП ($r=0,8373$; $p=0,003$).

Между уровнями гормонов лептина и грелина и показателями содержания микробиоты желудочно-кишечного тракта достоверных

корреляционных зависимостей установлено не было. Следует отметить, что корреляционный анализ выявил отрицательную корреляцию между содержанием рецепторов к лептину в жировой ткани и уровнем *Clostridium spp.* ($r = -0,7068$ $p=0,022$) и *Staphylococcus spp.* ($r = -0,7068$ $p=0,022$) в кале.

Корреляционный анализ содержания рецепторов к грелину в жировой ткани и уровня *Bifidobacterium spp.* толстого кишечника показал отрицательную корреляционную зависимость ($r = -0,7759$, $p = 0,008$), так же и по отношению к *Clostridium spp.* ($r = -0,6766$ $p=0,032$) и *Staphylococcus spp.* ($r = -0,6766$ $p=0,032$) в кале.

При белковом типе питания установлены разнонаправленные изменения изучаемых гормонов, которые носили характер тенденции: снижение уровня лептина и повышение уровня грелина в сыворотке крови. После дополнительного включения в рацион питания синбиотика отмечалось снижение уровня как грелина, так и лептина в сыворотке крови. В тканях головного мозга крыс уровень рецепторов к грелину и лептину снижался на фоне высокобелкового питания, однако прием препарата про- и пребиотического направления способствовал повышению плотности рецепторов к грелину и лептину в тканях головного мозга.

На фоне высокобелковой диеты плотность рецепторов к грелину и лептину в жировой ткани повышалась, После проведенной коррекционной методики наблюдалось дальнейшее повышение плотности рецепторов к обоим гормонам.

Проведенный нами корреляционный анализ изменений биохимических параметров сыворотки крови и содержания изучаемых гормонов выявил статистически значимую положительную корреляцию между содержанием лептина в сыворотке крови и активностью АЛТ ($r=0,6574$, $p=0,039$), АСТ ($r=0,7279$, $p=0,017$). Отрицательная корреляция прослеживалась в отношении значений лептина в сыворотке крови и общего белка ($r = -0,7092$, $p=0,022$).

Корреляционный анализ содержания грелина в сыворотке крови и биохимических параметров крови выявил отрицательную корреляцию в

отношении триглицеридов ($r = -0,6970$, $p = 0,025$), положительная корреляция была установлена с уровнем общего белка ($r = 0,8576$, $p = 0,002$) и активности АЛТ ($r = 0,7186$, $p = 0,019$).

Положительная корреляция отмечалась в отношении рецепторов к лептину в головном мозге и уровню холестерина в сыворотке крови ($r = 0,8730$, $p = 0,001$). Плотность рецепторов к лептину в жировой ткани положительно коррелировала с показателями Апо-В-протеина ($r = 0,7075$, $p = 0,022$) и коэффициента атерогенности ($r = 0,7127$, $p = 0,021$).

На фоне высокобелкового питания уровень рецепторов к грелину в головном мозге отрицательно коррелировал с ЛПВП ($r = -0,6600$, $p = 0,038$) и положительно в отношении ЛПВП ($r = 0,6568$, $p = 0,039$).

Между содержанием лептина и количественными показателями микробиоты желудочно-кишечного тракта установлена достоверная корреляционная зависимость к *Lactobacillus spp.* в толстом кишечнике ($r = 0,7593$, $p = 0,011$). Корреляционный анализ содержания рецепторов к лептину в жировой ткани и уровня *Bifidobacterium spp.* желудка показал положительную корреляционную зависимость ($r = 0,7767$, $p = 0,008$).

Плотность рецепторов к грелину в тканях головного мозга положительно коррелировал с *Bifidobacterium spp.* толстого кишечника ($r = 0,6561$, $p = 0,039$) и отрицательно с *Lactobacillus spp.* кала ($r = -0,6561$, $p = 0,039$).

Таким образом, проведенное исследование доказывает важную роль микробиоты желудочно-кишечного тракта в развитии метаболических нарушений. Все типы диетических нарушений сопряжены с нарушением микробиоты. Последующая коррекция микрофлоры кишечника с помощью пре- и пробиотиков способствует улучшению биохимических показателей крови, липидного спектра, что свидетельствует о патогенетической роли микробиоты в развитии нарушений (Рисунок 26). Одним из возможных патогенетических механизмов влияния качественного и количественного состава микробного сообщества желудочно-кишечного тракта на метаболизм является влияние микрофлоры на содержание гормонов лептина и грелина, особенно в группах

избыточного потребления жиров и углеводов. Наиболее успешно поддается коррекции на фоне применения синбиотика плотность рецепторов в жировой ткани, что делает патогенетически оправданным включение синбиотика для коррекции нарушений метаболизма, вызванных несбалансированным питанием.

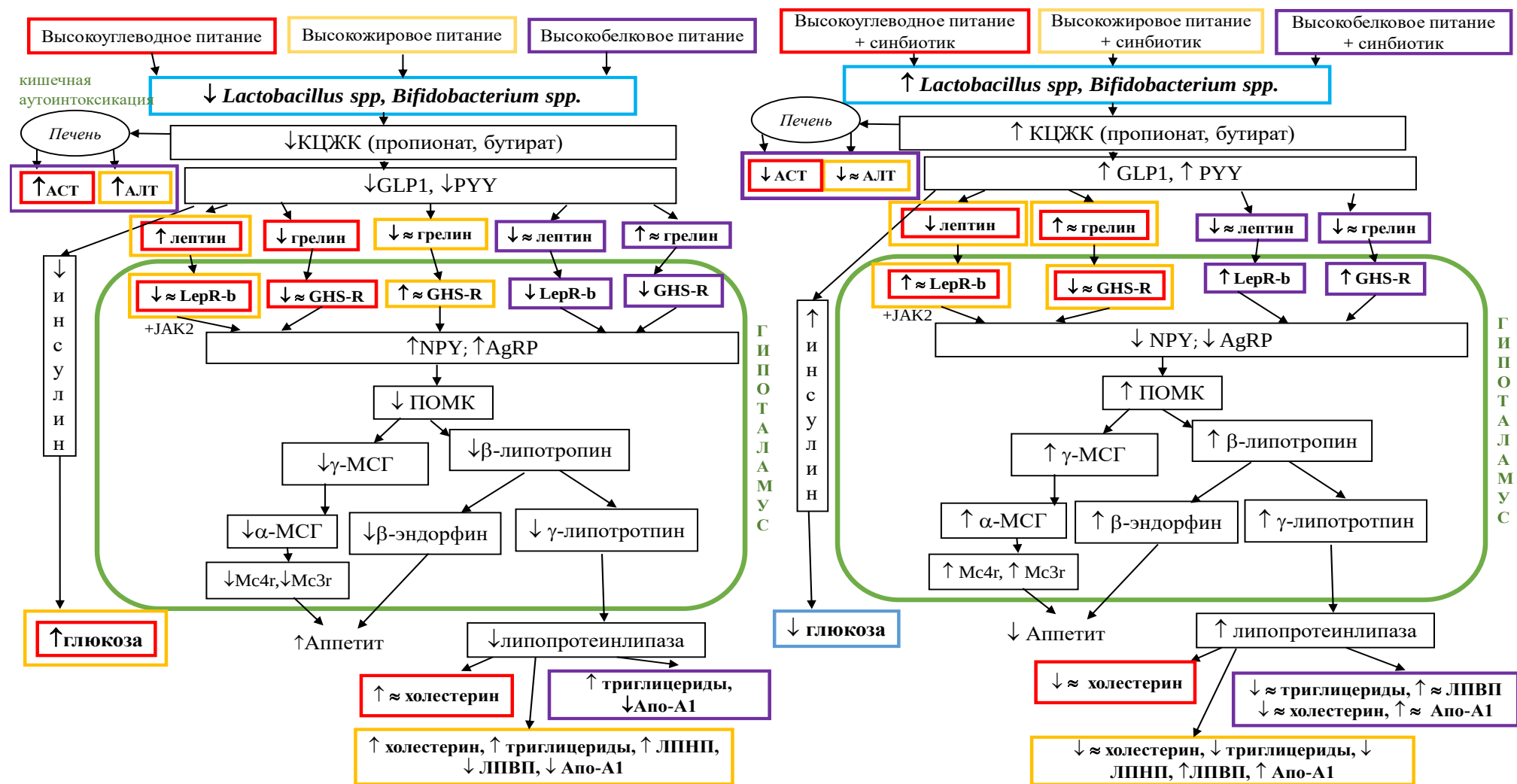


Рисунок 30 – Механизм развития обменных нарушений при различных вариантах несбалансированного питания до и после коррекции микробиоты желудочно-кишечного тракта

Примечание: — высокоуглеводная диета, — высокожировая диета, — высокобелковая диета, — все виды диет;

КЦЖК – короткоцепочечные жирные кислоты; GLP – глюкагоноподобный пептид-1; PYY – пептид тирозин-тирозин; NPY – нейропептид Y; AgRP – агутисвязанный пептид; ПОМК – проопиомеланокортин; МСГ – меланоцитстимулирующий гормон.

Выводы

1. На фоне избыточного потребления жиров происходят гиперхолестеринемия, гипертриглицеридемия и гипергликемия, а также повышение уровня ХС ЛПНП, общего белка, активности АЛТ, снижение ХС ЛПВП и Апо-А1. Высокоуглеводная диета способствует повышению уровня глюкозы и активности АСТ, снижению уровня общего белка. Преимущественное потребление белков сопровождается снижением уровня холестерина, Апо-А1, повышением содержания триглицеридов, общего белка и активности АЛТ. После применения коррекционной синбиотической методики биохимические показатели крови приближаются к значениям контроля.

2. Избыточное преимущественное потребление белков, жиров или углеводов снижает рост *Bifidobacterium* spp. и *Lactobacillus* spp. на всем протяжении желудочно-кишечного тракта. Преимущественно жировой тип питания способствует увеличению роста условно-патогенной микрофлоры (*Staphylococcus* spp., *Clostridium* spp., грибы рода *Candida* spp.), избыточное потребление углеводов приводит к увеличению роста грибов рода *Candida* spp. Коррекция синбиотиком вызывает положительную динамику показателей микрофлоры (увеличение роста *Bifidobacterium* spp. и *Lactobacillus* spp.) и отсутствие роста *Staphylococcus* spp., *Clostridium* spp. и грибов рода *Candida* spp.

3. Избыточное потребление жиров способствует повышению уровня лептина в сыворотке крови и содержания рецепторов к нему в жировой ткани. Одновременно происходит снижение содержания грелина в сыворотке крови и повышение содержания рецепторов к грелину в жировой ткани. На фоне коррекции синбиотиком отмечается тенденция к нормализации уровня изучаемых пептидных гормонов в сыворотке крови, уровень рецепторов к грелину в жировой ткани достигает значений контрольной группы.

4. Избыточное потребление углеводов сопровождается увеличением содержания лептина в сыворотке крови на фоне снижения содержания грелина. Отмечается тенденция к снижению уровня рецепторов к грелину в жировой

ткани. Применение синбиотика способствует нормализации уровня лептина в сыворотке крови, значительному повышению уровня рецепторов к лептину в жировой ткани и снижению уровня рецепторов к грелину в тканях головного мозга.

5. При высокобелковой диете наблюдается снижение уровня лептина на фоне повышения содержания грелина в сыворотке крови. Выявляется тенденция к повышению уровня рецепторов к грелину и лептину в жировой ткани и их снижение в тканях головного мозга. Коррекция синбиотиком не влияет на содержание грелина и лептина в сыворотке крови, однако способствует повышению уровней рецепторов к грелину и лептину в жировой ткани и тенденции к нормализации плотности их рецепторов в головном мозге.

Список сокращений

ЖКТ – желудочно – кишечный тракт

ДЛ – дислипидемия

ХС – холестерин

ЛПНП –липопротеидов низкой плотности

ЛПВП –липопротеидов высокой плотности

ТГ – триглицериды

КА – коэффициент атерогенности

МС – метаболический синдром

АЛТ – аланиновая трансаминаза

АСТ – аспарагиновая трансаминаза

ЩФ – щелочная фосфатаза

ЛПС - липополисахариды

КЦЖК – короткоцепочечные жирные кислоты

GLP – глюкагоноподобный пептид-1

РYY – пептид тирозин-тирозин;

NPY – нейропептид Y

AgRP – агутисвязанный пептид;

ПОМК - проопиомеланокортин

МСГ – меланоцитстимулирующий гормон

Список литературы

1. Айтбаев, К.А. Хроническая болезнь почек: патофизиологическая роль дисбиоза кишечника и ренопротективная эффективность вмешательств по его модуляции / К.А. Айтбаев, И.Т. Муркамилов, Р.Р. Калиев // Российский медицинский журнал. – 2016. – Т. 22, № 3. DOI 10.18821/0869-2106-2016-22-3-157-162
2. Бельмер, С.В. Пребиотики, инулин и детское питание / С.В. Бельмер, Т.В. Гасилина // Метаболическое значение кишечной микрофлоры. – М., 2006.
3. Бондаренко, В.М. Симбиотические энтерококки и проблемы энтерококковой оппортунистической инфекции / В.М. Бондаренко, А.Н. Суворов. – М., 2007. - 30 с.
4. Доронин, А.Ф. Функциональное питание / А.Ф. Доронин, Б.А. Шендеров. - М.: Грантъ, 2002. – 296 с.
5. Ефимов, Б.А. Современные методы оценки качественных и количественных показателей микрофлоры кишечника и влагалища / Б.А. Ефимов, Л.И. Кафарская, В.М. Коршунов // Журнал микробиологии. - 2002. - № 4. - С 72-78.
6. Кольман, Я. Наглядная биохимия: пер. с нем. / Я. Кольман, К.-Г. Рем. - М.: Мир, 2000.
7. Никонов, Е.Л. Микробиота различных локусов организма: научный доклад / Е.Л. Никонов, К.Г. Гуревич. – М., 2017.
8. Нынь, И.В. Настоящее и будущее пробиотической микробиологии / И.В. Нынь, А.М. Королюк // Известия Государственного технологического института. – 2008. - № 3 (29). - С. 70-74.
9. Скрыпник, И.Н. Кишечная микробиота, питание и здоровье: основные аспекты курса последипломного образования EAGEN (Италия, Рим, 10—11 июля 2013 г.) / И.Н. Скрыпник // Сучасна гастроентерологія. - 2013. - № 4. - С. 147-154.

- 10.Ткаченко, Е.И. Питание, микробиоценоз, и интеллект человека / Е.И. Ткаченко, Ю.П. Успенский. – СПб.: СпецЛит, 2006. - 560 с.
- 11.Шендеров, Б.А. Пробиотики, пребиотики и синбиотики. Общие и избранные разделы проблемы / Б.А. Шендеров // Пищевые ингредиенты. Сырье и добавки. - 2005. - № 2. - С. 23-26.
- 12.Эпштейн-Литвак, Р.В. Бактериологическая диагностика дисбактериоза кишечника: метод.рекомендации / Р.В. Эпштейн-Литвак, Ф.Л. Вильшанская. - М., 1977. [Epshteyn-Litvak R.V., Vil'shanskaya F.L. Metodicheskie rekomendatsii. Bakteriologicheskaya diagnostika disbakteriokza kishechnika. M., 1977. (In Russ.)] Albrink, M.J. Interaction of dietary sucrose and fiber on serum lipids in healthy young men fed high carbohydrate diets / M.J. Albrink, I.H. Ullrich // Am. J. Clin. Nutrit. - 1986. - Vol. 43, № 3. - P. 419–28.
- 13.A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing / J. Qin, R. Li, J. Raes [et al.] // Nature. – 2010. – № 464. – P. 59–65.
- 14.A molecular census of arcuate hypothalamus and median eminence cell types / J.N. Campbell, E.Z. Macosko, H. Fenselau [et al.] // Nat. Neurosci. – 2017. – Vol. 20. – P. 484–496.
- 15.A Mouse Model of Metabolic Syndrome: Insulin Resistance, Fatty Liver and Non-alcoholic Fatty Pancreas Disease (NAFPD) in C57BL/6 Mice Fed a High Fat Diet / J.C. Fraulob, R. Ogg-Diamantino, C. Fernandes-Santos [et al.] // J. Clin. Biochem. Nutr. – 2010. – Vol. 46, № 3. – P. 212-23. doi: 10.3164/jcbtn.09-83.
- 16.A mutation in the leptin receptor is associated with Entamoeba histolytica infection in children / P. Duggal, X. Guo, R. Haque [et al.] // J. Clin. Invest. – 2011. – Vol. 121, № 3. – P. 1191-8. doi: 10.1172/JCI45294.
- 17.A subpopulation of macrophages infiltrates hypertrophic adipose t № and is activated by free fatty acids via toll-like receptors 2 and 4 and JNK-dependent pathways / M.T.A. Nguyen, S. Favelyukis, A.K. Nguyen [et al.] // J. Biol. Chem. – 2007. – Vol. 282. – P. 35279–35292.

18. Ablation of ghrelin receptor reduces adiposity and improves insulin sensitivity during aging by regulating fat metabolism in white and brown adipose tissues / L. Lin, P.K. Saha, X. Ma [et al.] // *Aging Cell*. – 2011. – № 10. – P. 996-1010.
19. Absence of intestinal microbiota does not protect mice from diet-induced obesity / C.K. Fleissner, N. Huebel, M.M. Abd El-Bary [et al.] // *Br. J. Nutr.* – 2010. – Vol. 104, № 6. – P. 919–929.
20. Activation of G protein-coupled receptor 43 in adipocytes leads to inhibition of lipolysis and suppression of plasma free fatty acids / H. Ge, X. Li, J. Weiszmann [et al.] // *Endocrinology*. – 2008. – Vol. 149, № 9. – P. 4519-26. doi: 10.1210/en.2008-0059.
21. Acyl and total ghrelin are suppressed strongly by ingested proteins, weakly by lipids, and biphasically by carbohydrates / K.E. Foster-Schubert, J. Overduin, C.E. Prudom [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metabolism*. – 2008. – Vol. 93, № 5. – P. 1971-9. doi: 10.1210/jc.2007-2289.
22. Albert, M.J. Vitamin B12 synthesis by human small intestinal bacteria / M.J. Albert, V.I. Mathan, S.J. Baker // *Nature*. – 1980. – Vol. 283. – P. 781–782.
23. Allison, M.B. Connecting leptin signaling to biological function / M.B. Allison, M.G. Myers // *J. Endocrinol.* – 2014. – Vol. 223. – P. T25–T35.
24. Al-Muzafar, H.M. Probiotic mixture improves fatty liver disease by virtue of its action on lipid profiles, leptin, and inflammatory biomarkers / H.M. Al-Muzafar, K.A. Amin // *BMC Complement. Altern. Med.* – 2017. – Vol. 17, № 1. – P. 43. doi: 10.1186/s12906-016-1540-z.
25. Alterations in the dynamics of circulating ghrelin, adiponectin, and leptin in human obesity / B.O. Yildiz, M.A. Suchard, Ma-Li Wong [et al.] // *PNAS*. – 2004. – Vol. 101, № 28. – P. 10434-10439. <https://doi.org/10.1073/pnas.0403465101>
26. Animal models of obesity and diabetes mellitus / M. Kleinert, C. Clemmensen, S.M. Hofmann [et al.] // *Nature Rev. Endocrinol.* – 2018. – Vol. 14. – P. 140–162.

27. Antiobesity effects of *Bifidobacterium breve* strain B-3 supplementation in a mouse model with high-fat diet-induced obesity / S. Kondo, J.Z. Xiao, T. Satoh [et al.] // *Biosci. Biotechnol. Biochem.* – 2010. – Vol. 74. – P. 1656–61.
28. Antiobesity effect of trans-10, cis-12-conjugated linoleic acid-producing *Lactobacillus plantarum* PL62 on diet-induced obese mice / K. Lee, K. Paek, H.Y. Lee [et al.] // *J. Appl. Microbiol.* – 2007. – Vol. 103. – P. 1140–6.
29. Arcuate Nucleus-Specific Leptin Receptor Gene Therapy Attenuates the Obesity Phenotype of Koletsy (fa k /fa k) Rats / G.J. Morton, K.D. Niswender, Ch.J. Rhodes [et al.] // *Endocrinology*. – 2003. – Vol. 144, № 5. – P. 2016–2024. <https://doi.org/10.1210/en.2002-0115>
30. Association of animal and plant protein intake with all-cause and cause-specific mortality / M. Song, T.T. Fung, F.B. Hu [et al.] // *JAMA Intern Med.* – 2016. – Vol. 176, № 10. – P. 1453-1463. DOI: 10.1001/jamainternmed.2016.4182.
31. Astrocyte leptin receptor (ObR) and leptin transport in adult-onset obese mice / W. Pan [et al.] // *Endocrinology*. – 2008. – Vol. 149. – P. 2798–2806.
32. Axelsson, L. Lactic acid bacteria: Classification and physiology / L. Axelsson // *Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects* / ed. M. Dekker. - Inc., N. Y., 2004. - P. 1-66.
33. Bacterial succession in the colon during childhood and adolescence: molecular studies in a southern Indian village / R. Balamurugan, H.P. Janardhan, S. George [et al.] // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2008. – Vol. 88. – P. 1643–1647.
34. Balance in Ghrelin and Leptin Plasma Levels in Anorexia Nervosa Patients and Constitutionally Thin Women / V. Tolle, M. Kadem, M.-T. Bluet-Pajot [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2003. – Vol. 88, № 1. – P. 109–116. <https://doi.org/10.1210/jc.2002-020645>
35. Barham, D. An improved color reagent for the determination of blood glucose by the oxidase system / D. Barham, P. Trinder // *Analyst*. – 1972. – Vol. 97. – P. 142-145.

36. Berg, A.M. Clostridium difficile infection in the inflammatory bowel disease patient / A.M. Berg, C.P. Kelly, F.A. Farraye // *Inflamm. Bowel Dis.* - 2013. - Vol. 19, № 1. - P. 194-204. doi: 10.1002/ibd.22964.
37. Biological, Physiological, Pathophysiological, and Pharmacological Aspects of Ghrelin / A.J. van der Lely, M. Tschöp, M.L. Heiman, E. Ghigo // *Endocrine Rev.* – 2004. – Vol. 25, № 3. – P. 426–457. <https://doi.org/10.1210/er.2002-0029>
38. Blaser, M.J. What are the consequences of the disappearing human microbiota? / M.J. Blaser, S. Falkow // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2009. – Vol. 7, № 12. – P. 887-94. doi: 10.1038/nrmicro2245.
39. Boesten, R.J. Interactomics in the human intestine: Lactobacilli and Bifidobacteria make a difference / R.J. Boesten, W.M. de Vos // *J. Clin. Gastroenterol.* – 2008. – Vol. 42, Suppl. 3, Pt. 2. – P. S163-7. doi: 10.1097/MCG.0b013e31817dbd62.
40. Bournat, J.C. Mitochondrial dysfunction in obesity / J.C. Bournat, C.W. Brown // *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes. Obes.* – 2010. – Vol. 17, № 5. – P. 446-52. doi: 10.1097/MED.0b013e32833c3026.
41. Brown, L.M. Central Effects of Estradiol in the Regulation of Adiposity / L.M. Brown, D.J. Clegg // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* - 2011. - Vol. 122, № 1-3. - P. 65–73.
42. Burcelin, R. Regulation of metabolism: a cross talk between gut microbiota and its human host / R. Burcelin // *Physiology (Bethesda).* – 2012. – Vol. 27. – P. 300–7. doi: 10.1152/physiol.00023.2012.
43. Butyrate enhances the intestinal barrier by facilitating tight junction assembly via activation of AMP-activated protein kinase in Caco-2 cell monolayers / L. Peng, Z.R. Li, R.S. Green [et al.] // *J. Nutr.* – 2009. – Vol. 139. – P. 1619–25. doi: 10.3945/jn.109.104638.
44. Cani, P.D. Gut microbiota, enteroendocrine functions and metabolism / P.D. Cani, A. Everard, T. Duparc // *Curr. Opin. Pharmacol.* – 2013. – Vol. 13. – P. 935–40. doi: 10.1016/j.coph.2013.09.008.

- 45.Cani, P.D. Involvement of the gut microbiota in the development of low grade inflammation associated with obesity: focus on this neglected partner / P.D. Cani, N.M. Delzenne // *Acta Gastroenterol. Belg.* – 2010. – Vol. 73, № 2. – P. 267-9.
- 46.Cani, P.D. The gut microbiome as therapeutic target / P.D. Cani, N.M. Delzenne // *Pharmacol. Ther.* - 2011. - Vol. 130. - P. 202–12.
- 47.Central inhibition of IKKb/NF-kB signaling attenuates high-fat diet-induced obesity and glucose intolerance / J. Benzler [et al.] // *Diabetes.* – 2015. – Vol. 64. – P. 2015–2027.
- 48.Central nervous system control of food intake and body weight / G.J. Morton, D.E. Cummings, D.G. Baskin [et al.] // *Nature.* – 2006. – Vol. 443. – P. 289–295.
- 49.Cesarean section may increase the risk of both overweight and obesity in preschool children / E. Rutayisire, X. Wu, K. Huang [et al.] // *BMC Pregnancy Childbirth.* – 2016. - № 16. – P. 338. doi: 10.1186/s12884-016-1131-5
- 50.Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice / P.D. Cani, R. Bibiloni, C. Knauf [et al.] // *Diabetes.* – 2008. – Vol. 57. – P. 1470–81. doi: 10.2337/db07-1403.
51. Changes in gut microbiota due to supplemented fatty acids in diet-induced obese mice / J.R. Mujico, G.C. Baccan, A. Gheorghe [et al.] // *Br. J. Nutr.* – 2013. – Vol. 110. – P. 711–20. doi: 10.1017/S0007114512005612.
- 52.Changes in Gut Microbiota in Rats Fed a High Fat Diet Correlate with Obesity-Associated Metabolic Parameters / V. Lecomte, N.O. Kaakoush, Ch.A. Maloney [et al.] // *PLoS One.* – 2015. – Vol. 10, № 5. – P. e0126931. DOI: 10.1371/journal.pone.0126931.
- 53.Chehab, F.F. Leptin as a regulator of adipose mass and reproduction / F.F. Chehab // *Trends Pharmacol. Sci.* – 2000. – Vol. 21, № 8. – P. 309-314.

54. Circadian Dysfunction Induces Leptin Resistance in Mice / N.M. Kettner, S.A. Mayo, J. Hua [et al.] // *Cell Metab.* – 2015. – Vol. 22, № 3. – P. 448-59. doi: 10.1016/j.cmet.2015.06.005.
55. Circulating ghrelin levels as function of gender, pubertal status and adiposity in childhood / S. Bellone, A. Rapa, D. Vivenza [et al.] // *J. Endocrinol. Investig.* – 2002. – Vol. 25, № 5. – P. RC13–RC15.
56. Collective and individual functions of leptin receptor modulated neurons controlling metabolism and ingestion / van de Wall E, Leshan R, Xu AW [et al.] // *Endocrinology.* – 2008. – Vol. 149, N 4. – P. 1773-85.
57. Colman, R.J. Fecal microbiota transplantation as therapy for inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis / R.J. Colman, D.T. Rubin // *J. Crohns. Colitis.* – 2014. - № 8. – P. 1569-1581. doi:10.1016/j.crohns.2014.08.006.
58. Colonic bacterial metabolites and human health / W.R. Russel, L. Hoyles, H.J. Flint, M.E. Dumas // *Curr. Opin. Microbiol.* – 2013. – Vol. 16. – P. 246-254. doi:10.1016/j.mib.2013.07.002.
59. Colonic fermentation influences lower esophageal sphincter function in gastroesophageal reflux disease / T. Piche, S.B. des Varannes, S. Sacher-Huvelin [et al.] // *Gastroenterology.* – 2003. – Vol. 124. – P. 894–902.
60. Colonic health: fermentation and short chain fatty acids / J.M. Wong, R. de Souza, C.W. Kendall [et al.] // *J. Clin. Gastroenterol.* – 2006. – Vol. 40. – P. 235–43. doi: 10.1097/00004836-200603000-00015
61. Comparative analysis of human gut microbiota by barcoded pyrosequencing / A.F. Andersson, M. Lindberg, H. Jakobsson [et al.] // *PLoS One.* – 2008. – Vol. 3, № 7. – P. e2836.
62. Comparative genomics analysis of *Lactobacillus* species associated with weight gain or weight protection / F. Drissi, V. Merhej, E. Angelakis [et al.] // *Nutr. Diabetes.* – 2014. – № 4. – P. e109. doi: 10.1038/nutd.2014.6.
63. Comparative meta-analysis of the effect of *Lactobacillus* species on weight gain in humans and animals / M. Million, E. Angelakis, M. Paul [et al.] //

- Microb. Pathog. – 2012. – Vol. 53. – P. 100–8. doi: 10.1016/j.micpath.2012.05.007.
64. Composition and energy harvesting capacity of the gut microbiota: relationship to diet, obesity and time in mouse models / E.F. Murphy, P.D. Cotter, S. Healy [et al.] // Gut. – 2010. – Vol. 59. – P. 1635-1642.
65. Coulston, A.M. Plasma glucose, insulin and lipid responses to high-carbohydrate low-fat diets in normal humans / A.M. Coulston, G.C. Liu, G.M. Reaven // Metab. Clin. Experim. - 1983. - Vol. 32, № 1. - P. 52-56.
66. Creating and characterizing communities of human gut microbes in gnotobiotic mice / J.J. Faith, F.E. Rey, D. O'Donnell [et al.] // ISME J. – 2010. - № 4. – P. 1094–1098.
67. Culture-independent phylogenetic analysis of the faecal flora of the rat / S.P. Brooks, M. McAllister, M. Sandoz, M.L. Kalmokoff // Can. J. Microbiol. – 2003. – Vol. 49. – P. 589–601. doi: 10.1139/w03-075
68. Cummings, D.E. Gastrointestinal regulation of food intake / D.E. Cummings, J. Overduin // J. Clin. Invest. – 2007. – Vol. 117, № 1. – P. 13–23. <https://doi.org/10.1172/JCI30227>.
69. Darzi, J. Do SCFA have a role in appetite regulation? / J. Darzi, G.S. Frost, M.D. Robertson // Proc. Nutr. Soc. – 2011. – Vol. 70. – P. 119–128.
70. De Vriese, C. Focus on the short- and long-term effects of ghrelin on energy homeostasis / C. De Vriese, J. Perret, C. Delporte // Nutrition. – 2010. – Vol. 26, № 6. – P. 579-584. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2009.09.013>
71. Decreased fat storage by *Lactobacillus paracasei* is associated with increased levels of angiopoietin-like 4 protein (ANGPTL4) / L. Aronsson, Y. Huang, P. Parini [et al.] // PLoS One. – 2010. – Vol. 5, № 9. – P. pii: e13087. doi: 10.1371/journal.pone.0013087.
72. Density distribution of free fatty acid receptor 2 (FFA2)- expressing and GLP-1-producing enteroendocrine L cells in human and rat lower intestine, and

- increased cell numbers after ingestion of fructo-oligosaccharide / I. Kaji, S. Karaki, R. Tanaka, A. Kuwahara // *J. Mol. Hist.* – 2011. – Vol. 42. – P. 27–38.
73. Development of the gut microbiota in southern Indian infants from birth to six months: a molecular analysis / J. Kabeerdoss, S. Ferdous, R. Balamurugan [et al.] // *J. Nutr. Sci.* - 2013. – № 2. – P. e18. doi: 10.1017/jns.2013.6.
74. Developmental changes of gut microflora and enzyme activity in rat pups exposed to fat-rich diet / S. Mozes, D. Bujnakova, Z. Sefcikova, V. Kmet // *Obesity (Silver Spring)*. – 2008. – Vol. 16. – P. 2610–5. doi: 10.1038/oby.2008.435.
75. DiBaise, J.K. FRCPC3 Division of Gastroenterology Impact of the Gut Microbiota on the Development of Obesity: Current Concepts / J.K. DiBaise, D.N. Frank, R. Mathur // *Am. J. Gastroenterol.* – 2012. – Suppl.
76. Dietary lipid content reorganizes gut microbiota and probiotic *L. rhamnosus* attenuates obesity and enhances catabolic hormonal milieu in zebrafish / S. Falcinelli, A. Rodiles, A. Hatef [et al.] // *Sci. Rep.* – 2017. – № 7. – P. 5512.
77. Diet-induced obese mice retain endogenous leptin action / N. Ottaway, P. Mahbod, B. Rivero [et al.] // *Cell Metab.* – 2015. – Vol. 21. – P. 877–882.
78. Diet-induced obesity is linked to marked but reversible alterations in the mouse distal gut microbiome / P.J. Turnbaugh, F. Backhed, L. Fulton, J.I. Gordon // *Cell Host Microbe*. – 2008. – Vol. 3, № 4. – P. 213–223.
79. Differential adaptation of human gut microbiota to bariatric surgery-induced weight loss: Links with metabolic and low-grade inflammation markers / J.P. Furet, L.C. Kong, J. Tap [et al.] // *Diabetes*. – 2010. – Vol. 59. – P. 3049–57.
80. Differential Responses of Circulating Ghrelin to High-Fat or High-Carbohydrate Meal in Healthy Women / P. Monteleone, R. Bencivenga, N. Longobardi [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2003. – Vol. 88, № 11. – P. 5510–5514. <https://doi.org/10.1210/jc.2003-030797>
81. Disruption of peripheral leptin signaling in mice results in hyperleptinemia without associated metabolic abnormalities / K. Guo, J.E. McMinn, T. Ludwig [et al.] // *Endocrinology*. – 2007. – Vol. 148, № 8. – P. 3987–97.

82. Distinct composition of gut microbiota during pregnancy in overweight and normal-weight women / M.C. Collado, E. Isolauri, K. Laitinen, S. Salminen // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2008. – Vol. 88. – P. 894–9.
83. Diversity of the human intestinal microbial flora / P.B. Eckburg, E.M. Bik, C.N. Bernstein [et al.] // *Science*. – 2005. – Vol. 308, № 5728. – P. 1635–1638.
84. Dockray, G.J. Gastrointestinal hormones and the dialogue between gut and brain / G.J. Dockray // *J. Physiol.* – 2014. doi: 10.1113/jphysiol.2014.270850.
85. Drastic changes in fecal and mucosa-associated microbiota in adult patients with short bowel syndrome / F. Joly, C. Mayeur, A. Bruneau [et al.] // *Biochimie*. – 2010. – Vol. 92. – P. 753–61. doi: 10.1016/j.biochi.2010.02.015.
86. Du, F. Food intake, energy balance and serum leptin concentrations in rats fed low-protein diets / F. Du, D.A. Higginbotham, B.D. White // *J. Nutr.* – 2000. – Vol. 130, № 3. – P. 514–21.
87. Duncan, S.H. Cultivable bacterial diversity from the human colon / S.H. Duncan, P. Louis, H.J. Flint // *Lett. Appl. Microbiol.* – 2007. – Vol. 44, № 4. – P. 343–350. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2007.02129.x>
88. Edwards, C.A. Intestinal flora during the first months of life: new perspectives / C.A. Edwards, A.M. Parrett // *Br. J. Nutrit.* - 2002. – Vol. 88, Suppl. 1. – P. S11–S18.
89. Effect of dietary intervention with different pre- and probiotics on intestinal bacterial enzyme activities / V. Preter, H. Raemen, L. Cloetens [et al.] // *Eur. J. Clin. Nutr.* - 2007. - Vol. 10. - P. 1038–1046.
90. Effect of low carbohydrate high protein (LCHP) diet on lipid metabolism, liver and kidney function in rats / R.B. Kostogrys, M. Franczyk-Żarów, E. Maślak [et al.] // *Environ. Toxicol. Pharmacol.* – 2015. – Vol. 39, № 2. – P. 713–719. DOI: 10.1016/j.etap.2015.01.008.
91. Effects of a high protein diet with and without a multi-strain probiotic and prebiotic on microbiota and gastrointestinal wellness in older women: a randomized, doubleblind, placebo-controlled crossover study / A.L. Ford, C.

- MacPherson, S.A. Girard [et al.] // *FASEB J.* – 2017. – Vol. 31, № 1. – P. 443-448.
92. Effects of diet-induced obesity and voluntary exercise in a tauopathy mouse model: implications of persistent hyperleptinemia and enhanced astrocytic leptin receptor expression / S. Koga [et al.] // *Neurobiol. Dis.* – 2014. – Vol. 71. – P. 180–192.
93. Effects of targeted delivery of propionate to the human colon on appetite regulation, body weight maintenance and adiposity in overweight adults / E.S. Chambers, A. Viardot, A. Psichas [et al.] // *Gut.* – 2015. – Vol. 64, № 11. – P. 1744-54. doi: 10.1136/gutjnl-2014-307913.
94. Elevated circulating level of ghrelin in cachexia associated with chronic heart failure: relationships between ghrelin and anabolic/catabolic factors / N. Nagaya, M. Uematsu, M. Kojima [et al.] // *Circulation.* – 2001. – Vol. 104. – P. 2034–2038.
95. Elevated hypothalamic TCPTP in obesity contributes to cellular leptin resistance / K. Loh, A. Fukushima, X. Zhang [et al.] // *Cell Metab.* – 2011. – № 14. – P. 684–699.
96. El-Sayed Moustafa, J.S. From obesity genetics to the future of personalized obesity therapy / J.S. El-Sayed Moustafa, P. Froguel // *Nat. Rev. Endocrinol.* – 2013. – Vol. 9, № 7. – P. 402-13. doi: 10.1038/nrendo.2013.57.
97. Enterotypes of the human gut microbiome / M. Arumugam, J. Raes, E. Pelletier [et al.] // *Nature.* – 2011. - № 473. – P. 174–180.
98. Erdmann, J. Differential effect of protein and fat on plasma ghrelin levels in man / J. Erdmann, F. Lippl, V. Schusdziarra // *Regul. Peptides.* – 2003. – Vol. 116, № s 1–3. – P. 101-107. [https://doi.org/10.1016/S0167-0115\(03\)00195-2](https://doi.org/10.1016/S0167-0115(03)00195-2)
99. Euglycemic hyperinsulinemia, but not lipid infusion, decreases circulating ghrelin levels in humans / M. Möhlig, J. Spranger, B. Otto [et al.] // *J. Endocrinol. Invest.* – 2002. – Vol. 25, № 11. – P. RC36–RC38.

100. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.86. – Strasbourg, 1986. – 52 p.
101. Exposure to household furry pets influences the gut microbiota of infant at 3-4 months following various birth scenarios / H.M. Tun, T. Konya, T.K. Takaro [et al.] // *Microbiome*. – 2017. – Vol. 5, № 1. – P. 40. doi: 10.1186/s40168-017-0254-x.
102. Exposure to maternal cafeteria diets during the suckling period has greater effects on fat deposition and Sterol Regulatory Element Binding Protein-1c (SREBP-1c) gene expression in rodent offspring compared to exposure before birth / M.A. Vithayathil, J.R. Gugusheff, Z.Y. Ong [et al.] // *Nutr. Metab.* – 2018. – Vol. 15. – P. 17.
103. Expression of short-chain fatty acid receptor GPR41 in the human intestine / H. Tazoe, Y. Otomo, S.I. Karaki [et al.] // *Biomed. Res.* – 2009. – Vol. 30, № 3. – P. 149-56.
104. Faecal bifidobacteria in Indian neonates & the effect of asymptomatic rotavirus infection during the first month of life / R. Balamurugan, F. Magne, D. Balakrishnan [et al.] // *Ind. J. Med. Res.* – 2010. – Vol. 132. – P. 721–727.
105. FAO/WHO. Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. - London, Ontario, Canada, 2002.
106. Fasting Glucose Level and the Risk of Incident Atherosclerotic Cardiovascular Diseases / C. Park, E. Guallar, J.A. Linton [et al.] // *Diabetes Care*. - 2013. - Vol. 36, № 7. - P. 1988–93. doi: 10.2337/dc12-1577.
107. Fat Intake Affects Adiposity, Comorbidity Factors, and Energy Metabolism of Sprague-Dawley Rats / L. Ghibaudi, J. Cook, C. Farley [et al.] // *Obes. Res.* – 2002. – Vol. 10, № 9. – P. 956-63. <https://doi.org/10.1038/oby.2002.130>
108. Figlewicz, D.P. Energy regulatory signals and food reward / D.P. Figlewicz, A.J. Sipols // *Pharmacol. Biochem. Behav.* – 2010. – Vol. 97, № 1. – P. 15-24. doi: 10.1016/j.pbb.2010.03.002.

109. Flak, J.N. Minireview: CNS mechanisms of leptin action / J.N. Flak, M.G. Myers // *Mol. Endocrinol.* – 2016. – Vol. 30. – P. 3–12.
110. Frank, D.N. Gastrointestinal microbiology enters the metagenomics era / D.N. Frank, N.R. Pace // *Curr. Opin. Gastroenterol.* – 2008. - Vol. 24, № 1. – P. 4–10.
111. Free fatty acid receptors: emerging targets for treatment of diabetes and its complications / R. Lee Kennedy, V. Vangaveti, G. Jarrod [et al.] // *Ther. Adv. Endocrinol. Metab.* – 2010. – Vol. 1, № 4. – P. 165-175.
112. Functional analysis of colonic bacterial metabolism: relevant to health? / H.M. Hamer, V. De Preter, K. Windey, K. Verbeke // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2012. – Vol. 302. – P. G1–9.
113. Functional characterization of human receptors for short chain fatty acids and their role in polymorphonuclear cell activation / E. Le Poul, C. Loison, S. Struyf [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2003. – Vol. 278. – P. 25481–25489.
114. Gamma-aminobutyric Acid Enriched Rice Bran Diet Attenuates Insulin Resistance and Balances Energy Expenditure via Modification of Gut Microbiota and Short-Chain Fatty Acids / X. Si, W. Shang, Z. Zhou [et al.] // *J. Agric Food Chem.* – 2018. – Vol. 66, № 4. – P. 881-890. doi: 10.1021/acs.jafc.7b04994.
115. Genetic deletion of ghrelin does not decrease food intake but influences metabolic fuel preference / K.E. Wortley, K.D. Anderson, K. Garcia [et al.] // *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.* - 2004.
116. Ghrelin and growth hormone secretagogue receptor are expressed in the rat adrenal cortex: evidence that ghrelin stimulates the growth, but not the secretory activity of adrenal cells / P.G. Andreis, L.K. Malendowicz, M.T. Giuliano [et al.] // *FEBS Lett.* – 2003. – Vol. 536, № 1-3. – P. 173-9. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(03\)00051-6](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(03)00051-6)
117. Ghrelin cells replace insulin-producing β cells in two mouse models of pancreas development / C.L. Prado, A.E. Pugh-Bernard, L. Elghazi [et al.] //

- PNAS. – 2004. – Vol. 101, № 9. – P. 2924-2929.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0308604100>
118. Ghrelin drives GH secretion during fasting in man / A.F. Muller, S.W. Lamberts, J.A. Janssen [et al.] // Eur. J. Endocrinol. – 2002. – Vol. 146, № 2. – P. 203–207.
 119. Ghrelin immunoreactivity in human plasma is suppressed by somatostatin / H. Nørrelund, T.K. Hansen, H. Ørskov [et al.] // Clin. Endocrinol. – 2002. – Vol. 57, № 4. – P. 539-546. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2265.2002.01649.x>
 120. Ghrelin Is Not Necessary for Adequate Hormonal Counterregulation of Insulin-Induced Hypoglycemia / P. Lucidi, G. Murdolo, C. Di Loreto [et al.] // Diabetes. – 2002. – Vol. 51, № 10. – P. 2911-2914. <https://doi.org/10.2337/diabetes.51.10.2911>
 121. Ghrelin levels from fetal life through early adulthood: relationship with endocrine and metabolic and anthropometric measures / L. Soriano-Guillén, V. Barrios, J.A. Chowen [et al.] // J. Pediatr. – 2004. – Vol. 144, № 1. – P. 30-5.
 122. Ghrelin Secretion in Humans Is Sexually Dimorphic, Suppressed by Somatostatin, and Not Affected by the Ambient Growth Hormone Levels / A.L. Barkan, E.V. Dimaraki, S.K. Jessup [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2003. – Vol. 88, № 5. – P. 2180–2184. <https://doi.org/10.1210/jc.2002-021169>
 123. Ghrelin Secretion Is Inhibited by Either Somatostatin or Cortistatin in Humans / F. Broglio, P. van Koetsveld, A. Benso [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2002. – Vol. 87, № 10. – P. 4829–4832. <https://doi.org/10.1210/jc.2002-020956>
 124. Ghrelin secretion is inhibited by glucose load and insulin-induced hypoglycaemia but unaffected by glucagon and arginine in humans / F. Broglio, C. Gottero, F. Prodham [et al.] // Clin. Endocrinol. – 2004. – Vol. 61, № 4. – P. 503-509 2004. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2004.02121.x>

125. Ghrelin secretion is modulated in a nutrient- and gender-specific manner / Y. Greenman, N. Golani, S. Gilad [et al.] // Clin. Endocrinol. – 2004. – Vol. 60, № 3. – P. 382-388. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2004.01993.x>
126. Ghrelin signaling and obesity: at the interface of stress, mood and food reward / H. Schellekens, B.C. Finger, T.G. Dinan, J.F. Cryan // Pharmacol. Ther. – 2012. – Vol. 135. – P. 316–326.
127. Ghrelin, A New Gastrointestinal Endocrine Peptide that Stimulates Insulin Secretion: Enteric Distribution, Ontogeny, Influence of Endocrine, and Dietary Manipulations / H.-M. Lee, G. Wang, E.W. Englander [et al.] // Endocrinology. – 2002. – Vol. 143, № 1. – P. 185–190. <https://doi.org/10.1210/endo.143.1.8602/> 2002
128. Ghrelin, a widespread hormone: insights into molecular and cellular regulation of its expression and mechanism of action / O. Gualillo, F. Lago, J. Gómez-Reino [et al.] // FEBS Lett. – 2003. – Vol. 552, № 2-3. – P. 105-9. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(03\)00965-7](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(03)00965-7)
129. Ghrelin, an endogenous ligand for the growth hormone-secretagogue receptor, is expressed in the human adrenal cortex / C. Tortorella, C. Macchi, R. Spinazzi [et al.] // Int. J. Mol. Med. – 2003. – Vol. 12, № 2. – P. 213-7. <https://doi.org/10.3892/ijmm.12.2.213>
130. Gibson, G.R. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics / G.R. Gibson, M. Roberfroid // J. Nutr. - 1995. - Vol. 1256. - P. 1401-1412.
131. Goldin, B.R. The effect of milk and lactobacillus feeding on human intestinal bacterial enzyme activity / B.R. Goldin, S.L. Gorbach // Am J .Clin. Nutr. - 1984. - Vol. 39, № 5. - P. 756-761.
132. Gomez, G. Nutrient inhibition of ghrelin secretion in the fasted rat / G. Gomez, E.W. Englander, G.H. Greeley Jr. // Regul. Peptides. – 2004. – Vol. 117, № 1. – P. 33-36. <https://doi.org/10.1016/j.regpep.2003.09.003>

133. Goodman, A.L. Our unindicted coconspirators: human metabolism from a microbial perspective / A.L. Goodman, J.I. Gordon // *Cell Metab.* – 2010. - № 12. – P. 111–116.
134. Guilmeau, S. Gastric leptin: a new manager of gastrointestinal function / S. Guilmeau, M. Buyse, A. Badohttps // *Curr. Opin. Pharmacol.* – 2004. – Vol. 4, № 6. – P. 561-566. doi.org/10.1016/j.coph.2004.06.008
135. Gut bacteria and Health foods-the European perspective / M. Saarela, L. Crittenden, S. Salminen, T. Mattila-Sandholm // *Int. J. Food Microbiol.* - 2002. - Vol. 78. - P. 99-117.
136. Gut microbiota and metabolic syndrome / F. D'Aversa, A. Tortora, G. Ianiro [et al.] // *Intern Emerg. Med.* – 2013. – № 8, Suppl. 1. – P. S11-5. doi: 10.1007/s11739-013-0916-z
137. Gut microbiota fermentation of prebiotics increases satietogenic and incretin gut peptide production with consequences for appetite sensation and glucose response after a meal / P.D. Cani, E. Lecourt, E.M. Dewulf [et al.] // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2009. – Vol. 90. – P. 1236–43.
138. Handjieva-Darlenska, T. The effect of high-fat diet on plasma ghrelin and leptin levels in rats / T. Handjieva-Darlenska, N. Boyadjieva // *J. Physiol. Biochem.* – 2009. – Vol. 65, № 2. - P. 157–164.
139. Hattori, M. The human intestinal microbiome: a new frontier of human biology / M. Hattori, T.D. Taylor // *DNA Res.* – 2009. - Vol. 16, № 1. – P. 1–12.
140. Hays, N.P. Prevention and treatment of type 2 diabetes: Current role of lifestyle, natural product, and pharmacological interventions / N.P. Hays, P.R. Galassetti, R.H. Coker // *Pharmacol. Ther.* – 2008. – Vol. 118. – P. 181–91.
141. Heaton, K.W. The role of the large intestine in cholesterol gallstone formation / K.W. Heaton // *Bile acids in hepatobiliary diseases* / ed. T.C. Northfield, H.A. Ahmed, R.P. Jazrawl, P.L. Zeutler-Munro. - Kluwer Publisher, Dordrecht. 2000. - P. 192-199.

142. High Dietary Protein Intake Potentiates Metabolic and Renovascular Risks in Diabetic Rats / A. Magnus, M. Chukwudike¹, O. Oluwayemisi Ademidun [et al.] // *EC Nutrition*. – 2017. - № 6.6. – P. 198-206.
143. High fat intake leads to acute postprandial exposure to circulating endotoxin in type 2 diabetic subjects / A.L. Harte, M.C. Varma, G. Tripathi [et al.] // *Diabetes Care*. – 2012. – Vol. 35. – P. 375-382.doi:10.2337/dc11- 1593.
144. High-carbohydrate, high-fat diet-induced metabolic syndrome and cardiovascular remodeling in rats / S.K. Panchal, H. Poudyal, A. Iyer [et al.] // *Cardiovasc. Pharmacol.* – 2011. – Vol. 57, № 5. – P. 611-24. doi: 10.1097/FJC.0b013e31821b1379.
145. High-fat diet determines the composition of the murine gut microbiome independently of obesity / M.A. Hildebrandt, C. Hoffmann, S.A. Sherrill-Mix [et al.] // *Gastroenterology*. – 2009. – Vol. 137. – P. 1716–24. doi: 10.1053/j.gastro.2009.08.042.
146. High-fat diet-induced obesity is attenuated by probiotic strain *Lactobacillus paracasei* ST11 (NCC2461) in rats / M. Tanida, J. Shen, K. Maeda [et al.] // *Obesity Res. Clin. Pract.* – 2008. – № 2. – P. 159–169. doi: 10.1016/j.orcp.2008.04.003
147. Host-gut microbiota metabolic interactions / J.K. Nicholson, E. Holmes, J. Kinross [et al.] // *Science*. – 2012. – Vol. 336. – P. 1262–7. doi: 10.1126/science.1223813.
148. Human colonic microbiota associated with diet, obesity and weight loss / S.H. Duncan, G.E. Lopley, G. Holtrop [et al.] // *Int. J. Obesity*. – 2008. – Vol. 32. – P. 1720–4.
149. Human gut microbiome viewed across age and geography / T. Yatsunenko, F.E. Rey, M.J. Manary [et al.] // *Nature*. – 2012. – № 486. – P. 222–227.
150. Human originated bacteria, *Lactobacillus rhamnosus* PL60, produce conjugated linoleic acid and show anti-obesity effects in diet-induced obese mice /

- H.Y. Lee, J.H. Park, S.H. Seok [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2006. – № 1761. – P. 736–744.
151. Huttenhower, C. The Human Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome / C. Huttenhower // *Nature.* – 2012. – Vol. 486. – P. 207–14. doi: 10.1038/nature11234.
 152. Hyperglycaemia suppresses the secretion of ghrelin, a novel growth-hormone-releasing peptide: responses to the intravenous and oral administration of glucose / E. Nakagawa, N. Nagaya, H. Okumura [et al.] // *Clin. Sci.* – 2002. – Vol. 103, № 3. – P. 325–328. DOI: 10.1042/cs1030325
 153. Impact of a synbiotic food on the gut microbial ecology and metabolic profiles / B. Vitali, M. Ndagijimana, F. Cruciani [et al.] // *BMC Microbiol.* – 2010. – Vol. 10. – P. 4. doi: 10.1186/1471-2180-10-4.
 154. Impact of administered bifidobacterium on murine host fatty acid composition / R. Wall, R.P. Ross, F. Shanahan [et al.] // *Lipids.* – 2010. – Vol. 45. – P. 429–436.
 155. Implication of inflammatory signaling pathways in obesity-induced insulin resistance / J.F. Tanti, F. Ceppo, J. Jager, F. Berthou // *Front Endocrinol. (Lausanne).* – 2013. – № 3. – P. 181. doi: 10.3389/fendo.2012.00181.
 156. Implication of inflammatory signaling pathways in obesity-induced insulin resistance / J.-F. Tanti, F. Ceppo, J. Jager, F. Berthou // *Front. Endocrinol.* – 2013. <https://doi.org/10.3389/fendo.2012.00181>
 157. Improved glucose control and reduced body fat mass in free fatty acid receptor 2-deficient mice fed a high-fat diet / M. Bjursell, T. Admyre, M. Goransson [et al.] // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 2011. – Vol. 300. – P. E211–20. doi: 10.1152/ajpendo.00229.2010. pmid:20959533
 158. Improvement of glucose tolerance and hepatic insulin sensitivity by oligofructose requires a functional glucagon-like peptide-1 receptor / P.D.

- Cani, C. Knauf, M.A. Iglesias [et al.] // *Diabetes*. – 2006. – Vol. 55. – P. 1484–90.
159. Increase in plasma endotoxin concentrations and the expression of Toll-like receptors and suppressor of cytokine signaling-3 in mononuclear cells after a high-fat, high-carbohydrate meal: implications for insulin resistance / H. Ghanim, S. Abuaysheh, C.L. Sia [et al.] // *Diabetes Care*. – 2009. – Vol. 32. – P. 2281-2287. doi:10.2337/dc09-0979.
 160. Individual differences in BMR and energetic strategies of striped hamsters in response to a high fat diet / L.L. Shi, S. Tan, J. Wen, Z. Zhao // *J. Acta Teriol. Sin.* – 2017. – Vol. 37. – P. 179–188.
 161. Influence of thyroid status and growth hormone deficiency on ghrelin / J.E. Caminos, L.M. Seoane, S.A. Tovar [et al.] // *Eur. J. Endocrinol.* – 2002. – Vol. 147, № 1. – P. 159–163.
 162. Inhibition of Food Intake in Obese Subjects by Peptide YY3–36 / R.L. Batterham, M.A. Cohen, S.M. Ellis [et al.] // *Engl. J. Med.* – 2003. – Vol 349. – P. 941-948. DOI: 10.1056/NEJMoa030204
 163. Insulin, Unlike Food Intake, Does Not Suppress Ghrelin in Human Subjects / A. Caixás, C. Bashore, W. Nash [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2002. – Vol. 87, № 4. – P. 1902–1906. <https://doi.org/10.1210/jcem.87.4.8538>
 164. Interplay between weight loss and gut microbiota composition in overweight adolescents / A. Santacruz, A. Marcos, J. Warnberg [et al.] // *Obesity*. – 2009. – Vol. 17. – P. 1906–15.
 165. Intestinal deletion of leptin signaling alters activity of nutrient transporters and delayed the onset of obesity in mice / A. Tavernier, J.-B. Cavin, M. Le Gall [et al.] // *FASEB J.* – 2014. – Vol. 28, № 9. – P. 4100–4110. doi: 10.1096/fj.14-255158
 166. Intestinal microbiota, diet and health / S.E. Power, P.W. O'Toole, C. Stanton [et al.] // *Br. J. Nutr.* – 2013. – № 1. – P. 1–16.

167. Intestinal microflora and body mass index during the first three years of life: an observational study / C. Vael, S.L. Verhulst, V. Nelen [et al.] // *Gut Pathog.* – 2011. – № 3. – P. 8.
168. Intestinal mucosal adherence and translocation of commensal bacteria at the early onset of type 2 diabetes: molecular mechanisms and probiotic treatment / J. Amar, C. Chabo, A. Waget [et al.] // *Mol. Med.* – 2011. - № 3. – P. 559-572. DOI 10.1002/emmm.
169. Involvement of endogenous glucagon-like peptide-1(7–36) amide on glycaemia-lowering effect of oligofructose in streptozotocin-treated rats / P.D. Cani, C.A. Daubioul, B. Reusens [et al.] // *J. Endocrinol.* – 2005. – Vol. 185. – P. 457–65.
170. Involvement of gut microbiota in the development of low-grade inflammation and type 2 diabetes associated with obesity / P.D. Cani, M. Osto, L. Geurts, A. Everard // *Gut Microbes.* – 2012. – № 3. – P. 279-288. doi:10.4161/gmic.19625.
171. Jejunal Leptin-PI3K Signaling Lowers Glucose Production / B.A. Rasmussen, D.M. Breen, F.A. Duca [et al.] // *Cell Metab.* - 2014. – Vol. 19, № 1. – P. 155-161.
172. Jenkins, D.J.A. Inulin, Oligofructose and Intestinal Function / D.J.A. Jenkins, C.W.C. Kendall, V. Vuksan // *J. Nutr.* - 1999. - Vol. 129. – P. 1431S–1433S.
173. Joint association of birth weight and physical activity/sedentary behavior with obesity in children ages 9-11 years from 12 countries / Y. Qiao, T. Zhang, H. Liu [et al.] // *Obesity (Silver Spring).* – 2017. – Vol. 25, № 6. – P. 1091-1097. doi: 10.1002/oby.21792.
174. Kang, J.H. Effects of *Lactobacillus gasseri* BNR17 on body weight and adipose tissue mass in diet-induced overweight rats / J.H. Kang, S.I. Yun, H.O. Park // *J. Microbiol.* – 2010. – Vol. 48. – P. 712–4.

175. Katan, M. Randomized clinical trials on the effects of dietary fat and carbohydrate on plasma lipoproteins and cardiovascular disease / M. Katan, F.M. Sacks // *Am. J. Med.* – 2002. – Vol. 113, Suppl. 9B. – P. 13S-24S.
176. Kelly, G. Inulin-type prebiotics—a review: part 1 / G. Kelly // *Altern. Med. Rev.* - 2008. – Vol. 13. – P. 315–329.
177. Kleerebezem, M. Probiotic and gut lactobacilli and bifidobacteria: molecular approaches to study diversity and activity / M. Kleerebezem, E.E. Vaughan // *Annu Rev. Microbiol.* – 2009. – Vol. 63. – P. 269-90. doi: 10.1146/annurev.micro.091208.073341.
178. Knockout of l-Histidine Decarboxylase Prevents Cholangiocyte Damage and Hepatic Fibrosis in Mice Subjected to High-Fat Diet Feeding via Disrupted Histamine/Leptin Signaling / L. Kennedy, L. Hargrove, J. Demieville [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 2018. – Vol. 188, № 3. – P. 600-615. doi: 10.1016/j.ajpath.2017.11.016.
179. *Lactobacillus* sepsis associated with probiotic therapy / M.H. Land, K. Rouster-Stevens, C.R. Woods [et al.] // *Pediatrics.* - 2005. - Vol. 111, № 1. - P. 178-181.
180. *Lactobacillus* species shift in distal esophagus of high-fat-diet-fed rats / X. Zhao, X.W. Liu, N. Xie [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2011. – Vol. 17. – P. 3151–7. doi: 10.3748/wjg.v17.i26.3151.
181. Lebenthal, E. Пробиотики: концепция лечебного применения, ожидающая своего признания / E. Lebenthal, Y. Lebenthal // *Журн. микробиол.* – 2003. - № 4. - С. 88-90.
182. Leptin action via neurotensin neurons controls orexin, the mesolimbic dopamine system and energy balance / G.M. Leininger, D.M. Opland, Y.H. Jo [et al.] // *Cell Metab.* – 2011. – Vol. 14. – P. 313–323.
183. Leptin activates distinct projections from the dorsomedial and ventromedial hypothalamic nuclei / J.K. Elmquist, R.S. Ahima, C.F. Elias [et

- al.] // PNAS. – 1998. – Vol. 95, № 2. – P. 741-746.
<https://doi.org/10.1073/pnas.95.2.741>
184. Leptin and insulin act on POMC neurons to promote the browning of white fat / G.T. Dodd [et al.] // Cell. – 2015. – Vol. 160. – P. 88–104.
 185. Leptin in the 21st Century. Leptin resistance and diet-induced obesity: central and peripheral actions of leptin // Metabolism. – 2015. – Vol. 64, № 1. – P. 35-46. doi.org/10.1016/j.metabol.2014.10.015
 186. Leptin Modulates Orexigenic Effects of Ghrelin and Attenuates Adiponectin and Insulin Levels and Selectively the Dark-Phase Feeding as Revealed by Central Leptin Gene Therapy / N. Ueno, M.G. Dube, A. Inui [et al.] // Endocrinology. – 2004. - Vol. 145, № 9. – P. 4176–4184.
<https://doi.org/10.1210/en.2004-0262>
 187. Leptin receptor neurons in the dorsomedial hypothalamus are key regulators of energy expenditure and body weight, but not food intake / K. Rezai-Zadeh, S. Yu, Y. Jiang [et al.] // Mol. Metab. – 2014. – № 3. – P. 681–693.
 188. Leptin resistance and diet-induced obesity: central and peripheral actions of leptin / N. Sáinz, J. Barrenetxe, M.J. Moreno-Aliaga, J. Alfredo Martínez. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2014.10.015>
 189. Leptin resistance was involved in susceptibility to overweight in the striped hamster re-fed with high fat diet / Y. Zhao, L.-B. Chen, S.-S. Mao [et al.] // Sci. Rep. – 2018. – Vol. 8, № 1. – P. 920. doi: 10.1038/s41598-017-18158-4.
 190. Leptin targets in the mouse brain / M.M. Scott, J.L. Lachey, S.M. Sternson [et al.] // J. Comp. Neurol. – 2009. – № 514. – P. 518–532.
 191. Ley, R.E. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine / R.E. Ley, D.A. Peterson, J.L. Gordon // Cell. - 2006. - Vol. 124, № 4. - P. 837-848.

192. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes / G.D. Wu, J. Chen, C. Hoffmann [et al.] // Science. - 2011. - Vol. 334, № 6052. - P. 105-8. doi: 10.1126/science.1208344.
193. Low-dose leptin reverses skeletal muscle, autonomic, and neuroendocrine adaptations to maintenance of reduced weight / M. Rosenbaum, R. Goldsmith, D. Bloomfield [et al.] // J. Clin. Invest. – 2005. – Vol. 115. – P. 3579–3586.
194. Macfarlane, G.T. Bacteria, Colonic Fermentation, and Gastrointestinal Health / G.T. Macfarlane, S. Macfarlane // J. AOAC International. – 2012. - Vol. 95, № 1. – P. 50-60. DOI: https://doi.org/10.5740/jaoacint.SGE_Macfarlane
195. Management of metabolic syndrome through probiotic and prebiotic interventions / H.M. Rashmi, N. Rokana, R.K. Duary [et al.] // Ind. J. Endocrinol. Metab. – 2012. – Vol. 16, № 1. – P. 20–27.
196. Mantzoros, C.S. The Role of Leptin in Human Obesity and Disease: A Review of Current Evidence / C.S. Mantzoros // Ann. Intern. Med. – 1999. – Vol. 130, № 8. – P. 671-680. DOI: 10.7326/0003-4819-130-8-199904200-00014
197. Diet-Induced Obesity Causes Severe but Reversible Leptin Resistance in Arcuate Melanocortin Neurons / P.J. Enriori, A.E. Evans, P. Sinnayah [et al.] // Cell Metab. – 2007. – Vol. 5, № 3. – P. 181-194. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2007.02.004>
198. Metabolic adaptation to a high-fat diet is associated with a change in the gut microbiota / M. Serino, E. Luche, S. Gres [et al.] // Gut. – 2012. – Vol. 61. – P. 543–53. doi: 10.1136/gutjnl-2011-301012.
199. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance / P.D. Cani, J. Amar, M.A. Iglesias [et al.] // Diabetes. – 2007. – Vol. 56. – P. 1761-1762. doi:10.2337/db06-1491.
200. Metabolic evidence for adaptation to a high protein diet in rats / C. Jean, S. Rome, V. Mathé [et al.] // J. Nutr. – 2001. – Vol. 131, № 1. – P. 91-98.

201. Metabolic syndrome and altered gut microbiota in mice lacking Toll-like receptor 5 / M. Vijay-Kumar, J.D. Aitken, F.A. Carvalho [et al.] // *Science*. – 2010. – № 328. – P. 228-231. doi:10.1126/science.1179721.
202. Metabolic syndrome exacerbates inflammation and bone loss in periodontitis / Y. Li, Z. Lu, X. Zhang [et al.] // *J. Dent. Res.* – 2015. - Vol. 94. – P. 362–370.
203. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome / S.R. Gill, M. Pop, R.T. Deboy [et al.] // *Science*. – 2006. – Vol. 312. – P. 1355–1359.
204. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity / R.E. Ley, P.J. Turnbaugh, S. Klein, J.I. Gordon // *Nature*. – 2006. - № 444. – P. 1022-1023.
205. Microbial programming of health and disease starts during fetal life / P.T. Koleva, J.S. Kim, J.A. Scott, A.L. Kozyrskyj // *Birth Defects Res. C Embryo Today*. – 2015. – Vol. 105, № 4. – P. 265-77. doi: 10.1002/bdrc.21117.
206. Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects / A. Schwartz, D. Taras, K. Schafer [et al.] // *Obesity (Silver Spring)*. – 2010. – Vol. 18. – P. 190–5. doi: 10.1038/oby.2009.167.
207. Microbiota from the distal guts of lean and obese adolescents exhibit partial functional redundancy besides clear differences in community structure / M. Ferrer, A. Ruiz, F. Lanza [et al.] // *Environ Microbiol.* – 2013. – Vol. 15. – P. 211-226.
208. Microglia dictate the impact of saturated fat consumption on hypothalamic inflammation and neuronal function / M. Valdearcos, M.M. Robblee, D.I. Benjamin [et al.] // *Cell Rep.* – 2014. – № 9. – P. 2124–2139.
209. Minireview: Ghrelin and the Regulation of Energy Balance—A Hypothalamic Perspective / T.L. Horvath, S. Diano, P. Sotonyi [et al.] // *Endocrinology*. – 2001. – Vol. 142, № 10. – P. 4163–4169. <https://doi.org/10.1210/endo.142.10.8490>

210. Modulating effect of dietary carbohydrate supplementation on *Candida albicans* colonization and invasion in a neutropenic mouse model / S.L. Vargas, C.C. Patrick, G.D. Ayers, W.T. Hughes // *Infect. Immun.* – 1993. – Vol. 61, № 2. – P. 619-26.
211. Morris, D.L. Recent advances in understanding leptin signaling and leptin resistance / D.L. Morris, L. Rui // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 2009. – Vol. 297, № 6. – P. E1247-59. doi: 10.1152/ajpendo.00274.2009.
212. Münzberg, H. Region-specific leptin resistance within the hypothalamus of dietinduced obese mice / H. Münzberg, J.S. Flier, C. Bjørbæk // *Endocrinology.* – 2004. – Vol. 145. – P. 4880–4889.
213. MyD88 Signaling in the CNS Is Required for Development of Fatty Acid-Induced Leptin Resistance and Diet-Induced Obesity / A. Kleinridders, D. Schenten, C. Könnner [et al.] // *Cell Metab.* – 2009. – Vol. 10, № 4. – P. 249-259. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2009.08.013>
214. Nauck, M. New immunoseparationbased homogenous assay for HDL-cholesterol compared with three homogenous and two heterogeneous methods for HDLcholesterol / M. Nauck, W. Maerz, H. Wieland // *Clin. Chem.* – 1998. – Vol. 44. – P. 1443-51.
215. Negative Relationship between Fasting Plasma Ghrelin Concentrations and ad Libitum Food Intake / A.D. Salbe, M.H. Tschöp, A. DelParigi [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2004. – Vol. 89, № 6. – P. 2951–2956. <https://doi.org/10.1210/jc.2003-032145>
216. New insights in ghrelin orexigenic effect / C. Diéguez, K. Da Boit, M.G. Novelle [et al.] - Karger Publishers, 2010. – P. 196-205.
217. New insights in gut microbiota establishment in healthy breast fed neonates / T. Jost, C. Lacroix, C.P. Braegger, C. Chassard // *PLoS ONE.* – 2012. - № 7. – P. e44595.
218. New scientific paradigms for probiotics and prebiotics / G. Reid, M.E. Sanders, H.R. Gaskins [et al.] // *J. Clin. Gastroenterol.* – 2003. – Vol. 37. – P. 105–18.

219. Obesity is associated with hypothalamic injury in rodents and humans / J.P. Thaler, C.X. Yi, E.A. Schur [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2012. – Vol. 122. – P. 153–162.
220. Ogden, C.L. Prevalence of obesity in the United States / C.L. Ogden, M.D. Carroll, K.M. Flegal // *JAMA.* – 2014. – Vol. 312, № 2. – P. 189-90. doi: 10.1001/jama.2014.6228.
221. Oligofructose promotes satiety in healthy human: A pilot study / P.D. Cani, E. Joly, Y. Horsmans, N.M. Delzenne // *Eur. J. Clin. Nutr.* – 2006. – 60. – P. 567–72.
222. Oligofructose promotes satiety in rats fed a high-fat diet: Involvement of glucagon-like Peptide-1 / P.D. Cani, A.M. Neyrinck, N. Maton, N.M. Delzenne // *Obes. Res.* – 2005. – Vol. 13. – P. 1000–7.
223. Oral charcoal adsorbent (AST-120) prevents progression of cardiac damage in chronic kidney disease through suppression of oxidative stress / H. Fujii, F. Nishijima, S. Goto [et al.] // *Nephrol. Dial. Transplant.* – 2009. – Vol. 24. – P. 2089–2095.
224. Palmitic acid mediates hypothalamic insulin resistance by altering PKC- θ subcellular localization in rodents / S.C. Benoit, C.J. Kemp, C.F. Elias [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2009. – Vol. 119. – P. 2577–2589.
225. Parnell, J.A. Prebiotic fiber modulation of the gut microbiota improves risk factors for obesity and the metabolic syndrome / J.A. Parnell, R.A. Reimer // *Gut Microbes.* - 2012. - Vol. 3. - P. 29–34.
226. Piya, M.K. Adipokine inflammation and insulin resistance: the role of glucose, lipids and endotoxin / M.K. Piya, P.G. McTernan, S. Kumar // *J. Endocrinol.* – 2013. – Vol. 216. – P. 11-15.doi:10.1530/JOE-12-0498.
227. Plasma Ghrelin Concentrations Are Not Regulated by Glucose or Insulin / G. Schaller, A. Schmidt, J. Pleiner [et al.] // *Diabetes.* – 2003. – Vol. 52, № 1. – P. 16-20. <https://doi.org/10.2337/diabetes.52.1.16>

228. Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery / D.E. Cummings, D.S. Weigle, RS Frayo [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2002. - № 346. – P. 1623–1630.
229. Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion / T. Shiiya, M. Nakazato, M. Mizuta [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2002. – Vol. 87. – P. 240–244.
230. Polysaccharide utilization by gut bacteria: potential for new insights from genomic analysis / H.J. Flint, E.A. Bayer, M.T. Rincon [et al.] // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2008. – № 6. – P. 121–31. doi: 10.1038/nrmicro1817.
231. Positive Regulatory Control Loop between Gut Leptin and Intestinal GLUT2/GLUT5 Transporters Links to Hepatic Metabolic Functions in Rodents / Y. Sakar, C. Nazaret, P. Lettéron [et al.] // *PLoS One.* – 2009. – Vol. 4, № 11. – P. e7935. doi: 10.1371/journal.pone.0007935.
232. Prebiotic effects: Metabolic and health benefits / M. Roberfroid, G.R. Gibson, L. Hoyle [et al.] // *Br. J. Nutr.* – 2010. – Vol. 104. – P. S1–63.
233. Prescott, S. Probiotics for the prevention or treatment of allergic diseases / S. Prescott, B. Björkstén // *J. Allergy Clin. Immunol.* - 2009. - Vol. 120, № 2. - P. 255-262.
234. Probiotic and synbiotic supplementation could improve metabolic syndrome in prediabetic adults: A randomized controlled trial / N. Kassaian, A. Feizi, A. Aminorroaya, M. Amini // *Diabetes Metab. Syndr.* - 2018. pii: S1871-4021(18)30283-2. doi: 10.1016/j.dsx.2018.07.016.
235. Probiotic treatment reduces appetite and glucose level in the zebrafish model / S. Falcinelli, A. Rodiles, S. Unniappan [et al.] // *Sci. Rep.* – 2016. – Vol. 6, Article number: 18061.
236. Production of bioactive substances by intestinal bacteria as a basis for explaining probiotic mechanisms: bacteriocins and conjugated linoleic acid / E.F. O'Shea, P.D. Cotter, C. Stanton [et al.] // *Int. J. Food Microbiol.* – 2012. – Vol. 152. – P. 189–205.

237. Propensity to high-fat diet-induced obesity in rats is associated with changes in the gut microbiota and gut inflammation / C.B. de La Serre, C.L. Ellis, J. Lee [et al.] // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2010. – Vol. 299. – P. G440–8. doi: 10.1152/ajpgi.00098.2010.
238. Proposed model: mechanisms of immunomodulation induced by probiotic bacteria / G.C. Maldonado, A. de Moreno de Blance, G. Vinderola [et al.] // *Clin. Vaccine Immunol.* - 2007. - Vol. 14, № 5. - P. 484-492.
239. Protein Source in a High-Protein Diet Modulates Reductions in Insulin Resistance and Hepatic Steatosis in fa/fa Zucker Rats / J.L. Wojcik, J.G. Devassy, Wu Yinghong [et al.] // *Obesity (Silver Spring)*. – 2016. – Vol. 24, № 1. – P. 123-131. DOI: 10.1002/oby.21312.
240. Ramakrishna, B.S. Bacterial short chain fatty acids: their role in gastrointestinal disease / B.S. Ramakrishna, W.E. Roediger // *Dig. Dis.* – 1990. - № 8. – P. 337–345.
241. Ramakrishna, B.S. The normal bacterial flora of the human intestine and its regulation / B.S. Ramakrishna // *J. Clin. Gastroenterol.* – 2007. – Vol. 41. – P. S2–6.
242. Rapid Rewiring of Arcuate Nucleus Feeding Circuits by Leptin / S. Pinto, A.G. Roseberry, H. Liu [et al.] // *Science*. – 2004. - Vol. 304, № 5667. – P. 110-115/ DOI: 10.1126/science.1089459
243. Recombinant lactobacilli expressing linoleic acid isomerase can modulate the fatty acid composition of host adipose tissue in mice / E. Rosberg-Cody, C. Stanton, L. O'Mahony [et al.] // *Microbiology*. – 2011. – Vol. 157. – P. 609–615.
244. Reduction of Hypothalamic Protein Tyrosine Phosphatase Improves Insulin and Leptin Resistance in Diet-Induced Obese Rats / P.K. Picardi, V.C. Calegari, P.O. Prada [et al.] // *Endocrinology*. – 2008. – Vol. 149, № 8. – P. 3870–3880. <https://doi.org/10.1210/en.2007-1506>
245. Refeeding with a high-protein diet after a 48 h fast causes acute hepatocellular injury in mice / M. Oarada, T. Tsuzuki, T. Nikawa [et al.] // *Br.*

- J. Nutrition. – 2012. – Vol. 107, № 10. – P. 1435-1444. DOI: 10.1017/S0007114511004521.
246. Regulation of abdominal adiposity by probiotics (*Lactobacillus gasseri* SBT2055) in adults with obese tendencies in a randomized controlled trial / Y. Kadooka, M. Sato, K. Imaizumi [et al.] // *Eur. J. Clin. Nutr.* – 2010. – Vol. 64. – P. 636–43.
 247. Regulation of adipokine production in human adipose tissue by propionic acid / S.H. Al-Lahham, H. Roelofsen, M. Priebe [et al.] // *Eur. J. Clin. Invest.* – 2010. – Vol. 40, № 5. – P. 401-7. doi: 10.1111/j.1365-2362.2010.02278.x.
 248. Regulation of inflammation by short chain fatty acids / M.A. Vinolo, H.G. Rodrigues, R.T. Nachbar, R. Curi // *Nutrients.* – 2011. – № 3. – P. 858–76. doi: 10.3390/nu3100858.
 249. Reid, G. Probiotic *Lactobacilli* for urogenital health in women / G. Reid // *J. Clin. Gastroenterol.* - 2008. - Vol.42, Suppl. 3, Pt. 2. - P. 234-236.
 250. Relationship between obesity, adipocytokines and inflammatory markers in type 2 diabetes: relevance for cardiovascular risk prevention / N. Rajkovic, M. Zamaklar, K. Lalic [et al.] // *Int. J. Environ. Res. Public Health.* – 2014. – Vol. 11, № 4. – P. 4049–65.
 251. Reshaping the gut microbiome with bacterial transplantation and antibiotic intake / C. Manichanh, J. Reeder, P. Gibert [et al.] // *Genome Res.* – 2010. – Vol. 20. – P. 1411–9. doi: 10.1101/gr.107987.110.
 252. Reversal of cancer anorexia by blockade of central melanocortin receptors in rats / B.E. Wisse, R.S. Frayo, M.W. Schwartz, D.E. Cummings // *Endocrinology.* – 2001. – № 14. – P. 3292–3301.
 253. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers / E. Le Chatelier, T. Nielsen, J. Qin [et al.] // *Nature.* – 2013. – Vol. 500. – P. 541–6. doi: 10.1038/nature12506. pmid:23985870
 254. Ring, L.E. Disruption of hypothalamic leptin signaling in mice leads to early-onset obesity, but physiological adaptations in mature animals stabilize

- adiposity levels / L.E. Ring, L.M. Zeltser // *J. Clin. Invest.* – 2010. – Vol. 120. – P. 2931–2941.
255. Ritter, R.C. Gastrointestinal mechanisms of satiation for food / R.C. Ritter // *Physiol. Behav.* – 2004. – Vol. 81, № 2. – P. 249-273. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2004.02.012>
256. Rolfe, R.D. Interactions among microorganisms of the indigenous intestinal flora and their influence on the host / R.D. Rolfe // *Rev. Infect. Dis.* - 1984. - Vol. 6, Suppl. 1. – P. S73-9.
257. Sansonetti, P. Debugging how bacteria manipulate the immune response / P. Sansonetti, J. Di Santo // *Immunity.* - 2007. - Vol. 26. - P. 149-161.
258. Sanz, Y. Probiotics as drugs against human gastrointestinal infections / Y. Sanz, I. Nadal, E. Sanchez // *Recent Pat. Antiinfect. Drug Discov.* – 2007. – № 2. – P. 148–56.
259. SCFAs induce mouse neutrophil chemotaxis through the GPR43 receptor / M.A. Vinolo, G.J. Ferguson, S. Kulkarni [et al.] // *PLoS One.* – 2011. – № 6. – P. e21205. doi: 10.1371/journal.pone.0021205.
260. Schnabl, B. Interactions between the intestinal microbiome and liver diseases / B. Schnabl, D.A. Brenner // *Gastroenterology.* - 2014. - Vol. 146, № 6. - P. 1513–1524.
261. Schwartz, M.W. Diabetes, Obesity, and the Brain / M.W. Schwartz, D. Porte Jr. // *Science.* – 2005. - Vol. 307, № 5708. – P. 375-379. DOI: 10.1126/science.1104344
262. Selective deletion of leptin receptor in neurons leads to obesity / P. Cohen, C. Zhao, X. Cai [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2001. – Vol. 108, № 8. – P. 1113-21.
263. Serino, M. Intestinal MicrobiOMICS to define health and disease in human and mice / M. Serino, C. Chabo, R. Burcelin // *Curr. Pharm. Biotechnol.* – 2012. – Vol. 13. – P. 746–58. doi: 10.2174/138920112799857567

264. Serum biomarkers in nonalcoholic steatohepatitis: value for assessing drug effects? / M. Heeringa, A. Hastings, S. Yamazaki, P. de Koning // *Biomark. Med.* – 2012. – Vol. 6, № 6. – P. 743-757. DOI: 10.2217/bmm.12.87.
265. Serum Ghrelin Levels in Obese Patients: The Relationship to Serum Leptin Levels and Soluble Leptin Receptors Levels / M. Rosick, M. Kräek, M. Matoulek [et al.] // *Physiol. Res.* – 2003. – Vol. 52. – P. 61-66.
266. Serum leptin levels in male marathon athletes before and after the marathon run / A. Leal-Cerro, P.P. Garcia-Luna, R. Astorga [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 1998. – Vol. 83. – P. 2376–2379.
267. Shanahan, F. The colonic microbiota in health and disease / F. Shanahan // *Curr. Opin. Gastroenterol.* – 2013. – Vol. 29. – P. 49–54.
268. Shifts in clostridia, bacteroides and immunoglobulin-coating fecal bacteria associated with weight loss in obese adolescents / I. Nadal, A. Santacruz, A. Marcos [et al.] // *Int. J. Obesity.* – 2009. – Vol. 33. – P. 758–67.
269. Short-chain fatty acids stimulate leptin production in adipocytes through the G protein-coupled receptor GPR41 / Y. Xiong, N. Miyamoto, K. Shibata [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* – 2004. – Vol. 101, № 4. – P. 1045-50.
270. Sirisinha, S. The potential impact of gut microbiota on your health: Current status and future challenges / S. Sirisinha // *Asian Pac. J. Allergy Immunol.* – 2016. – Vol. 34, № 4. – P. 249-264. doi: 10.12932/AP0803.
271. Specific physiological roles for signal transducer and activator of transcription 3 in leptin receptorexpressing neurons / M.L. Piper, E.K. Unger, M.G. Myers, A.W. Xu // *Mol. Endocrinol.* – 2008. – Vol. 22. – P. 751–759.
272. Spolding, B. Rapid development of non-alcoholic steatohepatitis in *Psammomys obesus* (Israeli sand rat) / B. Spolding // *PLoS ONE.* – 2014. – № 9. – P. e92656.
273. Starches, Sugars and Obesity / E.J. Erik, G. Aller, A. Itziar [et al.] // *Nutrients.* - 2011. - Vol. 3, № 3. - P. 341–369. doi: 10.3390/nu3030341.
274. Stimulatory Effects of Ghrelin on Circulating Somatostatin and Pancreatic Polypeptide Levels / M. Arosio, C.L. Ronchi, C. Gebbia [et al.] // *J. Clin.*

- Endocrinol. Metab. – 2003. – Vol. 88, № 2. – P. 701–704.
<https://doi.org/10.1210/jc.2002-021161>
275. Stomach Is a Major Source of Circulating Ghrelin, and Feeding State Determines Plasma Ghrelin-Like Immunoreactivity Levels in Humans / H. Ariyasu, K. Takaya, T. Tagami [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2001. – Vol. 86, № 10. – P. 4753–4758. <https://doi.org/10.1210/jcem.86.10.7885>
276. Structural modulation of gut microbiota in life-long calorie-restricted mice / C. Zhang, S. Li, L. Yang [et al.] // Nat. Commun. – 2013. – № 4. – P. 2163. doi: 10.1038/ncomms3163.
277. Sun, Y. Deletion of ghrelin impairs neither growth nor appetite / Y. Sun, S. Ahmed, R.G. Smith // Mol. Cell. Biol. - 2003. – Vol. 23, № 22. – P. 7973–81.
278. Suzuki, T.A. Geographical variation of gut microbial composition / T.A. Suzuki, M. Worobey // Biol. Lett. - 2014. – Vol. 10, № 2. doi:10.1098/rsbl.2013.1037
279. Symbiotic bacterial metabolites regulate gastrointestinal barrier function via the xenobiotic sensor PXR and Toll-like receptor 4 / M. Venkatesh, S. Mukherjee, H. Wang [et al.] // Immunity. – 2014. – Vol. 41. – P. 296–310. doi:10.1016/j.immuni.2014.06.014.
280. Tannock, G.W. Normal microbiota of the gastrointestinal tract of rodents / G.W. Tannock // Gastrointestinal microbiology / ed.: R.I. Mackie, B.A. White, R.E. Isaacson. - Chapman and Hall, London, United Kingdom, 1997. - P. 187–215.
281. Tarini, J. The fermentable fibre inulin increases postprandial serum short-chain fatty acids and reduces free-fatty acids and ghrelin in healthy subjects / J. Tarini, T.M. Wolever // Appl. Physiol. Nutr. Metab. – 2010. – Vol. 35. – P. 9–16.
282. Temporal microbiota changes of high-protein diet intake in a rat model / C. Mu, Y. Yang, Z. Luo [et al.] // Anaerobe. – 2017. – Vol. 47. – P. 218–225. DOI: 10.1016/j.anaerobe.

283. Testosterone Replacement Therapy Restores Normal Ghrelin in Hypogonadal Men / U. Pagotto, A. Gambineri, C. Pelusi [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2003. – Vol. 88, № 9. – P. 4139–4143. <https://doi.org/10.1210/jc.2003-030554>
284. The Distribution and Mechanism of Action of Ghrelin in the CNS Demonstrates a Novel Hypothalamic Circuit Regulating Energy Homeostasis / M.A. Cowley, R.G. Smith, S. Diano [et al.] // Neuron. – 2003. – Vol. 37, № 4. – P. 649-661. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(03\)00063-1](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(03)00063-1)
285. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage / F. Bäckhed, H. Ding, T. Wang [et al.] // PNAS. – 2004. – Vol. 101, № 44. – P. 15718-15723. <https://doi.org/10.1073/pnas.0407076101>
286. The Hawaii Diet: ad libitum high carbohydrate, low fat multi-cultural diet for the reduction of chronic disease risk factors: obesity, hypertension, hypercholesterolemia, and hyperglycemia / T.T. Shintani, S. Beckham, A.C. Brown [et al.] // Hawaii Med. J. - 2001. - Vol. 60, № 3. - P. 69-73.
287. The hypothalamic arcuate nucleus: A key site for mediating leptin's effects on glucose homeostasis and locomotor activity / R. Coppari, M. Ichinose, C.E. Lee [et al.] // Cell Metab. – 2005. – Vol. 1, № 1. – P. 63-72. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2004.12.004>
288. The influence of insulin on circulating ghrelin / D.E. Flanagan, M.L. Evans, T.P. Monsod [et al.] // Am. Physiol. Soc. – 2001. – Vol. 284, № 2. – P. E313-E316. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00569.2001>
289. The influence of obesity on the oxidative stress status and the concentration of leptin in type 2 diabetes mellitus patients / A. Stefanovic, J. Kotur-Stevuljevic, S. Spasic [et al.] // Diabetes Res. Clin. Pract. – 2008. – Vol. 79, № 1. – P. 156–63.
290. The microbiome and butyrate regulate energy metabolism and autophagy in the mammalian colon / D.R. Donohoe, N. Garge, X. Zhang [et al.] // Cell Metab. – 2011. – P. 517–26. doi: 10.1016/j.cmet.2011.02.018.

291. The microbiota of the gut in preschool children with normal and excessive body weight / C.L. Karlsson, J. Onnerfalt, J. Xu [et al.] // *Obesity* (Silver Spring). – 2012. – Vol. 20. – P. 2257-2261.
292. The pervasive effects of an antibiotic on the human gut microbiota, as revealed by deep 16S rRNA sequencing / L. Dethlefsen, S. Huse, M.L. Sogin, D.A. Relman // *PLoS Biol.* – 2008. – Vol. 6, № 11. – P. e280.
293. The prevention of overweight and obesity in children and adolescents: a review of interventions and programmes / C.M. Doak, T.L.S. Visscher, C.M. Renders, J.C. Seidell // *Obes. Rev.* – 2006. – Vol. 7, № 1. – P. 111-136.
294. The probiotic *Lactobacillus gasseri* SBT2055 inhibits enlargement of visceral adipocytes and upregulation of serum soluble adhesion molecule (sICAM-1) in rats / Y. Kadooka, A. Ogawa, K. Ikuyama [et al.] // *Int. Dairy J.* – 2011. – Vol. 30. – P. 1–5.
295. The roles of leptin receptors on POMC neurons in the regulation of sex-specific energy homeostasis / H. Shi, J.E. Sorrell, D.J. Clegg [et al.] // *Physiol. Behav.* – 2010. – Vol. 100, № 2. – P. 165-172.
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2010.02.018>
296. The roles of metabolic thermogenesis in body fat regulation in striped hamsters fed high-fat diet at different temperatures / L.L. Shi, W.J. Fan, J.Y. Zhang [et al.] // *Comp. Biochem. Physiol.* – 2017. – Vol. 212. – P. A35–44.
297. Tilg, H. Nonalcoholic fatty liver disease: Cytokine-adipokine interplay and regulation of insulin resistance / H. Tilg, G.S. Hotamisligil // *Gastroenterology.* – 2006. – Vol. 131, № 3. – P. 934-45. DOI: 10.1053/j.gastro.2006.05.054
298. Tomas, J. The intestinal microbiota in the rat model: major breakthroughs from new technologies / J. Tomas, P. Langella, C. Cherbuy // *Anim. Health Res. Rev.* – 2012. – Vol. 13. – P. 54–63. doi: 10.1017/S1466252312000072.

299. Vagotomy Dissociates Short- and Long-Term Controls of Circulating Ghrelin / D.L. Williams, H.J. Grill, D.E. Cummings, J.M. Kaplan // *Endocrinology*. – 2003. – Vol. 144, № 12. – P. 5184–5187. <https://doi.org/10.1210/en.2003-1059>
300. Wang, B. Leptin- and leptin receptor-deficient rodent models: relevance for human type 2 diabetes / B. Wang, P.C. Chandrasekera, J.J. Pippin // *Curr. Diabetes Rev.* – 2014. – Vol. 10, № 2. – P. 131-45.
301. Waterson, M.J. Neuronal regulation of energy homeostasis: beyond the hypothalamus and feeding / M.J. Waterson, T.L. Horvath // *Cell Metab.* – 2015. – Vol. 22. – P. 962–970.
302. Weight gain decreases elevated plasma ghrelin concentrations of patients with anorexia nervosa / B. Otto, U. Cuntz, E. Fruehauf [et al.] // *Eur. J. Endocrinol.* – 2001. – Vol. 145. – P. 669–673.
303. Willett, W.C. Is dietary fat a major determinant of body fat / W.C. Willett // *Am. J. Clin. Nutrition.* – 1998. - Vol. 67, № 3. – P. 556–562.
304. Windey, K. Relevance of protein fermentation to gut health / K. Windey, V. De Preter, K. Verbeke // *Mol. Nutr. Food Res.* – 2012. – Vol. 56. – P. 184–196.
305. Zhou, Y. Leptin Deficiency Shifts Mast Cells toward Anti-Inflammatory Actions and Protects Mice from Obesity and Diabetes by Polarizing / Y. Zhou, X. Yu, H. Chen // *Cell Metabolism*. – 2015. – Vol. 22, Issu 6. – P. 1045-1058.
306. Zhou, Y. Leptin signaling and leptin resistance / Y. Zhou, L. Rui // *Front. Med.* – 2013. – Vol. 7, № 2. – P. 207-22. doi: 10.1007/s11684-013-0263-5.