

ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
«НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ СКОРОЙ ПОМОЩИ ИМЕНИ  
Н.В. СКЛИФОСОВСКОГО ДЕПАРТАМЕНТА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
МОСКВЫ»

На правах рукописи

**Гурман Юлия Валерьевна**

**ВЛИЯНИЕ ГАММА-АМИНОМАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ НА  
АДАПТАЦИОННУЮ ПЕРЕСТРОЙКУ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО  
СОСТОЯНИЯ ТОНКОЙ КИШКИ ПРИ СТРЕССЕ**

Специальность 1.5.5. Физиология человека и животных (биологические науки)

Диссертация  
на соискание ученой степени кандидата  
биологических наук

Научный руководитель:  
доктор биологических наук, доцент  
Тропская Наталья Сергеевна

Москва - 2025

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	9
1.1 Основные особенности функционального состояния организма при стрессе, вызванном длительной пищевой депривацией .....	9
1.2. Гамма-аминомасляная кислота (ГАМК) как стресс-лимитирующая система. Влияние ГАМК на метаболизм, моторику кишечника и микробиоту .....	17
ГЛАВА 2. Материал и методы исследования .....	30
2.1 Материал исследования .....	30
2.2 Условия проведения экспериментальных исследований.....	35
2.3. Методы исследования .....	36
2.3.1 Электрофизиологические исследования .....	36
2.3.2 Биохимические исследования .....	37
2.3.3 Бактериологические исследования.....	40
2.3.4 Гистологические исследования.....	42
2.3.5 Статистические методы исследования .....	42
2.3.6 Используемые препараты и реагенты .....	43
ГЛАВА 3. ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ХОЛИНЕРГИЧЕСКИХ И НИТРЕРГИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ В ЭФФЕКТАХ ГАМК НА ЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ТОНКОЙ КИШКИ У ЗДОРОВЫХ ЖИВОТНЫХ .....	44
3.1. Основные показатели электрической активности тонкой кишки в норме ..	44
3.2. Влияние ГАМК на электрическую активность тонкой кишки .....	45
3.3. Роль холинергических механизмов в эффектах ГАМК на электрическую активность тонкой кишки .....	49
3.4. Роль нитрергических механизмов в эффектах ГАМК на электрическую активность тонкой кишки .....	54
ГЛАВА 4. Оценка функционального состояния тонкой кишки при стрессе, вызванном длительной пищевой депривацией.....	60
4.1. Оценка изменений электрической активности тонкой кишки при стрессе, вызванном длительной пищевой депривацией .....	60

4.2. Оценка микробиоты тощей и слепой кишок на разных стадиях длительной пищевой депривации.....	63
4.3. Оценка изменений показателей метаболизма на разных стадиях длительной пищевой депривации .....	66
4.4. Оценка органов маркеров стресса на разных стадиях длительной пищевой депривации .....	69
ГЛАВА 5. СТРЕСС-ПРОТЕКТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ ГАМК ПРИ СТРЕССЕ, ВЫЗВАННОМ ДЛИТЕЛЬНОЙ ПИЩЕВОЙ ДЕПРИВАЦИЕЙ .....	78
5.1. Влияние ГАМК на электрическую активность тонкой кишки при стрессе, вызванном длительной пищевой депривацией .....	78
5.2 Влияние ГАМК на микробиоту тощей и слепой кишок на разных стадиях длительной пищевой депривации .....	88
5.3. Влияние ГАМК на изменения показателей метаболизма на разных стадиях длительной пищевой депривации .....	93
5.4 Влияние ГАМК на состояние органов маркеров стресса на разных стадиях длительной пищевой депривации .....	98
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	106
ВЫВОДЫ .....	113
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ .....	115
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ .....	116
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	117

## **ВВЕДЕНИЕ**

### **Актуальность исследования.**

В современном мире возрастание стрессовой нагрузки связано с ухудшением экологической обстановки, высокой плотностью населения в мегаполисах, стремительно увеличивающейся информационной нагрузкой, факторами, ассоциированными с нарушением питательного статуса (голод, ожирение и т.д.). При стрессе в организме происходят физиологические изменения, которые описываются общим адаптационным синдромом. Стресс-реализующие системы, представленные гипоталамо-гипофизарно-адреналовой и симпато-адреналовой системами активируют кишечно-мозговую ось, что влечет за собой изменения в функциональном состоянии кишечника - изменением секреторной, моторной, переваривающей, всасывательной функций, а также микробиоценоза [Konturek et al., 2011, Fung et al., 2017]. Длительное голодание можно рассматривать как одну из разновидностей метаболического стресса, что подтверждается характерными для состояния функционального напряжения организма метаболическими перестройками, происходящими в ответ на лишение его пищи [Кузьменко и др., 2014].

Периодическая деятельность пищеварительной системы – это один из биоритмов организма человека и животных, в котором закономерно изменяются ее моторная и секреторная функции. Предполагается, что межпищеварительная секреторная и моторная активность обеспечивает эндогенное питание как макроорганизма, так и энтероцитов из полости кишки, поддерживает ферментный гомеостазис макроорганизма, способствует освобождению просвета кишки от остаточной пищи, слущенных клеток и слизи, а также предотвращает избыточный бактериальный рост в тонкой кишке [Коротько, 2013].

Известно, что периодическую деятельность тонкой кишки можно зарегистрировать с помощью электрофизиологических методов, таких как электромиография (ЭМГ) с вживленных в тонкую кишку электродов. В

межпищеварительном периоде у человека и различных видов животных наблюдается так называемый мигрирующий миоэлектрический комплекс (ММК), который является основным маркером периодической электрической активности тонкой кишки в норме [Лебедев, 1987; Thompson, 1981; Sarna, 2002].

Несмотря на длительную историю изучения периодической межпищеварительной моторной деятельности кишечника, ряд вопросов остается открытым: как долго сохраняется периодическая моторная активность тонкой кишки при длительной пищевой депривации (ПД), и какие особенности перестройки ритма происходят при адаптации к эндогенному питанию.

Гамма-аминомасляная кислота (ГАМК) является универсальной молекулой, синтезируемой животными, растениями и бактериями. В настоящее время ведется активное изучение роли ГАМК в области физиологии, молекулярной биологии, фармакологии, генетики, биохимии и других биологических наук [Есин и др., 2020; Каркищенко и др., 2020, Ngo, 2019, Braga et al., 2024]. В литературе имеется достаточное количество работ, доказывающих полимодальное нейро- и органопротективное действие ГАМК [Перфилова, 2005; Перфилова, 2014; Есин и др., 2020, Саркисян и др., 2024, Almutairi et al., 2024]. К настоящему времени установлены различные виды рецепторов ГАМК и их локализация в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) [Krantis, 2000; Auteri et al., 2015]. Распределение ГАМК в ЖКТ в более высоких концентрациях, чем в мозге, у многих видов млекопитающих, безусловно, указывает на ее важную роль в функционировании ЖКТ [Tedeschi et al., 2003]. Однако, имеются лишь единичные публикации о влиянии ГАМК на функциональное состояние кишечника при стрессе, вызванным длительной ПД.

### **Цель работы:**

Изучить влияние гамма-аминомасляной кислоты на функциональное состояние тонкой кишки при стрессе, вызванном длительной пищевой депривацией.

### **Задачи исследования:**

1. Определить роль холинергических и нитрергических механизмов в эффектах ГАМК на электрическую активность тонкой кишки у здоровых животных;
2. Выявить стадии адаптационных изменений электрической активности тонкой кишки при стрессе, вызванным длительной пищевой депривацией;
3. Оценить изменения микробиоты кишечника, метаболизма и органов маркеров стресса на разных стадиях длительной пищевой депривации;
4. Установить влияние ГАМК на электрическую активность тонкой кишки, состояние микробиоты кишечника, уровень метаболизма и органов маркеров стресса на разных стадиях длительной пищевой депривации.

### **Научная новизна**

Впервые выявлены стадии адаптационной перестройки ритма периодической электрической активности тонкой кишки при стрессе, вызванным длительной пищевой депривацией.

В хронических экспериментах установлено, что модулирующее влияние ГАМК на межпищеварительную периодическую электрическую активность тонкой кишки связано с воздействием на холинергические и нитрергические пути.

Впервые установлено, что введение ГАМК на разных стадиях пищевой депривации приводит к сохранению ритма периодической электрической активности тонкой кишки с уменьшением циклов мигрирующего миоэлектрического комплекса.

Впервые при стрессе, вызванном длительной пищевой депривацией обнаружено, что введение ГАМК приводит к ограничению развития стресс реакции, а также выявлена эффективность ГАМК в нормализации численности лакто- и бифидобактерий в слепой кишке.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Теоретическая значимость работы определяется тем, что в ней впервые определены стадии адаптационной перестройки ритма периодической

электрической активности тонкой кишки при стрессе, вызванным длительной пищевой депривацией. Установлена роль холинергических и нитрергических механизмов в модулирующем влиянии ГАМК на межпищеварительную периодическую электрическую активность тонкой кишки.

Полученные данные, помимо теоретической значимости, могут иметь практическое применение при разработке комплекса лечебных мероприятий с включением ГАМК с целью коррекции нарушений моторной функции тонкой кишки и микробиоценоза, а также в качестве гастропротекторного средства для защиты слизистой оболочки желудка от развития стрессорных эрозивных повреждений. Также полученные данные могут быть использованы при преподавании соответствующих разделов физиологии в ВУЗах.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Модулирующее влияние ГАМК на межпищеварительную периодическую электрическую активность тонкой кишки связано с воздействием на холинергические и нитрергические пути.

2. При стрессе, вызванным длительной пищевой депривацией, наблюдается стадийная адаптационная перестройка ритма периодической электрической активности тонкой кишки с исчезновением мигрирующего миоэлектрического комплекса.

3. Введение ГАМК на разных стадиях пищевой депривации приводит к сохранению ритма периодической электрической активности тонкой кишки с уменьшением циклов мигрирующего миоэлектрического комплекса, нормализации численности лакто- и бифидобактерий в слепой кишке, а также к ограничению стресс реакции.

**Личный вклад автора:** личное участие автора осуществлялось на всех этапах выполнения работы и включало планирование и проведение исследований по всем разделам диссертации, формулирование целей и задач, определение объема и методов исследования, анализ литературы по теме диссертационной работы,

статистическую обработку результатов, анализ и обобщение полученных данных. лично автором проводились эксперименты и операции на животных. В публикациях, подготовленных в соавторстве, личный вклад соискателя составляет 75 %.

### **Апробация работы**

Основные результаты обсуждены и доложены на Всероссийской конференции с международным участием «Интегративная физиология» (С.Петербург, 2020, 2021, 2022, 2023), на международном конгрессе NeuroGastro (Virtual, 2021), на XVII, XIX, XX научно-практической межрегиональной конференции «Биомедицина и биомоделирование» (Светлые горы, 2021, 2023, 2024).

Апробация работы состоялась на совместной проблемно-плановой комиссии №1 ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗ г. Москвы» «Заболевания органов брюшной полости и малого таза» 27 января 2025 г.

### **Публикации**

По материалам диссертации опубликованы 14 научных работ, среди них 4 статьи опубликованы в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК для опубликования материалов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук и в изданиях, индексируемых международными базами цитирования Web of Science и Scopus.

### **Связь работы с научными программами**

Часть работы выполнена в рамках плановых НИР ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗ г. Москвы» №110.20.22 и №1.1.23.25.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 136 страницах машинописного текста, состоит из введения, пяти глав, заключения, выводов и практических рекомендаций. Список литературы содержит 171 источник (49 отечественных и 122 зарубежных). Диссертация содержит 23 таблиц, иллюстрирована 32 рисунками.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Основные особенности функционального состояния организма при стрессе, вызванном длительной пищевой депривацией

В настоящее время, несмотря на общее мировое благополучие, проблема голода все еще затрагивает как развивающиеся, так и экономически развитые страны. Именно поэтому влияние голода на метаболизм человека и животных продолжает привлекать внимание большого числа исследователей по всему миру [Кузьменко и др., 2014]. Длительное голодание является фактором, определяющим глубокие метаболические и физиологические изменения, направленные на компенсацию дефицита нутриентов в организме. Одну из ведущих ролей в эндокринных и метаболических изменениях принадлежит перестройке функционирования гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной системы [Boelen et al., 2008]. Кроме того, при длительном голодании активируются гипоталамо-гипофизарно-адреналовая и симпато-адреналовая системы. Ф.З. Меерсон в своих работах определил длительное голодание как одну из разновидностей стресса [1981]. Отметим, что за несколько десятилетий до этого в классических трудах Г. Селье [Selye, 1946] был описан «общий адаптационный синдром» или «синдром биологического стресса», включающий в себя инволюцию тимуса, гипертрофию коркового слоя надпочечников и изъязвления желудочно-кишечного тракта.

Одним из главных научных интересов в изучении полного голодания является способность организма к активации адаптивных процессов, в том числе за счет эндогенного питания [Безбородкина и др., 2008; Кузьменко и др., 2014; Махов, 2015].

Когда же состояние организма определяют как голодание? Н.Н. Безбородкина с соавторами [Безбородкина и др., 2008] определили, что состояние голода у человека начинается в случае невозобновления поступления пищи в организм в течение суток. У грызунов, в частности у крыс, состояние, при котором пища не

поступает в организм в течение 10-12-ти часов, определяется как голодание [Кузьменко и др., 2014].

Выявлено, что у крыс при полном голодании со свободным доступом к воде, на фоне снижения концентрации инсулина и повышения концентрации глюкагона, сохраняется постоянный уровень сахара в крови за счет запуска в печени процесса гликогенолиза [Безбородкина и др., 2008; Wang et al., 2006]. По истечению 12-ти часов запасы гликогена в печени истощаются и организм начинает перестраиваться на другие источники энергии [Wang et al., 2006]. Таким образом, в дальнейшем в качестве основного источника энергии организм использует запасные нейтральные жиры [Нихаев, 2019; Longo, 2014]. В жировой ткани происходит гидролиз триацилглицерола [Епринцев и др., 2008]. После чего в кровь высвобождается глицерол и жирные кислоты. Глицерол является предшественником глюкозы в процессе глюконеогенеза [Нихаев, 2019; Wang et al., 2020]. В это время в печени и мышцах происходит  $\beta$ -окисление жирных кислот с образованием ацетил-КоА [Кузьменко и др., 2014; Angin et al., 2016]. Отметим, что этот процесс происходит как в митохондриях, так и в пероксисомах. В пероксисомах под действием флавиновой оксидазы происходит перенос двух электронов с ацетил-КоА на кислород с образованием еноил-КоА и перекиси водорода. Данный процесс продуцирует в организме избыток перекиси водорода, которая является главным прооксидантным фактором, провоцирующим окислительный стресс в печени [Буров и др., 2011; Domenicali et al., 2001]. Ацетил-КоА, образовавшийся в митохондриях, впоследствии принимает участие в глиоксилатном цикле, что обеспечивает образование сукцинатата, который вовлекается в цикл трикарбоновых кислот (ЦТК) [Косматых и др., 2001]. В результате ЦТК образуется оксалоацетат, который нужен для поддержания энергетического метаболизма [Епринцев и др., 2007]. Отметим, что любой элемент ЦТК и его шунтов является потенциальным предшественником глюкозы [Кузьменко и др., 2014].

Кроме использования жировых депо, организм в качестве источника энергии использует запасы белка в мышечной ткани, что приводит к потере мышечной массы [Wang et al., 2006]. В результате катаболизма белка образуются

аминокислоты, которые в условии голода необходимы для осуществления глюконеогенеза [Безбородкина и др., 2008; Palmer, 2021]. Основными аминокислотами, выделяемыми скелетными мышцами являются глутамин и аланин. В гепатоцитах аминогруппа аланина при участии аланинаминотрансферазы переносится на  $\alpha$ -кетоглутарат с образованием пирувата и глутамата. Пируват служит субстратом для глюконеогенеза, в то время как глутамат подвергается окислительному дезаминированию под действием глутаматдегидрогеназы [Perry et al., 2018; Petersen et al., 2019]. Продуктами данной реакции являются  $\alpha$ -кетоглутарат, вовлекаемый в ЦТК с последующим образованием оксалоацетата и аммиака [Palmer, 2021]. Последний, включаясь в орнитиновый цикл, нейтрализуется путем синтеза мочевины [Steinhauser et al., 2018]

Организм при длительном голодании сохраняет азот всеми возможным способами. Так, например, головной мозг снижает потребность в глюкозе, используя все больше кетокислот в качестве источника энергии [Авдеева, 2005]. Этот сдвиг снижает потребность в мобилизации аминокислот из мышц для осуществления глюконеогенеза [Palmer, 2021]. Кроме того, при голоде происходит замена мочевины на аммиак, что обеспечивает осмолярность необходимую для выделения мочи. В дальнейшем потеря азота с мочой сводится к минимуму, поскольку почки поглощают отфильтрованные кетоновые тела [Cahill, 2006].

Таким образом, в условиях длительного голодания и истощения запасов гликогена кетогенез и глюконеогенез становятся основными источниками энергии, позволяя организму адаптироваться в тяжелых условиях.

При длительном голодании пищеварительный тракт млекопитающих претерпевает значительные изменения. Снижается скорость обновления эпителиальных клеток, а также уменьшается миграция клеток из крипт в кончики ворсинок [Habold et al., 2004]. Кроме того, отмечается уменьшение в 2 раза массы слизистой оболочки тонкой кишки у крыс [Iwakiri et al., 2001]. Также во время голодания отмечается уменьшение площади поверхности слизистой оболочки

кишки, что по всей видимости, является результатом снижения расхода энергии в кишке [Wang et al., 2006].

Существуют сведения, что в первые сутки полного голодания у животных наблюдается прогрессивная потеря массы тела. Так, в своей работе С. Дитце и коллеги оценивали максимальную потерю массы тела у крыс после 16, 24 и 48 часов полного голодания. Установлено, что за первые 16 часов голодания крысы теряют около 4 % массы тела, за 24 часа голодания около 5 %, а за 48 часов потеря массы тела составляла 7 %. После 3–4 суток голодания темп снижения массы тела замедляется [Dietze et al., 2018].

Помимо оценки потери массы тела при полном голодании существует исследование, в котором у крыс ежедневно в течение 4 суток оценивалось изменение температуры в дневное и ночное время. Было установлено, что значение температуры в дневное время прогрессивно падало в каждый последующий день голодания, в то время как ночная температура оставалась на уровне контрольных значений в течение всего эксперимента [Yoda et al., 2000]. Эти данные указывают на то, что во время ПД организм стремится к сохранению энергии, в том числе путем замедления метаболических процессов.

Несмотря на то, что проблема голода остается актуальной, полученные данные в исследованиях до сих пор остаются неполными в связи с тем, что достаточное количество исследований выполнены, либо в условиях ограничения пищи, либо в условиях периодической ПД [Кондашевская и др., 2013; Bi et al., 2003; He et al., 2020;]. В большом количестве работ используют модель полного голодания при которых ПД со свободным доступом к воде осуществляется от 12-ти часов до 7-ми суток [Косматых и др., 2001; Хороших, 2010; Кирбаева и др., 2017; Кирбаева и др., 2018; Кирбаева и др., 2018; Domenicali et al., 2001; Palou et al., 2009]. Таким образом, данные об адаптационных механизмах при полном голодании более 7-ми суток в литературе отсутствуют.

Одним из важнейших биоритмов человека и животных является периодическая деятельность пищеварительной системы с закономерным изменением моторной и секреторной функций [Коротко, 2013].

В интактном пищеварительном канале человека и животных происходит постоянная спонтанная генерация электрических потенциалов, что создает условия для сократительной деятельности различных отделов ЖКТ. Потенциал покоя на мембранах гладкомышечных клеток ЖКТ характеризуется спонтанной ритмической деполяризацией, носящей название медленных волн. Предполагается, что медленные волны могут быть вызваны специализированными клетками, названными интерстициальными клетками Кахаля [Тропская, 2023]. Установлено, что медленные волны не связаны непосредственно с процессом сокращения, а появление на их гребне спайков сопровождается сокращением клетки. Сила сокращений связана с количеством спайков [Daniel, 1963].

Известно, что периодическую деятельность тонкой кишки можно зарегистрировать с помощью электрофизиологических методов, таких как электромиография (ЭМГ) с вживленных в тонкую кишку электродов. В межпищеварительном периоде у человека и различных видов животных наблюдается так называемый мигрирующий миоэлектрический комплекс (ММК) [Лебедев, 1987; Thompson, 1981; Sarna, 2002]. Крысы являются удобным объектом для исследования ММК, так как цикл ММК у них относительно короткий. Период ММК у крыс составляет 10-20 минут, после чего ММК мигрирует каудально, что свидетельствует о нормальной пропульсивной перистальтике [Ruckebusch, 1975]. Цикл ММК имеет три фазы, каждая из которых имеет свое функциональное значение. Фаза I — секреторного и двигательного покоя — характеризуется отсутствием спайковых потенциалов по сравнению с другими фазами, сокращения отсутствуют. Эта фаза составляет 40-60% от общей продолжительности цикла. Фаза II — нерегулярной активности (некоординированные сокращения, непропульсивная перистальтика в виде сегментирующих и маятникообразных сокращений) — происходит секреция эндогенных веществ в кишечник (желчных кислот, бикарбоната, панкреатических ферментов) и перемешивание химуса с пищеварительными соками. Эта фаза занимает около 20-30 % от общей продолжительности цикла и характеризуется наличием отдельных спайковых потенциалов или их пачек не на каждой медленной волне. В III фазу (регулярной

активности) регистрируются мощные пропульсивные распространяющиеся сокращения, во время которых происходит активная эвакуация кишечного содержимого, результатом которой является освобождение просвета кишки от остаточной пищи. Кроме того, эти мощные сокращения способствуют предотвращению избыточного бактериального роста в тонком кишечнике [Husebye et al. 2001; Тропская, 2008]. Эта фаза характеризуется внезапным и стабильным появлением высокоамплитудных спайковых потенциалов на каждой медленной волне, по сравнению с другими фазами. В фазу III спайковые потенциалы максимальной амплитуды и максимальной длительности [Sarna, 2002; Коротько, 2013; Wood, 2020; Тропская, 2023]. Отметим, что соотношение фаз ММК может отличаться при различных состояниях. Кроме того, в определенных условиях ММК может исчезать, вследствие отсутствия той или иной фазы или двух фаз, что является основным признаком нарушения моторики тонкой кишки в межпищеварительном периоде. При поступлении пищи периодическая моторика исчезает — ММК ингибируется появлением нутриентов в верхней части тонкой кишки. Пищевая моторика представляет собой непропульсивную перистальтику, которая способствует эффективному перемешиванию пищевого комка с пищеварительными соками [Коротько, 2013; Wood, 2020; Тропская, 2023].

Несмотря на длительную историю изучения периодической деятельности кишечника, ряд вопросов остается открытым. В частности, нет данных о том, как долго сохраняется периодическая моторная активность тонкой кишки при ПД, и какие особенности перестройки ритма происходят при адаптации к эндогенному питанию.

Исследование микробиоты желудочно-кишечного тракта в последние десятилетия является очень важным направлением в биологии и медицине. Микробиота ЖКТ здорового организма поддерживает общий гомеостаз микробиоты и хозяина. Нестабильность в микробиологическом составе влечет за собой целый ряд патологических состояний. Известно, что кишечная микрофлора влияет на кишечную нервную систему, эндокринную систему, принимает участие в иммунных механизмах [Аверина, 2017].

Микробиота кишечника в энергетическом гомеостазе исполняет роль модулятора в ЖКТ [Пальцын, 2021]. Так, микробиота принимает активное участие в расщеплении поступивших в организм хозяина питательных веществ, а также в поддержании в норме слизистой оболочки ЖКТ. Также известно, что нормобионты осуществляют формирование колонизационной резистентности к патогенной флоре, а также принимают участие в формировании иммунитета хозяина [Шевяков и др., 2007].

Хозяин ежедневно потребляет три основных типов макронутриентов: белки, жиры и углеводы. Не все макронутриенты способны усваиваться организмом, в этом микробиота помогает организму хозяина, ферментируя непереваренные пищевые волокна и синтезируя метаболиты, которые в дальнейшем принимают участие в регуляции физиологических процессов организма хозяина [Guo et al., 2023; Pieczyńska-Zająć et al., 2024].

Существуют данные, которые говорят о том, что микробиота принимает участие в обмене жирных кислот, кроме того, микробиота оказывает действие на выработку эпителием адипоцитарного белка, который является переносчиком жирных кислот [Leeming et al., 2019; Mansour et al., 2021]. Также, широко известно, что кишечные бактерии являются источником короткоцепочечных жирных кислот – пропионовой, масляной и уксусной кислот, которые служат источником энергии в кишечнике, кроме того, они участвуют в модуляции физиологических процессов в организме хозяина [Popa et al., 2023; Guo et al., 2023]. Существуют данные, что бактерии синтезируют фосфолипиды, которые способны включаться в клеточные мембранны [Ткаченко, 2006]. Также известно, что кишечная микробиота обладает способностью преобразовывать первичные желчные кислоты во вторичные [Guo et al., 2023].

Кишечная микробиота благодаря реакциям дезаминирования и декарбоксилирования принимает участие в модификации аминокислот, в частности в преобразовании ароматических аминокислот таких как тирозин, аланин и триптофан [Arnoriaga-Rodríguez et al., 2021]. Отметим, что лактобактерии

и бифидобактерии способны продуцировать важные аминокислотные нейромедиаторы [Олескин и др., 2014].

В реакции гидролиза полисахаров бактерии способны образовывать простые сахара, которые являются важным источником энергии в организме [Ткаченко, 2006].

Помимо всего прочего, многие кишечные бактерии способны синтезировать витамины группы В, которые являются кофакторами для многих ферментативных реакций [Pieczyńska-Zajac et al., 2024].

Во время голодания субстраты, которые доступны для бактерий модифицируются, перестраивая метаболизм микробиоты кишки [Huang et al., 2022]. Кроме того, при голодании прекращается выработка антимикробных белков, снижая иммунитет слизистой оболочки кишки [Fukatsu, 2011].

Известно, что при ограничении пищи размер кишки уменьшается, что влечет за собой увеличение конкуренции среди микробиоты за пространство [Kohl et al., 2014]. Кроме всего прочего при голодании наблюдается снижение секреции слизи энтероцитами, следствием этого является изменение видового состава микробиоты, поскольку некоторым видам микроорганизмов для жизнедеятельности необходима слизь, снижение ее секреции приводит к гибели большинства нормобионтов и адгезии условно-патогенной флоры [Kohl et al., 2014; Angoorani et al., 2021]. Также голод влечет за собой нарушение обмена веществ в слизистой оболочке кишечника, что приводит к увеличению условно-патогенной и патогенной флоры [Шевяков и др., 2007].

В исследовании Г. Р. Вардилл и коллег на крысах после острого 48-ми часового голодания наблюдалось снижение количества *Lactobacillus*, что объясняется тем, что эти микроорганизмы питаются в основном экзогенными источниками питания, а увеличение *Ruminococcus* объясняется тем, что этот вид микроорганизмов питается эндогенными источниками питания, в частности муцином [Wardill et al., 2020]. Схожие данные были получены при длительном голодании у мышей: наблюдалось также снижение численности *Lactobacillus* и *Prevotella* и увеличение *Bacteroides* [Kohl et al., 2014]. В исследовании на мышах

ежедневное прерывистое голодание по 16 часов в течение 30-ти дней приводило к увеличению количества *Akkermansia* и снижение *Alistipes* [Li et al., 2020]. Также в исследовании Р. Менаж и коллег, было показано, что при 10-ти дневном прерывистом голодании у людей наблюдалось значительное увеличение *Bacteroides* и *Proteobacteria* и снижение *Firmicutes* [Mesnage et al., 2019].

Таким образом, при голодании наблюдается гибель нормальной микробиоты кишечника и рост условно-патогенной флоры, которая впоследствии колонизирует кишечник. После чего доминирующая микробиота начинает активировать новые метаболические пути, в числе которых инициация распада белков. Образующиеся при распаде аминокислоты используются для синтеза биопленок, которые необходимы для защиты новой флоры от внешних воздействий и дальнейшей колонизации данной микробиоты в ЖКТ хозяина [Белобородова, 2019].

## **1.2 Гамма-аминомасляная кислота (ГАМК) как стресс-лимитирующая система. Влияние ГАМК на метаболизм, моторику кишечника и микробиоту**

ГАМК является известным тормозным нейротрансмиттером в центральной нервной системе (ЦНС), вместе с тем в настоящее время большое внимание уделяется влиянию ГАМК на периферию.

Хорошо известно, что органы ЖКТ имеют собственную нервную систему. Эта нервная система известна как энтеральная нервная система (ЭНС), которая способна функционировать автономно от ЦНС. ЭНС состоит из ганглиев в подслизистом и миентеральном сплетениях [Хочанский, 2015; Spencer, 2020]. Большое скопление нейронов ЭНС обеспечивает внутренний контроль физиологических процессов в ЖКТ [Seifi M., 2015]. Известно, что миентеральное сплетение принимает участие в регуляции продвижения содергимого, в то время как подслизистое сплетение вовлечено в секрецию и всасывание [Spencer, 2020].

Сплетения ЭНС передают информацию по афферентным волокнам в ЦНС в ствол мозга. На уровне nucleus tractus solitarii (NTS) ГАМКергический синапс оказывает влияние на нейроны второго порядка (глутаматергические или

ГАМКергические). Эти нейроны способствуют интеграции входных сигналов от афферентных аксонов. Сигнал от NTS передается в dorsal motor nucleus, а затем через эфферентные волокна (как холинергические так и неадренергические нехолинергические) поступает в ЭНС [Hornby, 2001; Browning, 2011].

Так же, как в ЦНС, в ЭНС содержатся ГАМКергические волокна, которые разветвляются вдоль всего ЖКТ. Установлено, что ГАМКергические нейроны локализуются как в подслизистом, так и в миентеральном сплетении [Krantis, 2000; Koussoulas et al., 2018]. Кроме того, ГАМК способны синтезировать и выделять эндокринные клетки слизистой оболочки ЖКТ [Krantis et al., 1994; Auteri M., 2014]. Высвобождаясь из эндокриноподобных клеток, ГАМК действует как классический желудочно-кишечный гормон или местный аутокринный или паракринный фактор [Krantis et al., 1994; Krantis, 2000].

Синтез ГАМК в ЭНС по своему механизму схож с синтезом этой аминокислоты в ЦНС. Глутамат из цикла трикарбоновых кислот (ЦТК) под действием глутаматдекарбоксилазы, который в качестве своего кофактора использует пиридоксальфосфат, декарбоксилируется до ГАМК [Krantis, 2000; Hyland, 2010]. После чего ГАМК упаковывается в везикулы, которые переносят ГАМК в пресинаптическое окончание, где она благодаря калий-зависимому механизму высвобождается. После чего она достигает постсинаптического нейрона и связывается с ГАМК-рецептором [Vargas, 2018]. Несвязанная ГАМК с помощью мембранныго транспортера переносится обратно в пресинаптический нейрон, либо в нейроглию и в дальнейшем катаболизируется в реакции переаминирования под действием трансаминазы (ГАМК-Т) до янтарного полуальдегида, который с участием дегидрогеназы превращается в сукцинат. Сукцинат возвращается в ЦТК [Bak et al., 2006; Hyland, 2010; Vargas, 2018]. Кроме того, есть данные, которые указывают на то, что на периферии, в частности в слизистой ЖКТ, синтез ГАМК осуществляется за счет окислительного дезаминирования путресцина с участием диаминооксидазы, результатом этой реакции является образование ГАМК-альдегида, который под действием фермента альдегиддегидрогеназы превращается в ГАМК [Watanabe et al., 2002].

Существуют подтвержденные сведения Д. Т. Туэйтса и коллег, которые указывают на то, что эндогенный ГАМК способен проникать через апикальную поверхность слизистой оболочки кишки [Thwaites et al., 2000]. Таким образом, можно говорить о том, что кишечные эпителиоциты способны поглощать и накапливать ГАМК. Кроме того, есть данные, что в эпителии кишечника существует аутокринная ГАМКергическая система [Li et al., 2012].

В ЭНС ГАМК, в отличие от своего тормозного действия в ЦНС, оказывает как тормозное, так и стимулирующее воздействие, которое осуществляется за счет рецепторов ГАМК [Krantis, 2000]. Существует три типа ГАМК-рецепторов: ГАМКА, ГАМКВ и ГАМКС. ГАМКА и ГАМКС – рецепторы схожи по своему строению. Эти рецепторы являются ионотропными каналами хлорного типа. Каналы образованы комбинациями из пяти субъединиц, каждая из которых имеет свою изоформу [Sigel, 2012; Auteri et al., 2015; Vargas, 2018]. Каждую изоформу образует 19 субъединиц:  $\alpha$  (1-6),  $\beta$  (1-3),  $\gamma$  (1-3),  $\delta$ ,  $\varepsilon$ ,  $\theta$ ,  $\pi$ ,  $\rho$ . Каждая различная комбинация субъединиц может иметь различное физиологическое и фармакологическое свойство, и имеют различную локализацию и экспрессию в ЦНС и на периферии [Stephens et al., 2017]. Примерно половина субъединицы ионотропного рецептора образована гидрофильным внеклеточным N-концевым доменом, который содержит Cys-петлю за которой следует 4 трансмембранных домена ( $M_1, M_2, M_3, M_4$ ). Домен  $M_2$  образует внутреннюю выстилку канала, а между доменами  $M_3$  и  $M_4$  образуется внутриклеточная петля, которая принимает участие в фосфорилировании. За  $M_4$  доменом располагается короткий С-концевой домен [Sigel, 2012; Vargas, 2018]. В каждом комплексе ионотропного ГАМК-рецептора существует аллостерический сайт связывания для других веществ (бензодиазепинов, барбитуратов, этанола) [Rudolph, 2021].

После связывания ГАМК с ионотропным ГАМК-рецептором клеточная мембрана деполяризуется после чего пространственная структура  $M_2$  меняется, что влечет за собой открытие хлорного канала и ионы хлора устремляются в клетку, что приводит к гиперполяризации клетки, которая сопровождается снижением ее возбудимости [Watanabe et al., 2002; Auteri et al., 2015]. Существуют сведения, что

ГАМК-рецепторы находятся как на холинергических, так и на NANC-нейронах [Krantis, 2000]. По литературным данным известно, что ГАМКА-рецепторы способны активировать как холинергические, так и нехолинергические неадренергические нейроны (NANC-нейроны), высвобождая ацетилхолин и оксид азота (NO) соответственно, в то время как ГАМКС-рецепторы активируют только NANC-нейроны [Zizzo et al., 2007; Rotondo et al., 2010].

ГАМКВ-рецепторы являются метаботропными, связанными с G-белком. Этот тип рецептора располагается на мембране клеток на пресинаптической и постсинаптической терминали [Bowery, 2010]. ГАМКВ-рецептор состоит из двух субъединиц: R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub>, которые внутри клетки соединяются друг с другом C-концами, а N-конец находится вне клетки. Каждая субъединица состоит из семи трансмембранных гидрофобных домена. Отметим, что только у R<sub>1</sub> присутствует участок связывания с ГАМК. [Malcangio, 2018, Frangaj, 2018, Vlachou et al., 2021]. Взаимодействие ГАМК с ГАМКВ-рецептором приводит к активации G-белка. α-субъединица ингибирует работу аденилатциклазы, а β-субъединица активирует работу K<sup>+</sup>-каналов и ингибирует Ca<sup>2+</sup>-каналы. После активации K<sup>+</sup>-каналов происходит отток калия из клетки, таким образом, клеточная мембрана гиперполяризуется, что приводит к ингибированию проводимости клеточного импульса. Ингибирование Ca<sup>2+</sup>-каналов приводит к снижению поступления кальция в клетку, вследствие чего, его концентрация внутри клетки снижается, что приводит к более медленному высвобождению возбуждающих нейротрансмиттеров (ацетилхолина) [Padgett, 2010; Auteri et al., 2015; Vargas, 2018].

Все три ГАМК-рецептора присутствуют вдоль всего ЖКТ, однако экспрессия в разных отделах ЖКТ отличается [Krantis, 2000; Watanabe et al., 2002]. Работа ГАМК-рецепторов играет важную роль в процессах, происходящих в ЖКТ, включая секрецию, моторику и всасывание [Zizzo et al., 2007; Hyland, 2010; Li et al., 2012;]

Как уже говорилось выше, длительная ПД оценивается как одна из разновидностей стресса. Хорошо известно, что стресс от голода в организме человека и животных может вызывать гипогликемию [Zhang et al., 2021]. Стоит отметить, что при ПД значительные изменения претерпевают медиаторные

системы. В частности, установлено, что ГАМК в организме оказывает стресс-лимитирующее действие. Адаптация организма к эндогенному питанию при голодании происходит за счет изменения активности некоторых ферментов, в том числе этот процесс осуществляется за счет ферментов, которые участвуют в обмене ГАМК [Markovska-Gosic et al., 2009; Ибрагимова, 2017].

Связываясь со своим рецептором, ГАМК активирует нисходящий путь, который сводится на некоторых факторах транскрипции, включая белок, связывающий элемент, реагирующий на цАМФ и NF-кВ. Которые, в свою очередь, вызывают экспрессию генов, кодирующие белки, принимающие участие в адаптации организма к стрессу [Mattson et al., 2018].

Образующиеся во время  $\beta$ -окисления жирных кислот кетоновые тела способны повышать уровень ГАМК, тем самым способствовать опосредованию адаптивных процессов организма в ответ на длительную ПД [Brocchi et al., 2022]. За счет каких механизмов происходит усиленный синтез и повышение уровня ГАМК в условиях кетоза и снижения уровня глюкозы в плазме крови? Метаболизм кетоновых тел во время голодания приводит к увеличению продукции ацетил-КоА, что в свою очередь приводит к повышенному потреблению оксалоацетата, который расходуется в реакции цитратсинтетазы цикла ЦТК. В это же время в ответ на снижение уровня оксалоацетата происходит торможение реакции аспартатаминотрансферазы, тем самым, снижая скорость трансаминирования глутамата. Вследствие чего происходит накопление глутамата, который становится доступным для глутаматдекарбоксилазы, которая способствует синтезу ГАМК [Лихачев и др., 2017; Daikhin, 1998].

Также, известно, что во время кетоза повышается уровень ацетата в крови, который преобразуется в глутамин. Глутамин, в свою очередь, в дальнейшем преобразовывается в ГАМК [Yudkoff et al., 2007].

Кроме того, существуют сведения о еще одном примере совместного участия обмена жиров и ГАМК при ПД. Липиды печени способны активировать обратную активность ГАМК-шунта. Повышенная активность ГАМК-трансаминазы (ГАМК-

Т) и вместе с накопленной ГАМК приводит к образованию  $\alpha$ -кетоглутарата, что впоследствии активирует процесс глюконеогенеза [Kim, 2023].

Отметим, что ГАМК принимает участие в подавлении окислительного стресса, который возникает в процессе  $\beta$ -окисления жирных кислот. ГАМК ингибирует образование перекиси водорода и активных форм кислорода через сигнализацию p65 и сигнальной системы Keap-Nrf2 [Zhu et al., 2019].

Существуют данные К. Л. Х. ван Берло и коллег, которые указывают на то, что слизистая оболочка толстой и тонкой кишок вносит значительный вклад в синтез организмом ГАМК [van Berlo et al., 1987]. В состоянии голода в венозном русле тонкой кишки наблюдается более высокая концентрация ГАМК, чем в венозном русле толстой, что может говорить о том, что в тонкой кишке большее количество клеток слизистой синтезирует ГАМК [Ong, 1982; Ong, 1984; Tonini et al., 1989; Smid et al., 2000]. Высвобождение ГАМК значительно коррелирует с поглощением глутамина в тонкой кишке голодных крыс. Для учета высвобождения ГАМК необходима лишь небольшая часть поглощенного глутамина, поэтому нельзя сделать выводы о том, какие аминокислоты могут служить предшественниками ГАМК.

К настоящему времени в доступной литературе не обнаружено работ, в которых исследовали влияние экзогенной ГАМК на метаболизм организма при ПД. Большинство работ по изучению метаболизма с введением ГАМК выполнено либо при ожирении, либо при моделировании сахарного диабета. При моделировании ожирения у животных, введение ГАМК приводило к подавлению увеличения массы тела и накоплению жира за счет снижения адипогенеза и липогенеза. Кроме того, ГАМК снижала гипергликемию, дислипидемию и стеатоз печени [Tian et al., 2011; Jin et al., 2024]. В животных моделях сахарного диабета ГАМК снижает инсулинорезистентность за счет повышения экспрессии гена Glut4 и транслокации белка Glut4 в клеточную мембрану, а также ГАМК снижает экспрессию гена рецептора глюкагона, ингибируя глюконеогенез [Rezazadeh et al., 2021; Sohrabipour et al., 2018].

Эти данные доказывают, что ГАМК в организме играет важную роль в регулировании энергетического обмена, а также эндокринной регуляции. Недостаток данных о влиянии ГАМК на метаболическую перестройку при длительной ПД говорит о необходимости дальнейшего изучения этой аминокислоты при данном состоянии.

Как уже говорилось ранее, ГАМК принимает участие в широком спектре физиологических функций в тканях и органах вне мозга. В частности, существуют данные, о том, что ГАМК-ergicическая система играет важную физиологическую роль в работе ЖКТ [Malomouzh et al., 2019]. Роль ГАМК в модуляции моторики ЖКТ довольно сложна и не до конца изучена, поскольку эффекты, вызванные ГАМК, зависят от вида животного, области ЖКТ и вовлеченных рецепторов ГАМК [Auteri et al., 2015]. Известно, что активация ГАМК-рецепторов оказывает разнонаправленное влияние на моторику – как тормозное, так и стимулирующее [Krantis, 2000].

Отметим, что большинство исследований, направленных на изучение влияния ГАМК на моторику кишечника выполнено в условиях *in vitro* на изолированных препаратах различных отделов тонкой и толстой кишки [Ong, 1982; Ong, 1984; Tonini et al., 1989; Smid, 2000; Zizzo et al., 2022].

Одними из таких работ является серия исследований С. Байера и коллег (2002), которые выполнялись на изолированных препаратах дистального отдела толстой кишки [Bayer et al., 2002]. Результаты исследований показали, что ГАМК регулирует как возбуждающую, так и ингибирующую нейронную активность толстой кишки. Кроме того, на основе полученных данных было сделано предположение о вовлечении NANC-механизмов с выделением ингибирующего нейротрансмиттера NO [Bayer et al., 2002; Bayer et al., 2003].

В исследовании на целых сегментах толстой кишки мышей вызывали перистальтическую активность, после чего было установлено, что чем ниже концентрация введения ГАМК, тем сильнее перистальтический ответ, вследствие увеличения количества выделяемого ацетилхолина, а при повышении

концентрации вводимого ГАМК перистальтический ответ снижался из-за опосредованного снижения концентрации ацетилхолина [Auteri et al., 2014].

Похожие данные были получены итальянскими исследователями на препаратах двенадцатиперстной кишки крыс. В эксперименте была показана способность ГАМК модулировать моторику двенадцатиперстной кишки, а также было установлено, что механизм влияния ГАМК осуществляется путем пресинаптической регуляции, опосредованно через высвобождение ацетилхолина из холинергических нейронов и NO из NANC-нейронов [Zizzo et al., 2007].

Кроме этого, участие этих механизмов было подтверждено в остром эксперименте *in vivo* на наркотизированных крысах. Проводился анализ характера влияния ГАМК на реализацию сократительной активности тощей кишки в ответ на электростимуляцию ветвей блуждающего нерва. Было показано, что исследуемый нейротрансмиттер тормозит сократительную активность гладких мышц тощей кишки [Белобородая и др., 2011]. Также в исследовании на анестезированных морских свинках А. Джотти и коллег (1985) в эксперименте оценивалась моторика дистального отдела толстой кишки при внутривенном введении ГАМК и баклофена (агонист ГАМКВ-рецептора). Эффектом после введения препаратов являлось снижение моторики толстой кишки. Авторами была высказана гипотеза о том, что этот эффект связан с ингибированием холинорецепторов [Giotti et al., 1985]. Сходный эффект на моторику желудка наблюдался при введении баклофена анестезированным хорькам [Blackshaw et al., 2000].

В исследованиях *in vivo* на анестезированных крысах также было установлено опосредованное действие ГАМК на NANC-нейроны. В эксперименте животным вводили ГАМК, после чего наблюдалась релаксация тонкой кишки, а последующее введение антагониста ГАМКА-рецептора бикукулина отменяло ГАМК-индукционную релаксацию [Maggi et al., 1986]. Схожие выводы сделал в своем исследовании А. Крантис с коллегами в исследованиях *in vivo* на двенадцатиперстной кишке крыс [Krantis et al., 1998].

В своем исследовании *in vivo* на собаках С. Каваками и коллеги помимо изучения сократительной активности тонкой кишки параллельно проводили

измерение концентрации ацетилхолина в ее просвете с помощью микродиализа. При введении мусцимола (агонист ГАМК-рецептора) наблюдалось повышение концентрации ацетилхолина и ускорение моторики, обратный эффект наблюдался при введении баклофена. Введение бикукулина не оказывало влияние на моторику, однако концентрация ацетилхолина была неизменной. В ходе эксперимента было сделано несколько предположений: мусцимол и баклофен способны модулировать кишечную двигательную активность за счет высвобождения ацетилхолина из кишечных холинергических нейронов, а бикукулин, возможно, действует на рецепторы, которые не расположены на холинергических нейронах, то есть способен индуцировать торможение за счет NANC-нейронов [Kawakami et al., 2004].

Таким образом, в обсуждаемых в этом разделе работах установлено влияние экзогенной ГАМК на моторику желудочно-кишечного тракта, которое объясняют сложным балансом ингибирующих и стимулирующих эффектов. Эти эффекты осуществляются за счет опосредованного влияния ГАМК на NANC и холинергические нейроны. Отметим также, что большинство существующих исследований направленных на изучение эффектов ГАМК на моторику ЖКТ выполнено либо *in vitro* на препаратах разных отделов ЖКТ, либо *in vivo* в острых экспериментах в условиях наркоза. Сведения о влиянии экзогенной ГАМК на периодическую электрическую активность тонкой кишки в условиях хронического эксперимента в литературе отсутствуют. А в связи с накопленными данными о ее модулирующим влиянии *in vitro* и *in vivo* в острых экспериментах в условиях наркоза можно полагать, что ГАМК может являться перспективным средством для нормализации периодической электрической активности тонкой кишки при ее нарушениях в различных экстремальных состояниях.

В последнее десятилетие значительно возросло внимание многих исследователей к изучению кишечной микробиоты. Установлено, что кишечная микробиота имеет очень важное значение в работе и функционировании ЖКТ. Так, микроорганизмы принимают участие в переваривании пищи, в активации кишечного клеточного иммунитета и энтероэндокринной системы [Аверина, 2017;

Dicks, 2022]. Помимо этого, микробиом кишки вырабатывает важные нейромедиаторы. В их число входят такие нейротрансмиттеры как ГАМК, дофамин, норадреналин, серотонин и гистамин [Цавкелова и др., 2000; Asano et al., 2012; Stefano et al., 2018; Chen et al., 2019; Strandwitz et al., 2019]. Бактерии, как правило используют их для связи с ЦНС и ЭНС [Strandwitz, 2018]. Вырабатывая нейротрансмиттеры и молекулы микроорганизмы через слой энтероцитов, которые являются воротами для содержимого просвета кишечника, передают сигнал, благодаря нейронам ЭНС, находящимся в подслизистом и межмышечном слоях стенок ЖКТ, в головной мозг по афферентным волокнам блуждающего нерва. В свою очередь головной мозг через эфферентные волокна дает ответ эндокринным и энteroхромаффинным клеткам, а также иммунной системе ЖКТ [Dicks, 2022]. Таким образом, существует двунаправленный путь связи между микробиотой, кишечником и ЦНС. В литературе это взаимодействие называют осью мозг-кишечник-микробиом [Аверина, 2017; Braga et al., 2024].

В настоящее время существует достаточно большое количество работ, посвященных ГАМК и микробиоте. В частности, эти исследования посвящены выявлению и изучению видов и штаммов бактерий, заселяющих ЖКТ, которые синтезируют данную аминокислоту. Так, одним из хорошо известных ГАМК-синтезирующих бактерий являются микроорганизмы рода *Bifidobacterium*, в частности такие виды как: *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium angulatum*, *Bifidobacterium dentum*, *Bifidobacterium infantis* [Pokusaeva et al., 2017; Skonieczna-Żydecka et al., 2020; Dicks, 2022]. Кроме того, значительное количество видов рода *Lactobacillus* также способны вырабатывать ГАМК. В их число входят: *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus helveticus* и *Lactobacillus zymae* [Юнес и др., 2016; Li, 2010; Bravo et al., 2011; Li et al., 2016; Rashmi et al., 2018; Skonieczna-Żydecka et al., 2020; Laroute et al., 2021; Casertano et al., 2024]. Помимо этих двух родов известно также, что способны производить и выделять ГАМК *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus thermophilus*, *Bacteroides fragilis*,

*Lactococcus lactis* и *Akkermansia muciniphila* [Skonieczna-Żydecka et al., 2020; Dicks, 2022; Casertano et al., 2024; Konstanti et al., 2024].

За счет какого механизма микробиота кишечника продуцирует ГАМК? Накопленные в литературе данные указывают на два механизма. Первый путь синтеза ГАМК является общим как для клеток организма человека и млекопитающих, так и для микроорганизмов. ГАМК образуется благодаря, так называемому, ГАМК-шунту, который является альтернативным путем ЦТК. Первым этапом этого пути является производство глутамата из  $\alpha$ -кетоглутарата, затем глутамат превращается в ГАМК благодаря необратимой реакции декарбоксилирования, в которой принимает участие декарбоксилаза глутаминовой кислоты. Этот фермент ограничивает скорость синтеза ГАМК и в качестве своего кофактора использует пиридоксальфосфат. Катаболизм ГАМК происходит с участием фермента ГАМК-трансаминазы (ГАМК-Т) с образованием янтарного полуальдегида с последующим его окислением специфической дегидрогеназой до сукцината, который в последующем возвращается в ЦТК [Pokusaeva et al., 2017; Ravasz et al., 2017; Liwinski et al., 2023]. Этот механизм является одним из способов использования углерода и азота в качестве источника энергии при отсутствии питательных веществ [Liwinski et al., 2023]. Второй механизм синтеза ГАМК характерен для микроорганизмов, которые кодируют ген GAD36. Его осуществление происходит через систему глутаматдекарбоксилазы [Braga et al., 2024]. В результате анаэробного гликолиза образуется лактат, который значительно снижает pH цитоплазмы (в диапазоне pH=4-6), что запускает активацию гена GAD36, что способствует активации реакции  $\alpha$ -декарбоксилирования глутамата при котором и образуется ГАМК [Pokusaeva et al., 2017; Braga et al., 2024; Konstanti et al., 2024]. Эта реакция сопровождается потреблением внутриклеточных ионов  $H^+$ , кроме того, в ходе реакции, глутамат заменяется на имеющую более щелочную реакцию ГАМК, эти два процесса приводят к повышению pH цитоплазмы. В свою очередь дальнейшее высвобождение ГАМК из бактериальной клетки способствует противостоянию микроорганизма кислотному стрессу.

За последние 20 лет у исследователей с каждым годом увеличивается интерес к ГАМК-продуцирующим бактериям. Так М. П. Монтеиро с коллегами не остановились на простой возможности *Lactococcus lactis* синтезировать ГАМК, а с помощью генной инженерии сконструировали штамм, который способен синтезировать ГАМК в более высоких концентрациях. Проведение подобных исследований говорит о важном значении ГАМК как для отдельных органов, так и для организма в целом [Monteiro et al., 2024].

Как уже говорилось, пробиотические организмы вырабатывающие ГАМК обеспечивают комфортную среду для нормобионтов в кишечнике, при этом параллельно подавляя патогенную флору [Diez-Gutiérrez et al., 2019]. В исследовании М. Казертано и коллег, выполненное на имитаторе кишечника, в котором наблюдалось улучшение микробиомного состава, и как следствие увеличение выработки ГАМК, в ответ на добавление 13-ти штаммов ГАМК-продуцирующих бактерий [Casertano et al., 2024].

В большом количестве исследований показано, что введение ГАМК-синтезирующих бактерий приводит к значительному снижению гормонов стресса. Тем самым благодаря микробиоте кишечника наблюдается увеличение устойчивости организма к стрессу [Sudo et al., 2004; Bravo et al., 2011; Messaoudi et al., 2011; Savignac et al., 2014; Burokas et al., 2017;].

Как уже говорилось выше, синтезированная бактериями ГАМК способна активировать рецепторные участки сенсорных нейронов в ЭНС. В исследовании *ex vivo* на сегментах тонкой кишки мышей, которые в течение 9-ти дней ежедневно принимали *Lactobacillus reuteri* наблюдалась мышечная релаксация стенки кишки [Wang et al., 2010]. Позднее в исследованиях *in vivo* на мышах показано, что введение *Lactobacillus rhamnosus* ежедневно однократно в течение недели приводило к улучшению моторики, что способствовало увеличению частоты стула и сокращению транзита по ЖКТ [Chandrasekharan et al., 2019].

В отличие от исследований с введением ГАМК-синтезирующих бактерий, работы, в которых изучалось влияние экзогенного ГАМК на микробиоту являются достаточно малочисленными. Так, Д. Ван и коллеги в эксперименте показали, что

введение ГАМК *per os* мышам с дисбактериозом, вызванным высокожировой диетой, приводило к восстановлению микробиоты. Таким образом, в очередной раз доказано, что ГАМК обладает регулирующим эффектом на кишечную микробиоту [Wang et al., 2023]. Схожий эффект наблюдался при внутрибрюшинном введении ГАМК крысам в эксперименте в дозе 10 мг/кг 2 раза ежедневно в течение 6 дней до начала моделирования гипокинетического стресса. На 3, 7, 14 и 30 сутки исследовали видовой и количественный состав микробиоты слизистой двенадцатиперстной, тонкой и толстых кишок. Полученные данные указывали на корrigирующее действие ГАМК [Шекоян и др., 2022].

Таким образом, ГАМК-синтезирующие бактерии способны контролировать состояние среды, в которой находятся, тем самым модулируя видовой состав кишечной микробиоты. Кроме того, бактерии могут контролировать состояние организма своего хозяина, посредством выработки ГАМК, в том числе увеличивать устойчивость организма к стрессовым факторам.

Резюмируя все вышесказанное, в настоящей работе предпринята попытка оценить влияние экзогенного внутрикишечного введения ГАМК на адаптационную перестройку функционального состояния тонкой кишки при стрессе, вызванном длительной ПД.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Материал исследования

Проведено 4 серии хронических экспериментов на 80 здоровых половозрелых крысах-самцах Вистар, конвенционального статуса с массой тела около 400 г (табл. 1). В эксперимент отбирались животные методом рандомизации, прошедшие карантинный режим (14 дней). В качестве критериев приемлемости рандомизации считали отсутствие внешних признаков каких-либо заболеваний и гомогенность групп по массе тела. В эксперименты входили животные одного возраста, полученные из одного питомника. Протокол экспериментов был одобрен локальным комитетом по биомедицинской этике НИИ СП им. Н.В. Склифосовского.

Таблица 1 - Материал исследования

Серии экспериментов	Общее число животных	Число животных, у которых записаны ЭМГ	Общее количество ЭМГ
1.Определение роли холинергических и нитрергических механизмов в эффектах ГАМК на электрическую активность тонкой кишки у здоровых животных	21	21	333
2.Выявление стадий адаптационных изменений электрической активности тонкой кишки при стрессе, вызванным длительной ПД	12	10	360

*Продолжение таблицы 1*

3.Изучение состояния микробиоты кишечника, уровня метаболизма, и органов маркеров стресса при длительной ПД	29	—	—
4.Оценка влияния ГАМК на электрическую активность тонкой кишки, состояния микробиоты кишечника, уровня метаболизма, и органов маркеров стресса на различных стадиях длительной ПД	18	18	486
Итого	80	49	1179

**Оперативная подготовка**

Животным перед началом экспериментов проводили операционную подготовку. В качестве наркоза внутримышечно вводили смесь Золетила 100 с Ксилазином 20 мг в соотношении 1:2. Доза данной смеси составляла 0,6 мл/кг. В ходе предварительной операционной подготовки в тощую кишку (5 см дистальнее от связки Трейтца) устанавливали зонд для энтерального введения растворов. Животным, которым помимо введения растворов в дальнейшем регистрировали электрическую активность тонкой кишки (серии 1, 2 и 4) дополнительно осуществляли имплантацию трех петельчатых монополярных электродов в серозно-мышечный слой тощей кишки (на расстоянии 10-ти, 15-ти и 20 см дистальнее от связки Трейтца). Дополнительно в мышечный слой брюшной стенки вживляли референтный электрод. Зонд и провода электродов с помощью специальных игл-проводников проводили из брюшной полости через мягкие ткани брюшной стенки и тазовой области, протаскивали под кожей хвоста и выводили наружу. На конечной трети хвоста закрепляли втулку с шайбами. Брюшную полость послойно ушивали. Крыс размещали в индивидуальные клетки таким образом, что фиксированный кончик хвоста со свободными концами зонда и электродов оказывался снаружи клетки, что позволяло беспрепятственно вводить растворы в

зонд и осуществлять соединение проводов электродов с регистрирующим устройством [Тропская и др., 2008].

Серия 1 Определение роли холинергических и нитрергических механизмов в эффектах ГАМК на электрическую активность тонкой кишки у здоровых животных.

Исследования выполнены на 21 крысе. Животным за 7 дней до начала экспериментов была выполнена оперативная подготовка с вживлением электродов и зонда в тонкую кишку по вышеописанной методике.

Для изучения роли холинергических и нитрергических механизмов в эффектах ГАМК на электрическую активность тонкой кишки у здоровых животных использовали: дистиллированную воду, ГАМК, блокатор М-холинорецепторов (М-XR) – атропин и активатор нитрергических путей – донор NO –нитроглицерин.

Эксперименты начинали после 18-ти часовой ПД. Индикатором к началу проведения экспериментов являлось появление при регистрации ЭМГ нормального распространяющегося ММК у всех животных. Всем животным вначале эксперимента регистрировали фоновую электрическую активность тонкой кишки в течение часа, затем во время регистрации ЭМГ в тонкую кишку через зонд вводили растворы (6 вариантов) и регистрировали ЭМГ два часа после введения растворов:

- дистиллированная вода - 1 мл;
- ГАМК в дозе 70 мг/кг - 1 мл;
- атропин в дозе 1 мг/кг - 1 мл;
- атропин в дозе 1 мг/кг - 1 мл с последующим введением (через 10 минут) 1 мл раствора ГАМК в дозе 70 мг/кг;
- нитроглицерин в дозе 0,8 мг/кг - 1 мл;
- нитроглицерин в дозе 0,8 мг/кг - 1 мл с последующим введением (через 15 минут) 1 мл раствора ГАМК в дозе 70 мг/кг.

В сериях 2 и 3 моделировали стресс, вызванный длительной 9-ти суточной ПД, а в серии 4 на разных стадиях длительной 9-ти суточной ПД внутрикишечно вводили ГАМК. Серии 2 и 3 составили контрольную группу животных, а серия 4 - опытную.

С целью сравнения с физиологической нормой была дополнительно сформирована интактная группа.

Серия 2 Выявление стадий адаптационных изменений электрической активности тонкой кишки при стрессе, вызванным длительной ПД.

Исследования выполнены на 12 здоровых крысах-самцах Вистар в условиях стресса, вызванным длительной 9-ти суточной ПД.

Животным за 7 дней до начала экспериментов была выполнена оперативная подготовка с вживлением электродов и зонда в тощую кишку. Эксперименты начинали после 18-ти часовой ПД при регистрации в фоновых ЭМГ нормального распространяющегося ММК. После регистрации фоновых ЭМГ животным давали корм, а в течение последующих 9 дней (до окончания эксперимента) животных лишали корма, оставляя свободный доступ к воде. Ежедневно животным проводили регистрацию электрической активности тонкой кишки в течение 60-ти минут. После окончания 9-ти дневного эксперимента животных выводили высокой дозой наркоза.

По результатам анализа ЭМГ серии 2 нами были выделены 3 стадии адаптационных изменений электрической активности тонкой кишки при стрессе, вызванным длительной ПД: 1 стадия - с 1-е по 3-и сутки от начала ПД, сопровождающаяся потерей 10 % массы тела, 2 стадия - с 4-ых по 6-е сутки (потеря массы тела от 10 % до 15 %) и 3 стадия – с 7-ых по 9-е сутки (потеря массы тела от 15 % до 25 %).

Серия 3 Изучение состояния микробиоты кишечника, уровня метаболизма, и органов маркеров стресса при длительной ПД.

Исследования выполнены на 29 крысах-самцах Вистар, включая группу интактных животных ( $n=8$ ). Предварительная оперативная подготовка по вживлению зонда для энтерального введения растворов выполнялась за 7 дней до начала экспериментов.

На каждой стадии ПД, в течение 3-х дней, животным ежедневно однократно в зонд вводили 1 мл дистиллированной воды. Ежедневно животных взвешивали.

Из эксперимента животных выводили высокой дозой наркоза по 7 крыс на 4-е, 7-е и 10-е сутки от начала ПД. Для биохимического анализа у всех крыс производился забор крови из каудальной вены. Надпочечники и тимус выделяли и взвешивали для определения их абсолютных масс. Относительные массы органов определяли как массу органа (мг) к 100 г массы тела. Желудок выделяли для морфологического исследования, а также измеряли кислотность желудка при помощи индикаторной бумаги. Для бактериологического исследования производили забор содержимого из тонкой и слепой кишки, а также пристеночный соскоб со стенки тонкой кишки.

Серия 4 Оценка влияния ГАМК на электрическую активность тонкой кишки, состояния микробиоты кишечника, уровня метаболизма, и органов маркеров стресса на различных стадиях длительной ПД.

Исследования выполнены на 18 крысах. Животным за 7 дней до начала экспериментов была выполнена оперативная подготовка с вживлением электродов и зонда в тонкую кишку. Эксперименты начинали после 18-ти часовой ПД при регистрации в фоновых ЭМГ нормального распространяющегося ММК. После регистрации фоновых ЭМГ животным давали корм, а в течение последующих 9 дней (до окончания эксперимента) животных лишали корма, оставляя свободный доступ к воде. Ежедневно животных взвешивали и проводили регистрацию электрической активности тонкой кишки в течение 60-ти минут. На разных стадиях ПД, определенных в серии 2, в течение 3-х дней животным внутрикишечно вводили 1 мл раствора ГАМК в дозе 70 мг/кг. После введения раствора ГАМК регистрировали электрическую активность тонкой кишки в течение 120 минут.

Из эксперимента животных выводили высокой дозой наркоза по 6 крыс на 4-е, 7-е и 10-е сутки от начала ПД. Надпочечники и тимус выделяли и взвешивали для определения их абсолютных масс. Относительные массы органов определяли как указано выше. Желудок выделяли для морфологического исследования, а также измеряли кислотность желудка при помощи индикаторной бумаги. Для бактериологического исследования производили забор содержимого из тонкой и слепой кишки, а также пристеночный соскоб со стенки тонкой кишки.

## 2.2 Условия проведения экспериментальных исследований

После операции крысы на протяжении всего эксперимента содержались в лабораторных комнатах в индивидуальных клетках для электрофизиологических исследований без подстилочного материала. Объем клеток, выполненных в форме прямого параллелепипеда (в 6-8 раз больших объема тела крысы) с равномерно расположенными отверстиями в стенках обеспечивали комфортную подвижность животных [Тропская и др., 2008].

Животные содержались в контролируемых условиях окружающей среды: температура воздуха в помещении, в котором находились животные, поддерживались на уровне 20-24 °C, а влажность на уровне 45-65%. Режим освещенности: с 8 до 20 часов - свет, с 20 до 8 часов - сумеречное освещение.

До начала основных серий экспериментов животных в первые и вторые сутки после оперативной подготовки выпаивали смесью солевого энтерального раствора (СЭР) (Фарма-Север, Россия) и глюкозы 5% (Гематек, Россия). На третий и последующие сутки крыс переводили на стандартный виварный рацион, представленный полнорационным комбикормом для лабораторных животных ПК-120 (ООО “Лабораторкорм”, Россия) с добавлением 9% творога и моркови. Всем животным давалось количество воды для питья *ad libitum*.

Животных выводили из эксперимента с помощью внутримышечного введения высокой дозы смеси Золетила 100 с Ксилазином 20 мг, разведенной в соотношении 1:2.

## 2.3 Методы исследования

### 2.3.1 Электрофизиологические исследования

Регистрацию ЭМГ проводили ежедневно в первой половине дня (с 10.00 до 13.00). Во время записи у животных убирали поилки с водой. Для регистрации электрической активности использовались монополярные петельчатые электроды, имплантированные в серозно-мышечный слой тонкой кишки во время операционной подготовки животных к экспериментам.

Три монополярных петельчатых электрода были подключены к электронному энцефалографу NVX-52 по оригинальной методике, созданной в научной лаборатории экспериментальной патологии [Жеребцов, 2019]. Выходной сигнал поступал в компьютер IBM PC AT. Записи трех каналов для одной крысы проводились относительно ее собственного референтного электрода, вживленного в стенку брюшной полости. Особенности аппаратного и программного обеспечения используемого энцефалографа позволяли регистрировать ЭМГ у нескольких крыс одновременно. Регистрация ЭМГ и сохранение их в памяти компьютера происходило при помощи совместимой с энцефалографом программой Neocortex. Сохранение файлов осуществлялось в формате European Data Format (\*.edf). Частота дискретизации оцифрованной записи составляла 250 Гц. Во время регистрации ЭМГ применялись цифровые фильтры: низкочастотный фильтр 0,05 Гц и высокочастотный фильтр 35 Гц. Анализ ЭМГ проводился с помощью прикладного программного обеспечения AcqKnowledge 4.1. Для отсечения медленноволновой составляющей сигнала использовали фильтр низких частот (5 Гц).

При анализе ЭМГ оценивали следующие параметры ММК [Тропская и др., 2016]:

- Частота генерации ММК (количество ММК в час);
- Период ММК (с);
- Процент времени каждой из фаз ММК.

В записях подсчитывали длительность каждой из фаз ММК в секундах, затем длительность каждой фазы умножали на 100 и делили на период ММК. При отсутствии какой-либо фазы ММК подсчитывали длительность регистрируемых фаз в секундах, затем длительность каждой фазы умножали на 100 и делили на длительность записи в секундах;

- Длительность III фазы;
- Скорость распространения фазы III в толстой кишке – расстояние между двумя соседними вживленными электродами деленное на время от окончания фазы III на проксимальном (1 (или) 2) электроде до окончания фазы III на дистальном (2 или 3) электроде.

### **2.3.2 Биохимические исследования**

Определение биохимических маркеров осуществлялось на биохимическом анализаторе Olympus AU2700 (Beckman Coulter, США) с использованием соответствующих для каждого параметра наборов реагентов Beckman Coulter, на базе клинико-биохимической лаборатории экстренных методов исследования НИИ СП им. Н.В. Склифосовского. Определяли основные показатели метabolизма углеводов (уровень глюкозы и альфа-амилазы), белков (уровень общего белка, альбуминов, глобулинов, мочевины и креатинина), жиров (уровень триглицеридов и холестерина) и параметров функционального состояния печени (активность АСТ, АЛТ, ЩФ).

#### Определение глюкозы

В присутствии аденоцинтрифосфата и ионов магния глюкоза фосфорилируется гексокиназой с образованием глюкоза-6-фосфата и аденоциндинифосфата. Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа специфически окисляет глюкозо-6-фосфат до глюконат-6-фосфата, реакция сопряжена с восстановлением НАДФ<sup>+</sup> до НАДН. Повышение абсорбции при 340 нм прямо пропорционально концентрации глюкозы в пробе. Параметр измеряется в мкмоль/л.

#### Определение активности альфа-амилазы

Активность  $\alpha$ -амилазы определяется колориметрическим методом, которое основано на использовании в качестве субстрата 4,6-этилиден( $G_7$ )-р-нитрофенил( $G_1$ )- $\alpha$ -D-мальтогептаозида, который взаимодействует с  $\alpha$ -амилазой и фрагментами  $\alpha$ -глюказидазы, вызывая 100 % высвобождение р-нитрофенола. Увеличение абсорбции при 410 нм прямо пропорционально активности  $\alpha$ -амилазы в пробе. Активность фермента измеряется в Ед/л.

### Определение общего белка

В щелочной среде ионы меди реагируют с белками и полипептидами, которые имеют как минимум две пептидные связи с образованием комплекса фиолетового цвета. Абсорбция данного комплекса, которая измеряется при 540-660 нм, прямо пропорциональна концентрации белка в пробе. Параметр измеряется в г/л.

### Определение альбумина

При реакции бромкрезолового зеленого с альбумином образуется окрашенный комплекс. Его абсорбция измеряется в бихроматической реакции 600-800 нм и прямо пропорциональна концентрации альбумина в пробе. Параметр измеряется в г/л.

### Определение глобулинов

Для определения общего количества глобулинов вычитают из количества общего белка показатель альбуминов, разностью данных показателей будет являться общее количество глобулинов. Параметр измеряется в г/л.

### Определение мочевины

Метод основан на том, что мочевина гидролизуется в присутствии воды до амиака и углекислого газа. Амиак, который образуется в первой реакции, реагирует с 2-оксоглутаратом и НАДН в присутствии глутаматдегидрогеназы с образованием глутамата и НАД<sup>+</sup>. Снижение поглощения НАДН при 340 нм в единицу времени пропорционально концентрации мочевины в пробе. Параметр измеряется в мкмоль/л.

### Определение креатинина

Определение креатинина основывается на реакции, при которой в щелочной среде альбумин образует соединение с пикриновой, которое окрашено в желто-

оранжевый цвет. Скорость изменения абсорбции при 520-800 нм прямо пропорциональна концентрации креатинина в пробе. Параметр измеряется в мкмоль/л

### Определение триглицеридов

Определение триглицеридов основано на ряде сопряженных ферментативных реакций. Триглицериды гидролизуются смесью микробных липаз с образованием глицерина и жирных кислот. Глицеролкиназа фосфорилирует глицерин в присутствии АТФ с образованием глицерин-3- фосфата, он в свою очередь окисляется молекулярным кислородом в присутствии глицеролфосфатоксидазы, это приводит к образованию перекиси водорода и гидроксиацитонфосфата. Перекись водорода используется в реакции окислительного расщепления п-хлорофенола и 4-аминоантимирина, который катализируется пероксидазой и приводящего к образованию хромофора, который измеряется при 660-800 нм. Значение абсорбции при 660-800 нм прямо пропорционально концентрации триглицеридов в пробе. Параметр измеряется в мкмоль/л.

### Определение холестерина

Ферментативный метод используется при определении холестерина, эфиры холестерина пробы гидролизуются холестеринэстеразой. Холестериноксидаза окисляет образовавшийся свободный холестерин до холестен-3-он с образованием перекиси водорода. Перекись водорода окисляясь, соединяется с 4-аминантимирином и фенолом в присутствии пероксидазы, в результате чего образуется хромофор. Интенсивность окраски реакционной смеси, измеренной при 540-600 нм, прямо пропорциональна концентрации общего холестерина в пробе. Параметр измеряется в мкмоль/л.

### Определение АСТ

Данный метод основан на том, что АСТ катализирует трансаминирование аспартата и 2-оксоглютарата, образуя L-глутамат и оксалоацетат. Максимальная каталитическая активность АСТ достигается добавлением к реакционной смеси пиридоксальфосфата. В присутствии малатдегидрогеназы оксалоацетат

восстанавливается до L-малата в присутствии малатдегидрогеназы, в то же время НАДН окисляется до НАД<sup>+</sup>. ЛДГ катализирует реакцию пирувата с НАДН, при этом образуется лактат и НАД<sup>+</sup>. Значение абсорбции, вследствие потребления НАДН, измеряется при 340 нм и прямо пропорционально активности АСТ в пробе. Активность фермента измеряется в Ед/л.

#### Определение АЛТ

Принцип данного метода заключается в том, что АЛТ переносит аминогруппу с аланина на 2- оксоглютарат с образованием пирувата и глутамата. Максимальная каталитическая активность АЛТ достигается с помощью добавления к реакционной смеси пиридоксальфосфата. Пируват вступает в реакцию с НАДН катализированную ЛДГ, продуцируя лактат и НАД<sup>+</sup>. Значения абсорбции снижаются за счет потребления НАДН, они измеряются при 340 нм и прямо пропорционально активности АЛТ в пробе. Активность фермента измеряется в Ед/л.

#### Определение коэффициента де Ритиса (отношение АСТ/АЛТ)

Коэффициент де Ритиса (АСТ/АЛТ) рассчитывался как отношение активности АСТ к активности АЛТ в сыворотке крови.

#### Определение щелочной фосфатазы

Р-нитрофенилфосфат в присутствии щелочной фосфатазы и ионов магния превращается в п-нитрофенол. Поглощение измеряется при 405 нм и возрастает прямо пропорционально активности щелочной фосфатазы. Активность фермента измеряется в Ед/л.

### **2.3.3 Бактериологические исследования**

Бактериологические исследования проводились на базе лаборатории клинической микробиологии НИИ СП им. Н.В. Склифосовского.

Содержимое тощей (полостная и пристеночная флора) и слепой кишок отбиралось в стерильную одноразовую посуду и доставлялось в лабораторию в течение двух часов с момента сбора материала. Из доставленного в лабораторию

материала приготавливалась навеска от 0,2 - 0,3 г до 1 г. Навеска вносилась в пробирку с рассчитанным заранее количеством буферного раствора и тщательно гомогенизировалась. Количество раствора рассчитывалось из пропорции 1:10. В стерильных пробирках готовились последовательные серийные разведения материала до  $10^{-8}$ . Из полученных разведений производился посев материала в чашки Петри на плотные питательные среды: 5% кровяной агар; среды Эндо, Сабуро, маннит-солевой агар; энтерококковый агар; и в пробирки с селенитовым бульоном, со средой Блаурокка и средой для молочнокислых бактерий (типа MRS). Засеянные чашки Петри и пробирку с селенитовым бульоном инкубировали в термостате при 37 °C в течение 24 часов, а пробирки со средами Блаурокка и MRS в течение 48 часов.

После инкубации чашек Петри оценивали количество и тип выросших колоний микроорганизмов. Идентификацию выделенных микроорганизмов проводили с использованием масс-спектрометра VITEK MS (биоМерье, Франция).

Содержимое пробирки с селенитовым бульоном высевали на висмут-сульфит агар и инкубировали в течение суток в термостате при 37 °C. В последующем оценивали количество, тип выросших колоний и проводили их идентификацию.

Через 48 часов инкубации из пробирок со средами Блаурокка и MRS готовили мазки и окрашивали их по Грамму. Проводили микроскопию окрашенных мазков для определения таксономической принадлежности микроорганизмов.

Микробиологическое исследование содержимого тощей и слепой кишок проводили в соответствии с нормативными документами, принятыми для исследования кала у людей: отраслевым стандартом 91500.11.0004-2003 “Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника”. Были изучены следующие виды микроорганизмов: *E.coli*, *Enterococcus sp.*, *Proteus sp.*, *Enterobacter sp.*, *P.aeruginosa*, *Staphylococcus spp.*, *S. aureus*, *Klebsiella spp.*, *Candida spp.* *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*

Оценивали количество микроорганизмов каждого вида в 1 г исследуемого материала. Количество микроорганизмов выражали в КОЕ/мл.

### **2.3.4 Гистологические исследования**

Гистологические исследования проводились на базе лаборатории патоморфологии с гистохимией НИИ СП им. Н.В. Склифосовского.

Выделенный желудок фиксировали в 10% нейтральном формалине. Затем продольно нарезали образцы размером 3 мм х 20 мм. После промывки, обезвоживания и пропитывания парафином по стандартной методике, образцы микротомировали, изготавливая срезы, толщиной 2 мкм. В работе использовался метод окраски гематоксилином и эозином. Под покровное стекло препараты заключали монтирующей средой «БиоВитрум» (Россия).

Исследование представленных стеклопрепараторов проводилось в проводящем свете с использованием микроскопа ZEISS Imager.A2 (Carl Zeiss, Германия) с увеличением от 50 до 400. Фотофиксация выявленных микроскопических изменений выполнена с использованием цифровой камеры ZEISS AxioCam Mrc 5 (Carl Zeiss, Германия) и автоматического цифрового сканирующего микроскопа 3DHISTECH PANNORAMIC Midi (3DHISTECH, Венгрия).

### **2.3.5 Статистические методы исследования**

Экспериментальный материал обрабатывали с использованием пакета статистической программы Statistica 6.0 (StatSoft, Inc.). При проведении первичной статистической обработки рассчитывались среднее ( $M$ ), дисперсия ( $\sigma^2$ ), медиана ( $Me$ ), перцентили (25;75 %), минимальное (min) и максимальное (max) значение в выборках. Далее оценивался характер распределения данных в выборках. В связи с тем, что во всех группах распределение значений имело характер ненормального распределения, то для дальнейшего статистического анализа использовались непараметрические критерии.

Для сравнения зависимых групп применялся ранговый дисперсионный анализ по Фридману ANOVA, после чего для последующего парного сравнения между группами использовался непараметрический Т-критерий Вилкоксона. Для

сравнения независимых групп применялся односторонний дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса. Для последующего сравнения двух несвязанных выборок применялся U-критерий Манна-Уитни. Статистически значимыми считались значения с  $p < 0,05$ . Данные представляли в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей – Me (Q1;Q3).

### **2.3.6 Используемые препараты и реагенты**

В работе использовались следующие препараты и реагенты: атропина сульфат (ФГУП “Московский эндокринный завод”), нитроглицерин (ООО “Озон”),  $\gamma$ -аминомасляная кислота (NOW FOODS).

## ГЛАВА 3. ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ХОЛИНЕРГИЧЕСКИХ И НИТРЕРГИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ В ЭФФЕКТАХ ГАМК НА ЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ТОНКОЙ КИШКИ У ЗДОРОВЫХ ЖИВОТНЫХ

### 3.1 Основные показатели электрической активности тонкой кишки в норме

У здоровых животных после 18-ти часовой ПД была зарегистрирована электрическая активность тонкой кишки. Анализ ЭМГ показал, что у всех крыс наблюдалась выраженная периодичность электрической активности тонкой кишки во внепищеварительном периоде, при котором наблюдалось чередование периодов покоя и активности, что характеризует ММК (рис. 1).

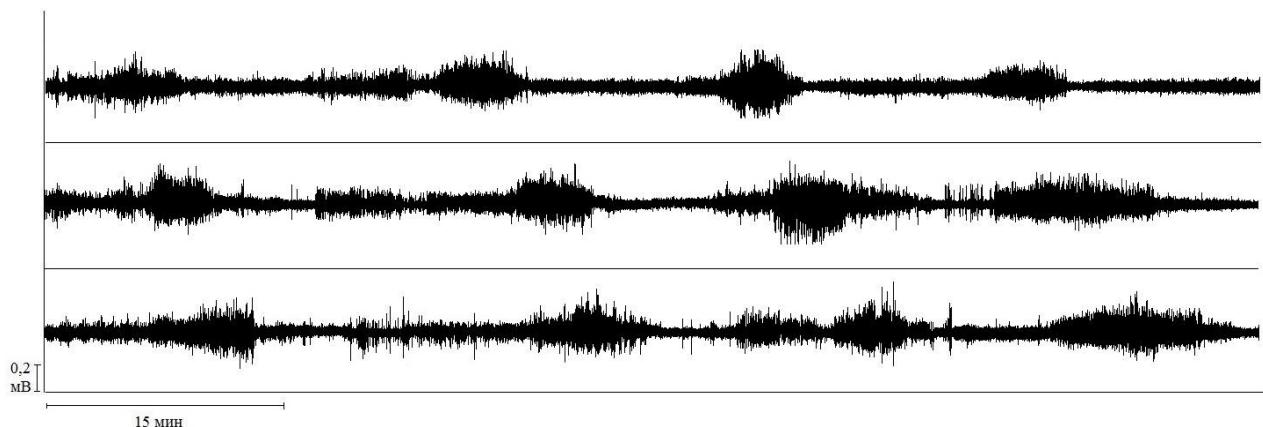


Рисунок 1 - ЭМГ тонкой кишки во внепищеварительном периоде в норме

Примечание: расположение электродов в тонкой кишке - 10, 15, 20 см за связкой Трейтца.

Частота генерации ММК составляла 5 (4;5) в час. Период ММК составлял 804 (712;869) с. ММК состоял из трех повторяющихся последовательных фаз: фаза I (покоя) составляла 37 (30;46) % от продолжительности комплекса; фаза II (нерегулярной активности) – 36 (33;39) %; фаза III (регулярной активности) – 24 (18;30) %. Длительность III фазы составляла 176 (147;229) с, а ее скорость распространения 1,46 (1,09;1,81) см/мин. Таким образом, у здоровых крыс были определены основные параметры ММК в норме.

### 3.2 Влияние ГАМК на электрическую активность тонкой кишки

В связи с тем, что ГАМК, а также другие препараты вводились интракишечно в объеме равным 1 мл, то для исключения влияния объема раствора на электрическую активность были проведены 8 опытов с введением 1 мл дистиллированной воды.

После 18-ти часовой ПД регистрировали фоновую электрическую активность тонкой кишки. Анализ фоновых ЭМГ показал, что у всех животных присутствовала выраженная периодическая электрическая активность тонкой кишки во внепищеварительном периоде, при котором наблюдалось наличие ММК (табл. 2, рис. 2). После введения в кишечный зонд 1 мл дистиллированной воды в записях электрической активности тонкой кишки не наблюдалось каких-либо изменений (рис. 2), все параметры ММК статистически значимо не отличались от фоновых значений ( $p > 0,05$ ) (табл. 2).

Таблица 2 - Параметры ММК у крыс при введении дистиллированной воды, Мe (25;75) %

	Количество ММК в час	Период ММК, с	$V_{\text{распр-я}},$ см/мин	III фаза, с	I, %	II, %	III, %
Фон	5 (4;5)	804 (712;869)	1,46 (1,09;1,81)	176 (147;229)	37 (30;46)	36 (33;39)	24 (18;30)
После Введения	5 (5;5)	829 (708;855)	1,26 (1,13;1,68)	183 (167;203)	34 (32;44)	38 (35;40)	25 (17;32)

Примечание: \* –  $p < 0,05$  по сравнению с фоном

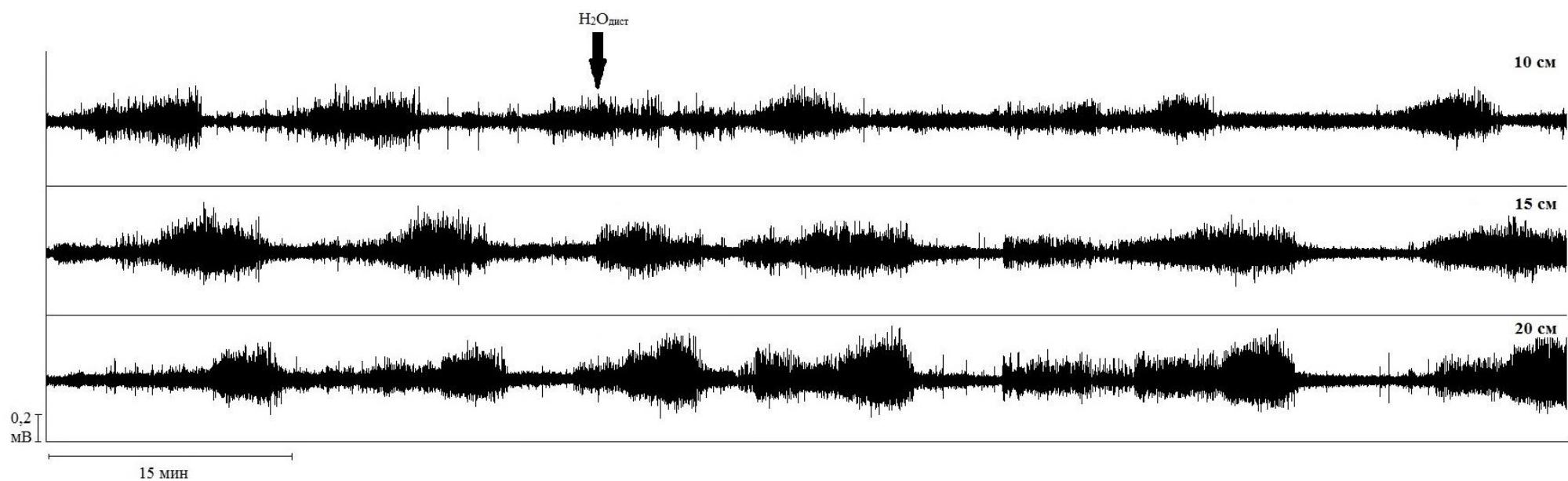


Рисунок 2 - Влияние введения дистиллированной воды на электрическую активность тонкой кишки

Примечание: расположение электродов в тонкой кишке - 10, 15, 20 см за связкой Трейтца

В следующем эксперименте после 18-ти часовой ПД регистрировали фоновую электрическую активность тонкой кишки, а затем в тонкую кишку вводили 1 мл ГАМК в дозе 70 мг/кг (7 опытов).

В фоновых записях наблюдалась периодическая активность тонкой кишки с наличием ММК (рис. 3), который состоял из трех последовательных фаз. Параметры ММК соответствовали норме ( $p > 0,05$ ). После введения ГАМК наблюдались значительные изменения в структуре ММК (рис. 3), которые начинались через 4-5 минут после ее введения. Происходило разрушение ММК с исчезновением фаз I и III, на протяжении 32 (26;34) минут регистрировалась II фаза комплекса, то есть происходила стимуляция непропульсивной некоординированной активности. После окончания действия ГАМК наблюдалось восстановление генерации ММК. Все параметры ММК статистически не отличались от фоновых значений, исключением являлось увеличение ( $p < 0,05$ ) значения скорости распространения ММК, которое статистически значимо увеличивалось (табл. 3).

Таблица 3 - Параметры ММК у крыс при введении ГАМК, Мe (25;75) %

	Количество ММК в час	Период ММК, с	$V_{\text{распр-я}}$ , см/мин	III фаза, с	I, %	II, %	III, %
Фон	4 (4;5)	905 (681;941)	1,53 (1,13;1,69)	199 (136;224)	30 (24;32)	45 (37;52)	25 (18;35)
Введение	-	-	-	-	-	100 (100;100)*	-
Восстановление	4 (4;6)	765 (705;928)	2,04 (1,15;2,30)*	205 (189;265)	34 (26;35)	39 (31;57)	27 (20;35)

Примечание: \* –  $p < 0,05$  по сравнению с фоном

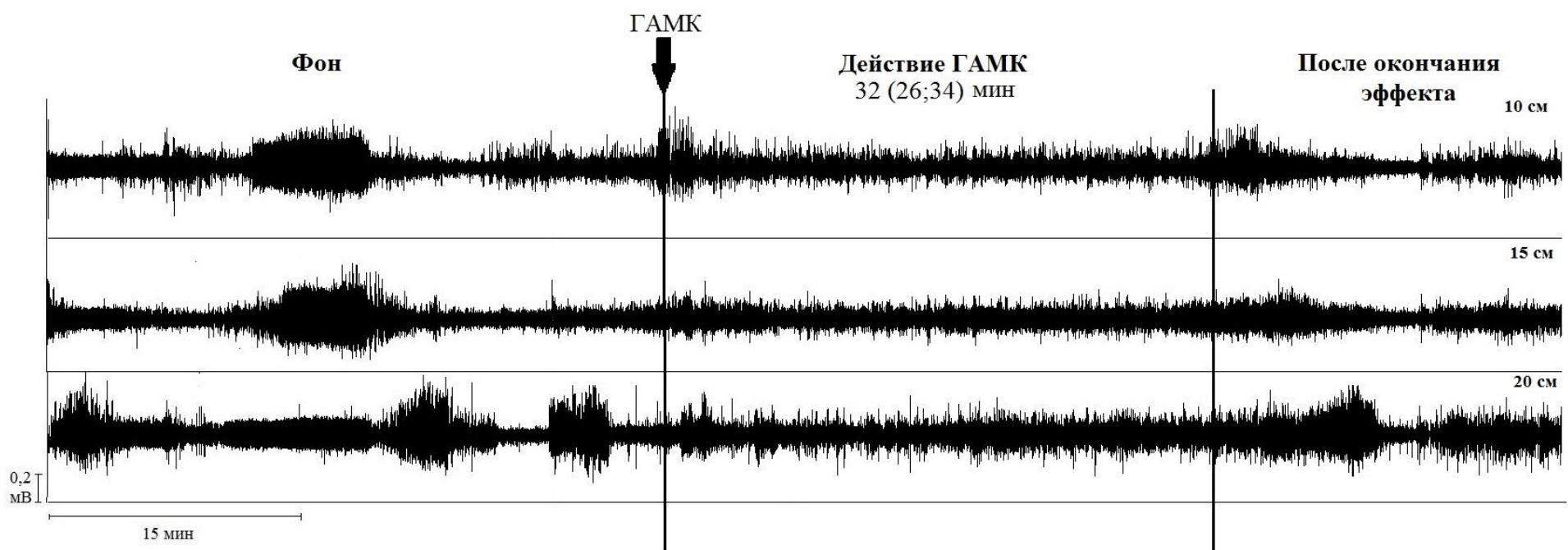


Рисунок 3 - Влияние введения ГАМК на электрическую активность тонкой кишки

Примечание: расположение электродов в тонкой кишке - 10, 15, 20 см за связкой Трейтца.

Таким образом, в условиях, которые максимально приближены к естественным, энтеральное введение ГАМК оказывает двойственный эффект на электрическую активность тонкой кишки. ГАМК обладает тормозным эффектом на регулярную активность, а на нерегулярную активность оказывает стимулирующее воздействие.

### **3.3 Роль холинергических механизмов в эффектах ГАМК на электрическую активность тонкой кишки**

Для того, чтобы оценить роль холинергических механизмов в эффектах ГАМК на электрическую активность тонкой кишки были проведены следующие исследования: оценка влияния М-холиноблокатора (атропина) на электрическую активность тонкой кишки и оценка действия ГАМК на электрическую активность тонкой кишки в условиях влияния атропина.

После 18-ти часовой ПД в 7 опытах регистрировали фоновую ЭМГ и ЭМГ после введения атропина. Анализ фоновых ЭМГ показал нормальную периодическую активность тонкой кишки с наличием ММК (рис. 4), который состоял из трех последовательных фаз. Параметры ММК соответствовали норме ( $p > 0,05$ ).

Анализ ЭМГ показал, что после энтерального введения атропина через 2-3 минуты наблюдалось исчезновение регулярной, пропульсивной активности тонкой кишки (III фаза) (рис. 4). На протяжении 14 (14;16) минут регистрировались фазы покоя и нерегулярной активности: I фаза составляла 45 (30;64) %, а II фаза 55 (37;100) %. После окончания действия атропина наблюдалось восстановление генерации ММК, однако выявлялось увеличение продолжительности периода ММК ( $p < 0,05$ ) и длительности III фазы ( $p < 0,05$ ) (табл. 4). Таким образом, основным эффектом атропина на электрическую активность тонкой кишки является исчезновение регулярной активности.

Таблица 4 - Параметры ММК у крыс при введении атропина, Ме (25;75) %

	Количество ММК в час	Период ММК, с	V <sub>распр-я,</sub> см/мин	III фаза, с	I, %	II, %	III, %
Фон	5 (5;5)	789 (768;800)	1,72 (1,64;2,32)	203 (190;219)	35 (35;36)	40 (38;41)	26 (23;28)
Введение	-	-	-	-	45 (30;64)	55 (37;100)	-
Восстанов- ление	3 (3;3)*	1174 (1034;1213)*	1,64 (1,53;2,00)	247 (228;299)*	23 (19;36)	41 (37;56)	25 (20;27)

Примечание: \* –  $p < 0,05$  по сравнению с фоном

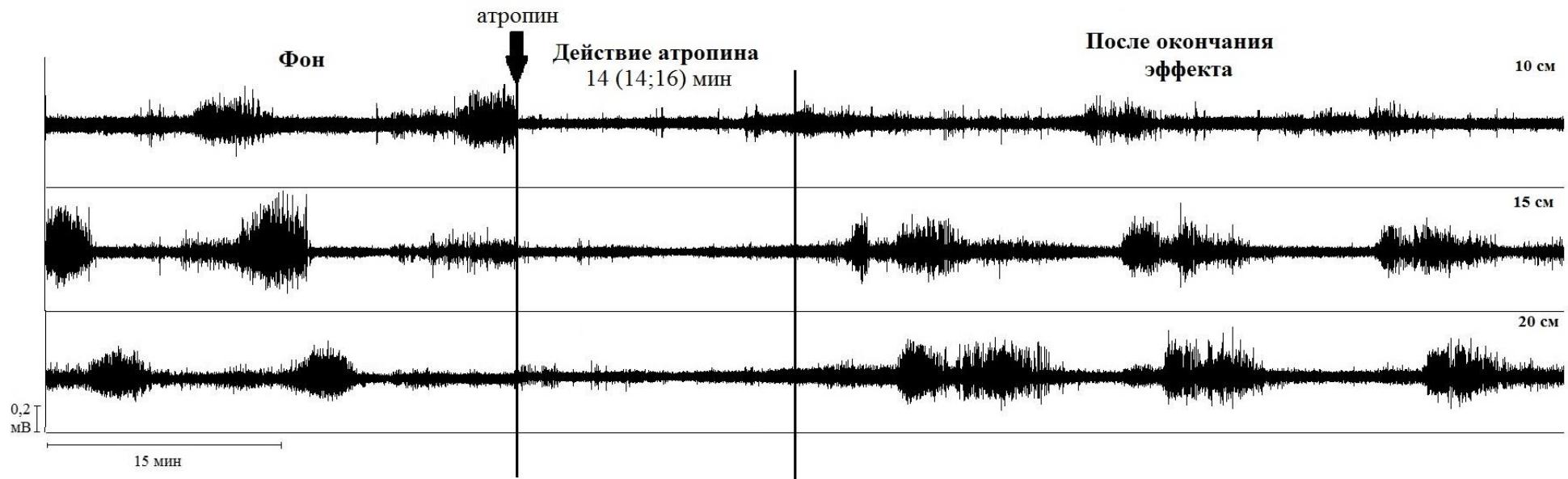


Рисунок 4 - Влияние введения атропина на электрическую активность тонкой кишки

Примечание: расположение электродов в тонкой кишке - 10, 15, 20 см за связкой Трейтца

После 18-ти часовой ПД в 5 опытах регистрировали ЭМГ: фоновую, после введения атропина и после введения ГАМК на фоне атропина.

Анализ ЭМГ показал, что наблюдалась нормальная периодическая электрическая активность тонкой кишки с наличием ММК, состоящим из трех последовательных фаз (рис. 5). Параметры ММК соответствовали норме ( $p > 0,05$ ).

Введение атропина приводило к исчезновению фазы III ММК (регулярной активности тонкой кишки). Введение ГАМК на фоне атропина через 5 (4;6) минут вызывало появление внеочередной фазы III ММК (рис. 5). Через 77 (25;93) минут после этого происходило восстановление нормальной периодической активности тонкой кишки с наличием ММК, однако наблюдалось статистически значимое уменьшение количества ММК в час и снижение процента представленности III фазы (табл.5).

Таблица 5 - Параметры ММК у крыс при введении атропина с последующим введением ГАМК, Me (25;75) %

	Количество ММК в час	Период ММК, с	V <sub>распр-я,</sub> см/мин	III фаза, с	I, %	II, %	III, %
Фон	5 (4;5)	880 (747;922)	1,26 (0,98;1,71)	242 (206;242)	31 (26;33)	36 (36;44)	32 (26;32)
Введение атропина	-	-	-	-	42 (35;57)*	64 (46;100)*	-
Введение ГАМК	-	-	-	-	7 (2;12)*	82 (78;88)*	9 (5;10)*
Восстанов- ление	2 (1;3)*	1010 (700;1350)	1,23 (1,19;1,26)	166 (120;189)	16 (10;32)	50 (48;67)	16 (13;17)*

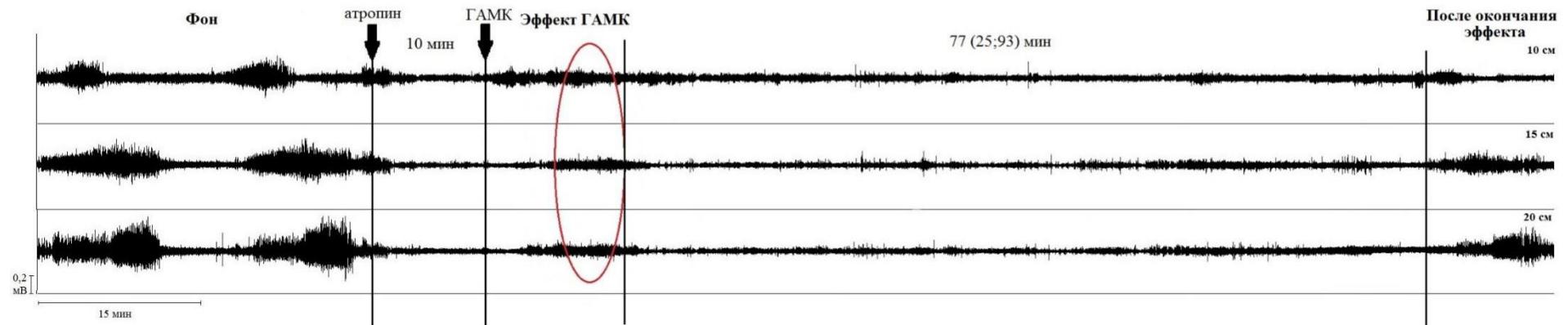


Рисунок 5 - Влияние введения атропина с последующим введением ГАМК на электрическую активность тонкой кишки

Примечание: расположение электродов в тонкой кишке - 10, 15, 20 см за связкой Трейтца.

Таким образом, введение ГАМК на фоне блокады М-ХР посредством введения атропина вызывало кратковременную стимуляцию регулярной пропульсивной активности тонкой кишки. Тем самым, мы подтвердили свое предположение о том, что ГАМК осуществляет свое модулирующее действие на периодическую электрическую активность тонкой кишки посредством воздействия на холинергическую систему.

### **3.4 Роль нитрергических механизмов в эффектах ГАМК на электрическую активность тонкой кишки**

Для того, чтобы оценить роль нитрергических механизмов в эффектах ГАМК на электрическую активность тонкой кишки были проведены следующие исследования: оценка влияния донора NO – нитроглицерина на электрическую активность тонкой кишки и оценка действия ГАМК на вызванную воздействием нитроглицерина электрическую активность тонкой кишки.

После 18-ти часовой ПД в 5 опытах регистрировали фоновую ЭМГ и ЭМГ после введения нитроглицерина. Анализ ЭМГ показал, что наблюдалась нормальная периодическая активность тонкой кишки с наличием ММК, состоящим из трех последовательных фаз (рис. 6). Параметры ММК соответствовали норме ( $p > 0,05$ ).

После введения в полость тонкой кишки нитроглицерина наблюдалось исчезновение регулярной, пропульсивной активности тонкой кишки (фаза III ММК) (рис. 6). На протяжении 22 (14;22) минут регистрировались фаза покоя - 28 (24;32) % и фаза нерегулярной непропульсивной активности - 72 (68;76) % (табл. 6). После завершения действия нитроглицерина наблюдалось восстановление нормальной ритмической активности тонкой кишки с наличием ММК, все параметры ММК статистически значимо не отличались от фоновых значений (рис. 6, табл. 6).

Таблица 6 – Параметры ММК у крыс при введении нитроглицерина, Ме (25;75) %

	Количество ММК в час	Период ММК, с	$V_{\text{распр-я}},$ см/мин	III фаза, с	I, %	II, %	III, %
Фон	4 (4;4)	834 (755;920)	1,12 (1,07;2,84)	215 (206;332)	36 (33;36)	41 (28;41)	24 (23;34)
Введение	-	-	-	-	28 (24;32) (68;76)*	72 (68;76)*	-
Восстановление	5 (4;5)	752 (714;774)	1,04 (0,9;1,14)	240 (238;270)	24 (22;27)	42 (42;45)	34 (33;35)
Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с фоном							

Таким образом, мы отметили основной эффект нитроглицерина на электрическую активность тонкой кишки - исчезновение регулярной пропульсивной активности.

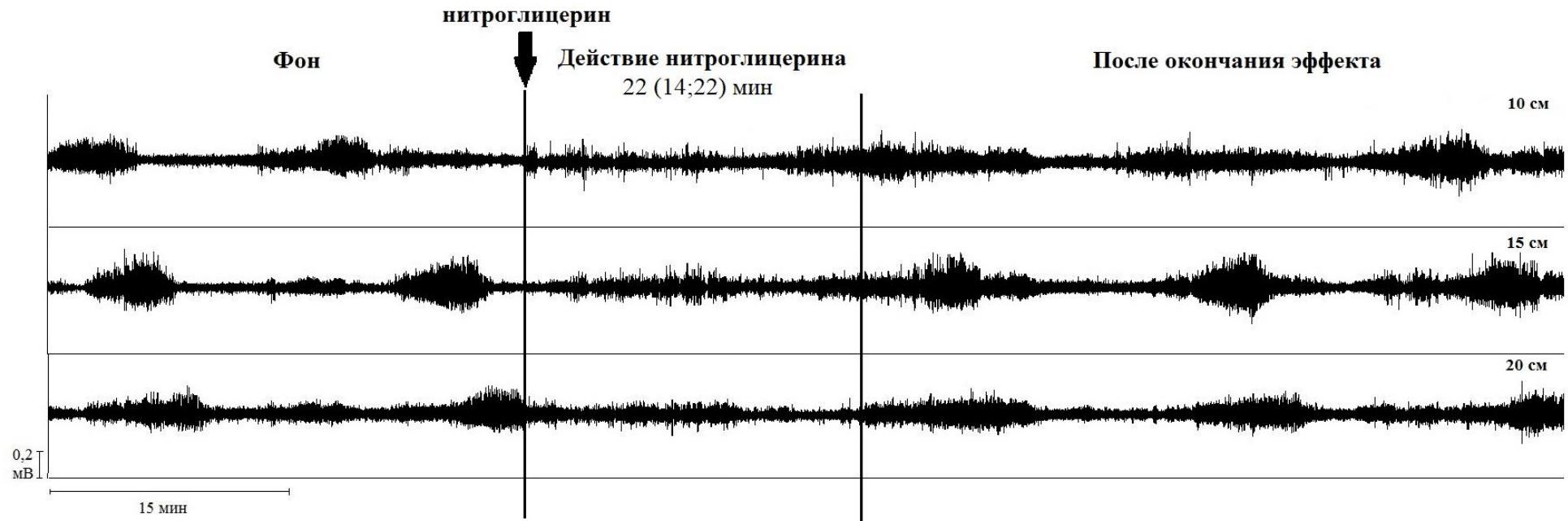


Рисунок 6 - Влияние введения нитроглицерина на электрическую активность тонкой кишки

Примечание: Расположение электродов в тонкой кишке - 10, 15, 20 см за связкой Трейтца

После 18-ти часовой ПД в 5 опытах регистрировали ЭМГ: фоновую, после введения нитроглицерина и после введения ГАМК на фоне нитроглицерина. Анализ ЭМГ показал, что наблюдалась нормальная периодическая электрическая активность тонкой кишки с наличием ММК, состоящим из трех последовательных фаз (рис. 7). Параметры ММК соответствовали норме ( $p > 0,05$ ).

После введения нитроглицерина наблюдалось исчезновение регулярной пропульсивной активности (III фаза ММК) (рис. 7). Через 15 минут после введения нитроглицерина в кишку вводили ГАМК. Эффектом ГАМК, на фоне продолжения действия нитроглицерина было исчезновение фазы покоя, то есть на ЭМГ регистрировалась только нерегулярная активность на протяжении 18 (17;22) минут. После окончания действия ГАМК наблюдалось восстановление нормальной электрической активности тонкой кишки с наличием ММК (рис. 7), все параметры ММК не отличались от фоновых значений, за исключением скорости распространения ММК, значения которой увеличивались в два раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с фоновыми значениями (табл. 7).

Таблица 7 - Параметры ММК у крыс при введении нитроглицерина с последующим введением ГАМК, Мe (25;75) %

	Количество ММК в час	Период ММК, с	$V_{\text{распр-я}}$ , см/мин	III фаза, с	I, %	II, %	III, %
Фон	4 (4;4)	915 (810;1032)	2,83 (2,58;2,99)	199 (182;230)	35 (32;35)	44 (43;45)	20 (19;24)
Введение нитроглицерина	-	-	-	-	22 (21;22)	79 (78;79)*	-
Введение ГАМК	-	-	-	-	-	100 (100;100)*	-
Восстановление	3 (3;4)	825 (809;926)	6,04 (3,97;7,44)*	239 (228;249)	31 (26;33)	38 (36;45)	27 (26;31)

Примечание: \* –  $p < 0,05$  по сравнению с фоном

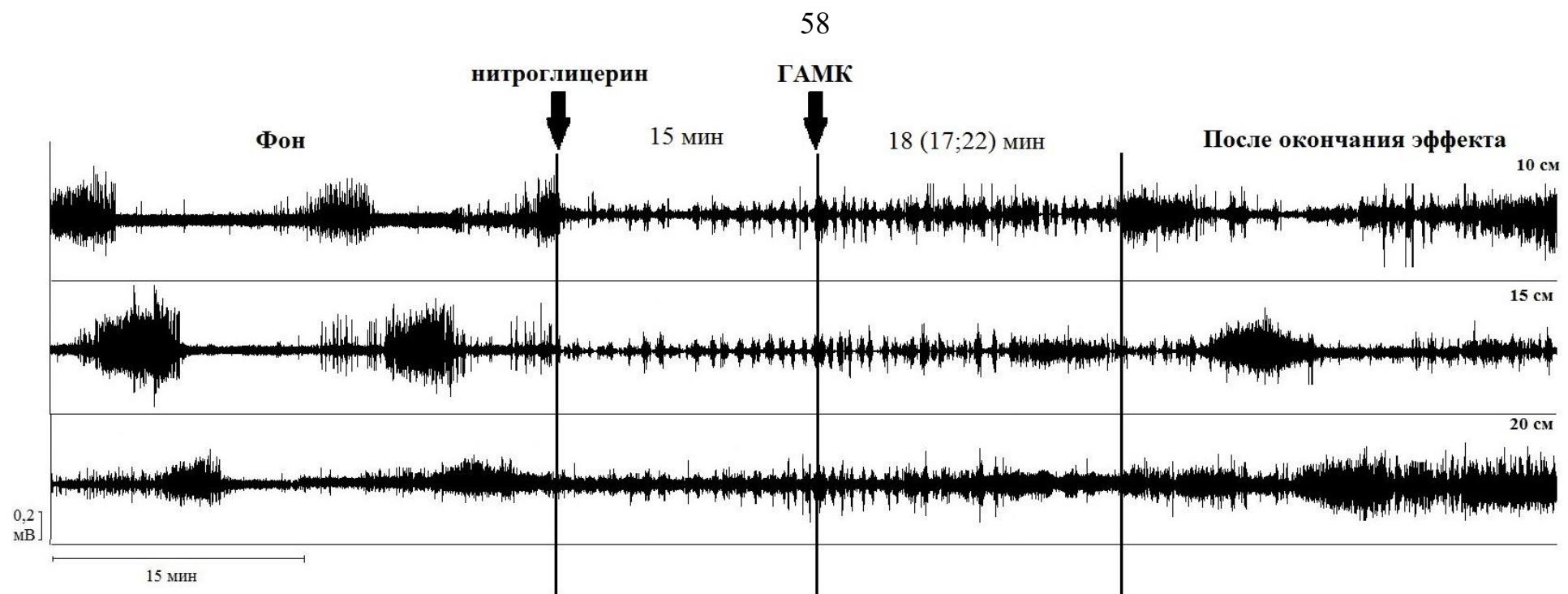


Рисунок 7 - Влияние введения нитроглицерина с последующим введением ГАМК на электрическую активность тонкой кишки

Примечание: расположение электродов в тонкой кишке - 10, 15, 20 см за связкой Трейтца

Таким образом, введение ГАМК на фоне NO-зависимого торможения электрической активности тонкой кишки приводило к увеличению продолжительности тормозного влияния нитроглицерина на регулярную пропульсивную активность. Эти данные подтверждают наше предположение о том, что ГАМК осуществляет свое модулирующее действие на периодическую электрическую активность тонкой кишки посредством воздействия на нитрергические пути.

## ГЛАВА 4. ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ТОНКОЙ КИШКИ ПРИ СТРЕССЕ, ВЫЗВАННОМ ДЛИТЕЛЬНОЙ ПИЩЕВОЙ ДЕПРИВАЦИЕЙ

### 4.1 Оценка изменений электрической активности тонкой кишки при стрессе, вызванном длительной пищевой депривацией

С целью оценки адаптационных изменений электрической активности тонкой кишки при стрессе, вызванном длительной ПД, у крыс контрольной группы была произведена регистрация ЭМГ тонкой кишки в течение 9 суток ПД. В анализ были включены ЭМГ, зарегистрированные у 10 крыс.

Перед началом длительной ПД проводили фоновую регистрацию электрической активности тонкой кишки. Визуальный анализ фоновых ЭМГ показал выраженную периодичность электрической активности тонкой кишки во внепищеварительном периоде, при котором наблюдалось наличие ММК. Все параметры ММК соответствовали норме (рис. 8)

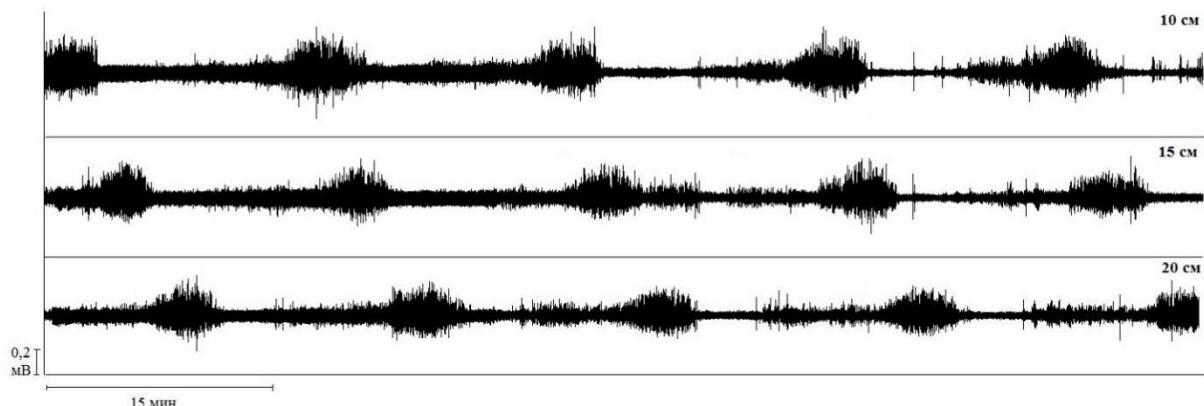


Рисунок 8 - Фоновая часовая электромиограмма тонкой кишки во внепищеварительном периоде

Примечание: расположение электродов в тонкой кишке - 10, 15, 20 см за связкой Трейтца.

По результатам анализа ЭМГ, зарегистрированных в течение ПД, было выделено три стадии изменений электрической активности тонкой кишки при 9-ти суточной ПД (рис. 9-11, табл. 8).

Таблица 8 - Параметры ММК у крыс контрольной группы на разных стадиях ПД, Me (25;75) %

	Коли чество ММК в час	Период ММК, с	V <sub>распр-я</sub> , см/мин	III фаза, с	I фаза, %	II фаза, %	III фаза, %
Фон	5 (4;5)	699 (680;771)	2,32 (2,01;2,49)	203 (191;219)	28 (27;32)	42 (41;44)	29 (28;30)
1 стадия (1-3 сутки)	3 (3;3)*	851 (659;960)	2,35 (1,57;2,76)	176 (146;180)*	26 (19;36)	55 (45;62)	20 (19;21)
2 стадия (4-6 сутки)	-	-	1,27 (1,23;1,66)	143 (133;146)*	-	92 (89;94)*	8 (6;11)*
3 стадия (7-9 сутки)	-	-	-	-	14 (8;17)*	86 (85;92)*	-

Примечание: \* –  $p < 0,05$  по сравнению с фоном

На 1 стадии (с 1-х по 3-и сутки ПД) электрическая активность тонкой кишки сохраняла периодичность с наличием распространяющегося ММК, при этом наблюдалось уменьшение частоты генерации ММК до 3 (3;3) в час ( $p < 0,05$ ). Выявлены изменения в длительности фаз: увеличение нерегулярной активности за счет уменьшения процента представленности фаз покоя и фазы регулярной активности, однако эти изменения не были статистически значимыми. При этом длительность фазы III уменьшилась ( $p < 0,05$ ) (рис. 9, табл. 8).

На 2 стадии (с 4-х по 6-е сутки ПД) у всех животных ММК исчезал. На данной стадии наблюдалось отсутствие фазы покоя, регистрировались сменяющие друг друга нерегулярная и регулярная активность; эти данные свидетельствовали о гипермоторной активности тонкой кишки. Фаза III распространялась на всех трех каналах. Отметим тот факт, что при этом по отношению к фону нерегулярная активность была значительно продолжительнее (в 11,5 раз) регулярной активности ( $p < 0,05$ ) (рис. 10, табл. 8).

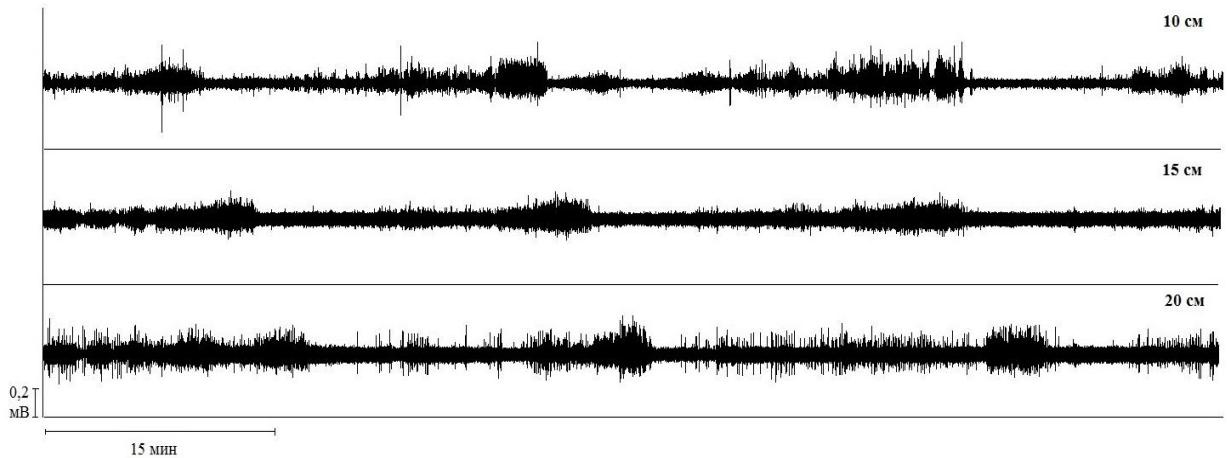


Рисунок 9 - 1 стадия изменений электрической активности тонкой кишки у крыс контрольной группы при стрессе, вызванном длительной ПД

Примечание: расположение электродов в тонкой кишке - 10, 15, 20 см за связкой Трейтца

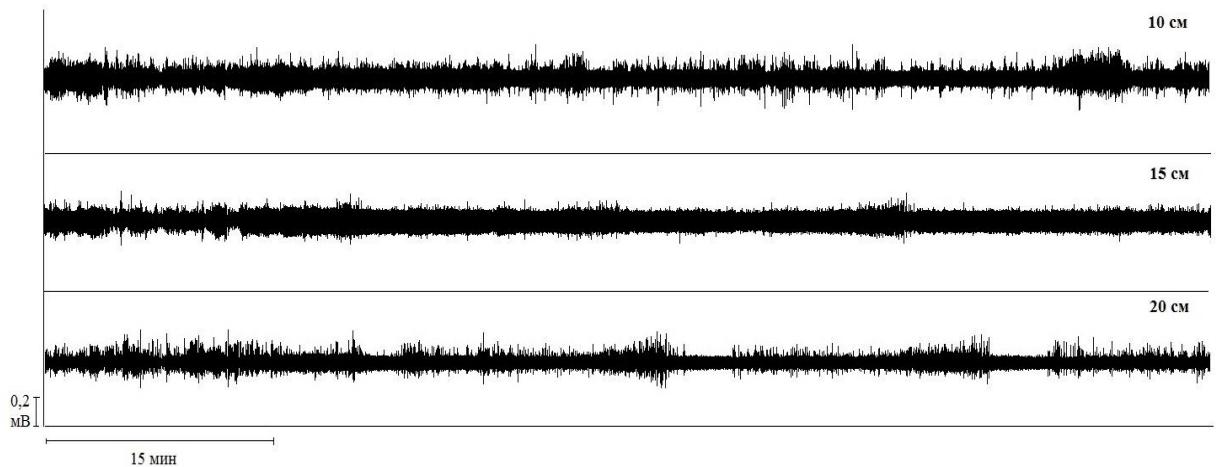


Рисунок 10 - 2 стадия изменений электрической активности тонкой кишки у крыс контрольной группы при стрессе, вызванном длительной ПД

Примечание: расположение электродов в тонкой кишке - 10, 15, 20 см за связкой Трейтца

На 3 стадии (с 7-х по 9-е сутки ПД) ММК также отсутствовал. При этом паттерн электрической активности тонкой кишки изменялся: исчезала регулярная активность, и продолжительность двух других фаз отличалась от фона: появлялись непродолжительные фазы покоя ( $p < 0,05$ ) и длительные фазы нерегулярной

активности, которые превышали по длительности фазы покоя в 6,1 раз ( $p < 0,05$ ) (рис.1 1,табл. 8 ).

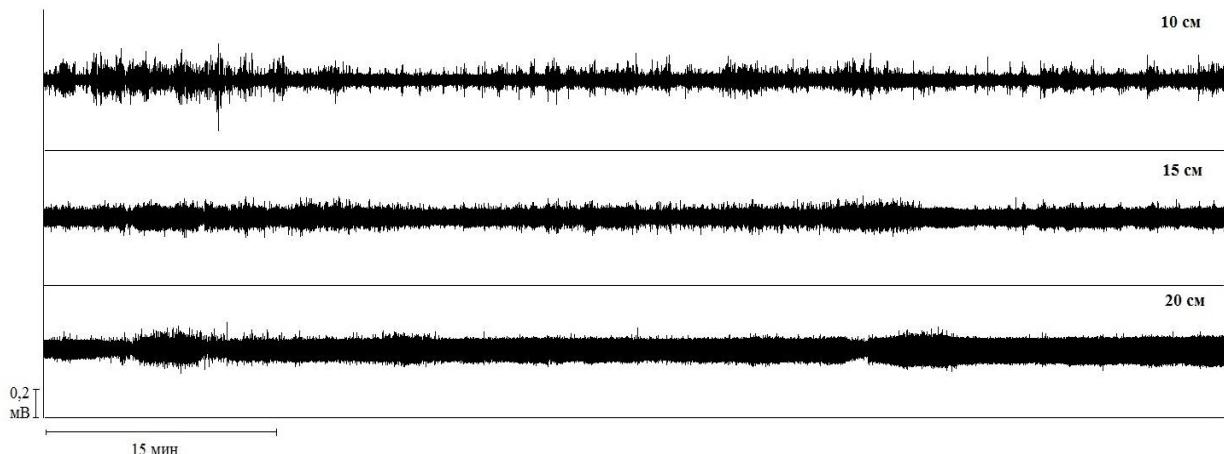


Рисунок 11 - 3 стадия изменений электрической активности тонкой кишки у крыс контрольной группы при стрессе, вызванном длительной ПД

Примечание: расположение электродов в тонкой кишке - 10, 15, 20 см за связкой Трейтца

Таким образом, у крыс контрольной группы при стрессе, вызванном длительной ПД, наблюдается адаптационная перестройка ритма периодической электрической активности тонкой кишки. Так, на 1 стадии ПД периодичность циклов сохраняется, однако циклы становятся более редкими (до трех в час). На 2 стадии ПД (4 – 6 сутки) исчезает ММК тонкой кишки. Фаза покоя отсутствует, регистрируется длительная нерегулярная и непродолжительная регулярная активность. На 3 стадии (7 – 9 сутки) ПД преимущественно наблюдается нерегулярная активность с периодами покоя; исчезает электрическая регулярная активность тонкой кишки.

#### **4.2 Оценка микробиоты тощей и слепой кишок на разных стадиях длительной пищевой депривации**

У крыс контрольной группы при стрессе, вызванном 9-ти суточной ПД, был оценен качественный и количественный состав микробиоты тощей и слепой кишок.

Качественный и количественный состав исследуемых образцов на разных стадиях ПД указаны в таблице 9.

На 1 стадии ПД по сравнению с интактной группой в составе полостной микрофлоры тонкой кишки у всех животных наблюдалось исчезновение *Staphylococcus spp.* и *Candida spp.*, у 2 животных из 7 высеивалась *P.aeruginosa*. В составе пристеночной микрофлоры тонкой кишки у всех животных наблюдалось исчезновение *Staphylococcus spp.* и *Candida spp.*, также высеивалась *P. aeruginosa* у 1 животного из 7 и *Klebsiella spp.* у 2 животных из 7. Выявлялось статистически значимое увеличение численности *Proteus sp.* В содержимом слепой кишки у всех животных наблюдалось исчезновение *Staphylococcus spp.* и *Candida spp.*, у 1 животного из 7 высеивалась *P. aeruginosa*. Выявлялось статистически значимое увеличение численности *Klebsiella spp.* и *Enterococcus spp.*. Численность *Lactobacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.* имела тенденцию к снижению.

На 2 стадии ПД по сравнению с интактной группой в составе полостной микрофлоры тонкой кишки у всех животных наблюдалось исчезновение *Staphylococcus spp.* и *Candida spp.*, у 1 животного из 7 высеивался *S.aureus*. Выявлялось статистически значимое увеличение численности *Proteus sp.* В составе пристеночной микрофлоры тонкой кишки у всех животных наблюдалось исчезновение *Staphylococcus spp.*, *Candida spp.*, *Enterococcus spp.*, *Lactobacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.* В содержимом слепой кишки у всех животных наблюдалось исчезновение *Staphylococcus spp.* и *Candida spp.*, у 2 животных из 7 высеивалась *Klebsiella spp.* и *S.aureus*. Выявлялось статистически значимое увеличение численности *Enterococcus spp.* и снижение численности *Lactobacillus spp.* на 2 порядка.

Таблица 9 - Содержание различных видов микроорганизмов в тонкой и слепой кишках на разных стадиях ПД, КОЕ/мл, Ме (25;75) %

Вид микроорганизма	Интактная n=8			Контрольная группа 1 стадия (1-3 сутки) n=7			Контрольная группа 2 стадия (4-6 сутки) n=7			Контрольная группа 3 стадия (7-9 сутки) n=7		
	Тощая кишка		Слепая кишка	Тощая кишка		Слепая кишка	Тощая кишка		Слепая кишка	Тощая кишка		Слепая кишка
	Пол. флора	Прист. флора		Пол. флора	Прист. флора		Пол. флора	Прист. флора		Пол. флора	Прист. флора	
<i>E.coli</i>	10 <sup>3</sup> (0;10 <sup>3</sup> )	0 (0;10 <sup>1</sup> )	10 <sup>5</sup> (10 <sup>5</sup> ;10 <sup>6</sup> )	10 <sup>3</sup> (10 <sup>1</sup> ;10 <sup>5</sup> )	10 <sup>2</sup> (0;10 <sup>5</sup> )	10 <sup>5</sup> (10 <sup>5</sup> ;10 <sup>6</sup> )	10 <sup>3</sup> (10 <sup>1</sup> ;10 <sup>4</sup> )	0 (0;0)	10 <sup>5</sup> (10 <sup>3</sup> ;10 <sup>7</sup> )	0 (0;10 <sup>4</sup> )	0 (0;0)	10 <sup>6</sup> (10 <sup>5</sup> ;10 <sup>6</sup> )
<i>Enterococcus</i> sp.	10 <sup>1</sup> (0;10 <sup>2</sup> )	0 (0;0)	10 <sup>5</sup> (10 <sup>4</sup> ;10 <sup>5</sup> )	10 <sup>3</sup> (10 <sup>1</sup> ;10 <sup>5</sup> )	0 (0;10 <sup>3</sup> )	10 <sup>5</sup> (10 <sup>5</sup> ;10 <sup>6</sup> )*	10 <sup>3</sup> (10 <sup>1</sup> ;10 <sup>5</sup> )	-	10 <sup>6</sup> (10 <sup>5</sup> ;10 <sup>7</sup> )*	10 <sup>2</sup> (0;10 <sup>4</sup> )	0 (0;10 <sup>4</sup> )	10 <sup>5</sup> (10 <sup>5</sup> ;10 <sup>6</sup> )*
<i>Proteus</i> sp.	0 (0;10 <sup>2</sup> )	-	10 <sup>2</sup> (0;10 <sup>4</sup> )	10 <sup>2</sup> (0;10 <sup>3</sup> )	10 <sup>2</sup> (0;10 <sup>4</sup> )*	10 <sup>3</sup> (0;10 <sup>4</sup> )	10 <sup>4</sup> (10 <sup>3</sup> ;10 <sup>5</sup> )*	0 (0;10 <sup>2</sup> )	10 <sup>5</sup> (10 <sup>4</sup> ;10 <sup>5</sup> )	10 <sup>3</sup> (0;10 <sup>4</sup> )	0 (0;0)	0 (0;0)
<i>Klebsiella</i> spp.	0 (0;0)	-	-	10 <sup>4</sup> (10 <sup>2</sup> ;10 <sup>6</sup> )	0 (0;10 <sup>1</sup> )	10 <sup>2</sup> (0;10 <sup>3</sup> )*	0 (0;10 <sup>2</sup> )	-	0 (0;10 <sup>2</sup> )	10 <sup>3</sup> (0;10 <sup>4</sup> )	0 (0;0)	10 <sup>3</sup> (0;10 <sup>4</sup> )*
<i>Enterobacter</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0 (0;0)	-	-
<i>P.aeruginosa</i>	-	-	-	0 (0;10 <sup>2</sup> )	0 (0;0)	0 (0;0)	-	-	-	0 (0;0)	0 (0;0)	-
<i>Staphylococcus</i> sp.	10 <sup>2</sup> (0;10 <sup>3</sup> )	0 (0;0)	10 <sup>4</sup> (10 <sup>2</sup> ;10 <sup>4</sup> )	-*	-	-	-*	-	-	0 (0;10 <sup>2</sup> )	0 (0;0)	10 <sup>3</sup> (0;10 <sup>3</sup> )
<i>S.aureus</i>	-	-	-	-	-	-	0 (0;0)	-	0 (0;10 <sup>2</sup> )	0 (0;0)	-	0 (0;10 <sup>2</sup> )
<i>Candida</i> spp.	0 (0;10 <sup>1</sup> )	0 (0;0)	0 (0;10 <sup>1</sup> )	-	-	-	-	-	-	-	-	0 (0;10 <sup>2</sup> )
<i>Lactobacillus</i> spp.	0 (0;10 <sup>4</sup> )	0 (0;10 <sup>1</sup> )	10 <sup>7</sup> (10 <sup>5</sup> ;10 <sup>7</sup> )	0 (0;10 <sup>3</sup> )	0 (0;10 <sup>3</sup> )	10 <sup>4</sup> (10 <sup>3</sup> ;10 <sup>5</sup> )	0 (0;10 <sup>4</sup> )	-	10 <sup>5</sup> (0;10 <sup>5</sup> )*	0 (0;10 <sup>5</sup> )	0 (0;10 <sup>2</sup> )	10 <sup>4</sup> (10 <sup>2</sup> ;10 <sup>4</sup> )
<i>Bifidobacterium</i> spp.	0 (0;10 <sup>4</sup> )	0 (0;0)	10 <sup>6</sup> (10 <sup>4</sup> ;10 <sup>6</sup> )	0 (0;10 <sup>3</sup> )	0 (0;10 <sup>2</sup> )	10 <sup>4</sup> (0;10 <sup>5</sup> )	0 (0;10 <sup>5</sup> )	-	10 <sup>5</sup> (0;10 <sup>5</sup> )	0 (0;10 <sup>4</sup> )	0 (0;10 <sup>2</sup> )	10 <sup>4</sup> (0;10 <sup>4</sup> )*

Примечание: \* –  $p < 0,05$  по сравнению с интактной группой  
Пол. флора – полостная флора; Прист. флора – пристеночная флора  
«-» – отсутствует у всех животных

На 3 стадии ПД по сравнению с интактной группой в составе полостной микрофлоры тонкой кишки у всех животных наблюдалось исчезновение *Candida spp.*, у 1 животного из 7 высевались *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Enterobacter sp.*. В составе пристеночной микрофлоры тонкой кишки у всех животных наблюдалось исчезновение *Candida spp.*, также высевались *Proteus sp.* у 3 животных из 7, *Klebsiella spp.* у 1 животного из 7, *P. aeruginosa* у 1 животного из 7. В содержимом слепой кишки у 2 животных из 7 высевалась *S. aureus*. Выявлялось статистически значимое увеличение численности *Enterococcus spp.* и *Klebsiella spp.*, а также статистически значимое снижение численности *Bifidobacterium spp.* на 2 порядка. В отношении численности *Lactobacillus spp.* отмечена тенденция к снижению на 3 порядка, однако различия не были статистически значимы.

Таким образом, у крыс контрольной группы на разных стадиях длительной ПД как в тонкой, так и слепой кишке наблюдалось перераспределение условно патогенной флоры, у единичных животных высевались патогенные микроорганизмы, а также наблюдалось снижение численности нормальных эубионтов в содержимом слепой кишки - *Lactobacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.*

#### **4.3 Оценка изменений показателей метаболизма на разных стадиях**

##### **длительной пищевой депривации**

С целью выявления изменений основных параметров метаболизма при стрессе, вызванном длительной ПД, у животных контрольной группы в сыворотке крови определяли уровень основных параметров метаболизма (белкового, липидного, углеводного обмена), а также основные показатели функционального состояния печени.

При анализе полученных данных у животных, подвергнутых длительной ПД, наблюдались значительные метаболические изменения по сравнению с интактной группой животных. Биохимические параметры представлены в таблице 10.

Таблица 10 – Основные параметры метаболизма и показатели функционального состояния печени на разных стадиях ПД, Ме (25;75) %

Параметр	Интактная группа n=8	Контрольная группа 1 стадия ПД (1-3 сутки) n=7	Контрольная группа 2 стадия ПД (4-6 сутки) n=7	Контрольная группа 3 стадия ПД (7-9 сутки) n=7
Глюкоза, мкмоль/л	9,52 (8,59; 10,5)	7,29 (6,09;7,89)*	6,78 (5,07;7,18)*	9,81 (6,58;10,30)
Альфа-Амилаза, Ед/л	1788 (1669;1870)	1223 (636,9;1410)*	1224 (1120;1236)*	867,8 (610,2;1056)*
Общий белок, г/л	67,2 (65,6;68,9)	61,0 (60,1;62,7)*	61,7 (60,1;63,1)*	59,6 (52,6;70,0)*
Альбумины, г/л	28,9 (28,1;30,1)	27,0 (25,7;27,7)	27,6 (24,9;28,7)	24,5 (23,6;26,3)*
Глобулины, г/л	37,7 (37,0;39,4)	35,3 (33,7;36,0)*	34,1 (32,3;36,3)	34,5 (31,9;36,5)
Мочевина, мкмоль/л	4,92 (4,54;5,41)	3,93 (3,85;4,26)*	6,02 (4,55;6,65)	8,25 (7,68;11,7)*
Креатинин, мкмоль/л	40,6 (37,2;42,2)	38,3 (36,4;41,4)	45,8 (45,4;49,1)*	42,0 (39,3;44,1)
Триглицериды, мкмоль/л	0,89 (0,71;1,13)	0,37 (0,32;0,42)*	0,43 (0,37;0,55)*	0,24 (0,22;0,24)*
Холестерин, мкмоль/л	1,93 (1,68;2,30)	1,26 (1,10;1,37)*	0,98 (0,92;1,33)*	1,05 (0,91;1,53)*
АСТ, Ед/л	128,4 (105,6;144,4)	118,7 (107,0;133,3)	167,8 (149,8;202,5)*	167,8 (130,0;179,5)
АЛТ, Ед/л	41,2 (36,2;49,4)	23,7 (21,5;25,3)*	26,8 (17,9;34,3)*	34,6 (33,2;42,4)
ЩФ, Ед/л	73,9 (58,0;75,5)	99,2 (83,9;139,3)*	63,2 (53,6;70,5)	70,3 (69,4;113,2)

Примечание: \* –  $p < 0,05$  по сравнению с интактной группой

На 1 стадии ПД в контрольной группе наблюдалось статистически значимое снижение уровня основного показателя углеводного обмена - глюкозы в 1,3 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с интактной группой, а уровень фермента, отвечающего за расщепление углеводов, альфа-амилазы статистически значимо снижался на 31,6 % ( $p < 0,05$ ). Содержание общего белка статистически значимо понижалось на 10 % ( $p < 0,05$ ) по сравнению с интактными животными. Уровень альбуминов оставался на уровне интактных значений, а глобулинов снижался на 6,4 % ( $p < 0,05$ ). Уровень мочевины статистически значимо снижался относительно интактных значений на 20,1 % ( $p < 0,05$ ). Содержание креатинина не изменялось. Уровень триглицеридов статистически значимо был ниже интактных значений в 2,4 раза ( $p < 0,05$ ), а

холестерина ниже в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ). Активность АСТ статистически не отличалась от значений интактной группы, при этом активность АЛТ снижалась в 1,7 раз ( $p < 0,05$ ), а ЩФ повышалась в 1,3 раза ( $p < 0,05$ ) (табл. 10).

На 2 стадии ПД в контрольной группе по сравнению с интактной группой наблюдалось статистически значимое снижение глюкозы в 1,4 раза ( $p < 0,05$ ), а альфа-амилазы на 31,5 % ( $p < 0,05$ ). Содержание общего белка на 2 стадии в контрольной группе статистически значимо было ниже интактных значений на 8,1 % ( $p < 0,05$ ). Уровни альбуминов, глобулинов и мочевины оставались на уровне интактных значений, в то время как уровень креатинина статистически значимо был выше на 12,8 % ( $p < 0,05$ ). Уровень триглицеридов статистически значимо был ниже интактных значений в 2,1 раза ( $p < 0,05$ ), а холестерина ниже в 2 раза ( $p < 0,05$ ) (табл. 10). Активность АСТ статистически значимо была выше в 1,3 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с интактной группой, при этом активность АЛТ снижалась в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ), а ЩФ статистически не отличалась от интактных значений (табл. 10).

На 3 стадии ПД в контрольной группе уровень глюкозы возвращался к интактным значениям, что может быть связано инициированием глюконеогенеза на фоне длительной ПД [Епринцев и др., 2008]. Уровень альфа-амилазы статистически значимо снижался и его значения были в 2,1 раза ниже, чем у интактной группы ( $p < 0,05$ ). Содержание общего белка и альбуминов были статистически значимо ниже интактных значений ( $p < 0,05$ ), при этом уровень глобулинов не отличался от интактной группы. Таким образом, снижение уровня общего белка происходило в большей степени за счет снижения фракции альбуминов. Уровень мочевины существенно повышался - в 1,7 раз ( $p < 0,05$ ), что, несомненно, указывает на гиперкатаболизм белка в организме при ПД. Содержание креатинина при этом сохранялось на уровне интактных значений. Наблюдалось значительное снижение в 3,7 раз уровня триглицеридов и 1,8 раз уровня холестерина ( $p < 0,05$ ). Такое резкое снижение говорит о переключении энергетического метаболизма с углеводного на жировой. Такие изменения, вероятно могут быть связаны с окислением жирных кислот и индукцией глиоксилатного цикла на фоне длительного голодаия [Нихаев,

2019]. Основные показатели функционального состояния печени (АСТ, АЛТ и ЩФ) возвращались к норме и не отличались от интактных значений (табл. 10).

Таким образом, у крыс контрольной группы на разных стадиях длительной ПД наблюдается адаптационная перестройка белкового, углеводного и жирового обмена, а также основных показателей функционального состояния печени к новому функциональному состоянию организма в условиях отсутствия экзогенного поступления питательных субстратов.

#### **4.4 Оценка органов маркеров стресса на разных стадиях длительной пищевой депривации**

Ежедневно у крыс контрольной группы на протяжении длительной ПД оценивался внешний вид животных.

На 1 стадии ПД состояние животных не отличалось от интактной группы: крысы были активными; шерстяной покров чистый, ухоженный, блестящий, без проплешин и расчесов; глаза чистые и ясные, без выделений; нос чистый, дыхание ровное; уши чистые без струпьев. Бока и живот животных были ровными, ребра слегка прощупывались. Анальное отверстие чистое, так как наблюдалась нормальная дефекация в течение всей стадии.

На 2 стадии животные становились малоактивными и малоподвижными, шерсть становилась тусклой и слегка взъерошенной. Ребра животных прощупывались чуть больше, чем в норме. Стул имел нестабильную консистенцию: от нормального до жидкого.

На 3 стадии животные были чуть более малоактивными и малоподвижными, шерсть была тусклая и взъерошенная. Ребра крыс прощупывались. У большинства животных отмечалась дефекация в виде твёрдого кала комочками.

На протяжении всей ПД у крыс контрольной группы наблюдалось прогрессирующее снижение массы тела. К концу 1 стадии животные теряли 8 (7;16) % ( $p < 0,05$ ) массы тела, к концу 2 стадии 14 (13;25) % ( $p < 0,05$ ), а на момент

окончания исследования масса тела животных снизилась на 24 (20;25) % ( $p < 0,05$ ) от исходной.

У крыс контрольной группы были оценены органы-маркеры стресса при длительной ПД: относительные массы надпочечников и тимуса, а также слизистая оболочка желудка.

В таблице 11 представлены относительные массы надпочечников и тимуса. Так, в течение ПД выявлялось нарастающее повышение относительной массы надпочечников в 2,7 раза к 3 стадии ( $p < 0,05$ ). В то же самое время, в течение 1 и 2 стадий ПД относительная масса тимуса оставалась на стабильном уровне, однако к концу 3 стадии наблюдалось статистически значимое снижение ее относительной массы в 1,8 раз ( $p < 0,05$ ).

Таблица 11 - Относительные массы органов крыс на разных стадиях ПД, мг/100г

Орган	Интактная группа n=8	Контрольная группа 1 стадия ПД (1-3 сутки) n=7	Контрольная группа 2 стадия ПД (4-6 сутки) n=7	Контрольная группа 3 стадия ПД (7-9 сутки) n=7
Надпочечники	12 (8;15)	22 (18;30)*	21 (19;23)*	32 (24;35)*
Тимус	84 (70;94)	90 (55;103)	85 (65;88)	47 (8;64)*

Примечание: \* –  $p < 0,05$  по сравнению с интактной группой

У животных интактной группы макроскопическая картина желудка соответствовала норме (рис. 12).



Рисунок 12 - Макроскопическая картина слизистой оболочки желудка интактных крыс

На 1 стадии ПД у крыс контрольной группы в желудках макроскопически наблюдалось пенистое содержимое с примесью желчи (рис. 13), что, по всей вероятности, связано с забросом желчного содержимого из двенадцатиперстной кишки, складчатость сохранна, слизистая оболочка была визуально без изменений.

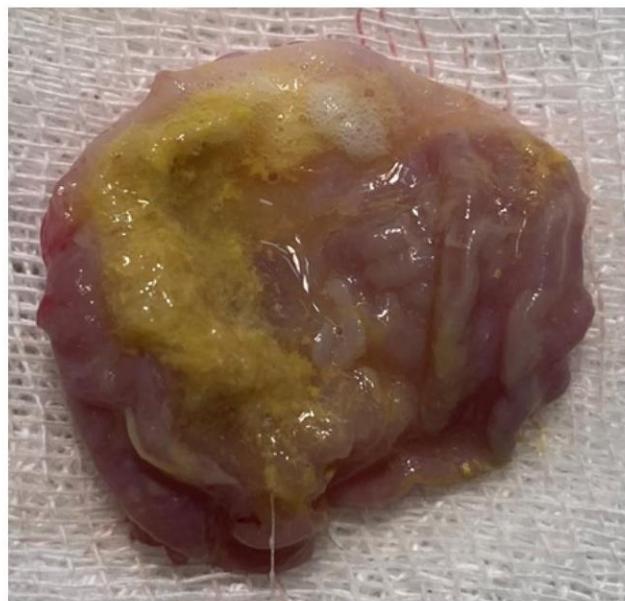


Рисунок 13 - Макроскопическая картина слизистой оболочки желудка у крыс контрольной группы на 1 стадии ПД

На 2 стадии ПД у крыс контрольной группы макроскопически (рис. 14) слизистая желудка содержала единичные точечные эрозии в безжелезистой части, складчатость была слегка сглажена, кроме того, в желудке наблюдалось обильное прозрачное жидкое содержимое.

На 3 стадии ПД у крыс контрольной группы в макрокартине желудка наблюдалось значительное его уменьшение в размерах, слизистая содержала крупные кровоточащие эрозии в безжелезистой части (рис. 15).



Рисунок 14 - Макроскопическая картина слизистой оболочки желудка у крыс контрольной группы на 2 стадии ПД



Рисунок 15 - Макроскопическая картина слизистой оболочки желудка у крыс контрольной группы на 3 стадии ПД

Таким образом, проведенные исследования показали, что у крыс контрольной группы при длительной ПД развивается стресс-реакция, которая подтверждается ответом со стороны органов-маркеров стресса, что сопровождается инволюцией тимуса, гипертрофией надпочечников и эрозивным повреждением слизистой оболочки желудка.

Известно, что существует несколько стресс-механизмов возникновения эрозий слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта: 1) усиление кислотно-пептического фактора в ответ на повышение продукции адренокортикотропного гормона; 2) нарушение кровоснабжения слизистой оболочки с последующей ишемией; 3) нарушение гастродуodenальной моторики.

Для того, чтобы выяснить, какая причина и механизм развития эрозий при длительной ПД у всех животных определялась кислотность желудка. Было установлено, что кислотность желудка на 1 стадии не изменялась, на 2 и 3 стадии также ее значения имели тенденцию к повышению, однако также не были статистически значимыми (табл. 12).

Таблица 12 - рН желудка на разные стадии ПД, Ме (25;75) %

Параметр	Интактная группа n=8	Контрольная группа 1 стадия ПД (1-3 сутки) n=7	Контрольная группа 2 стадия ПД (4-6 сутки) n=7	Контрольная группа 3 стадия ПД (7-9 сутки) n=7
рН желудка	2,0 (2,0;2,5)	2,0 (2,0;2,3)	3,0 (3,0;3,1)	3,0 (3,0;3,8)

Примечание: \* –  $p < 0,05$  по сравнению с интактной группой

Эти данные свидетельствуют о том, что возникновение эрозий слизистой оболочки в данной модели не связано с усилением кислотно-пептического фактора.

После этого нами был осуществлен гистологический анализ слизистой оболочки желудка, для дальнейшего определения причины образования эрозий. При гистологическом исследовании желудков крыс интактной группы стенка желудка имела правильную структуру, которая состояла из слизистого, мышечного и серозного слоёв. Слизистая оболочка была покрыта покровно-ямочным эпителием (рис. 16). Собственная пластинка состояла из рыхлой соединительной и ретикулярной тканей. Также наблюдались железы с сохранной эпителиальной выстилкой.

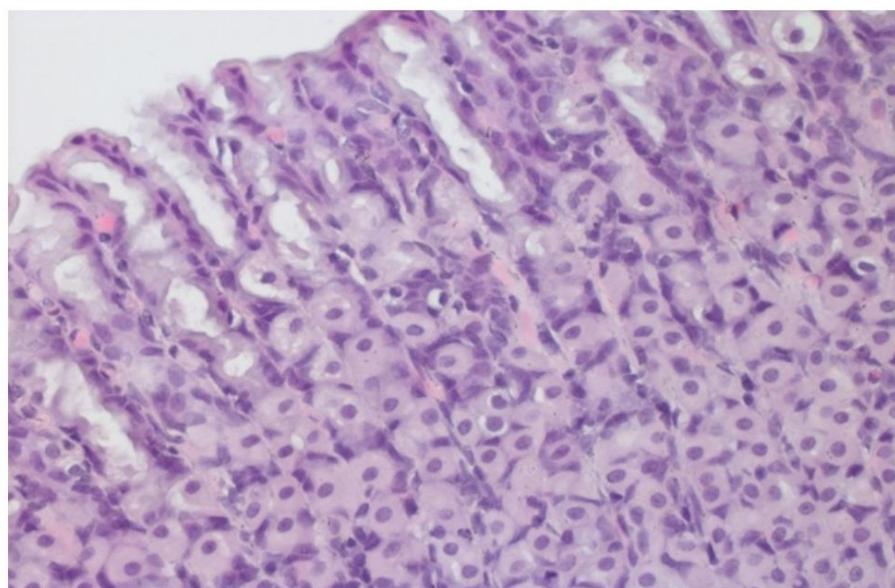


Рисунок 16 - Гистологическая картина слизистой оболочки желудка интактных крыс

Примечание: окраска гематоксилином эозином, увеличение x 400

На 1 стадии ПД у крыс контрольной группы при гистологическом анализе во всех слоях стенки желудка не выявлялось патологических изменений, однако в сосудах наблюдалось расширение и полнокровие, что является одним из признаков воспалительного процесса (рис. 17).

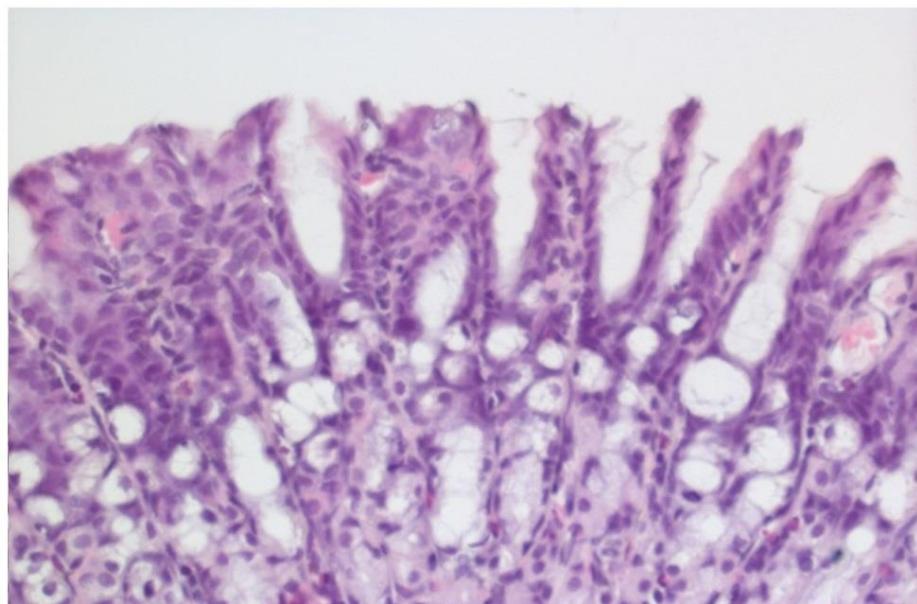


Рисунок 17 - Гистологическая картина слизистой оболочки желудка у крыс контрольной группы на 1 стадии ПД

Примечание: Окраска гематоксилином эозином, увеличение x 400

На 2 стадии ПД у крыс контрольной группы в гистологической картине желудка наблюдалась очаговая инфильтрация нейтрофилами в глубоких отделах собственной пластинки слизистой оболочки и подслизистом слое (рис. 18А), выявлялись мелкие эрозии покровно-ямочного эпителия с полнокровием капилляров, без воспалительных субэпителиальных инфильтраций (рис. 18Б).

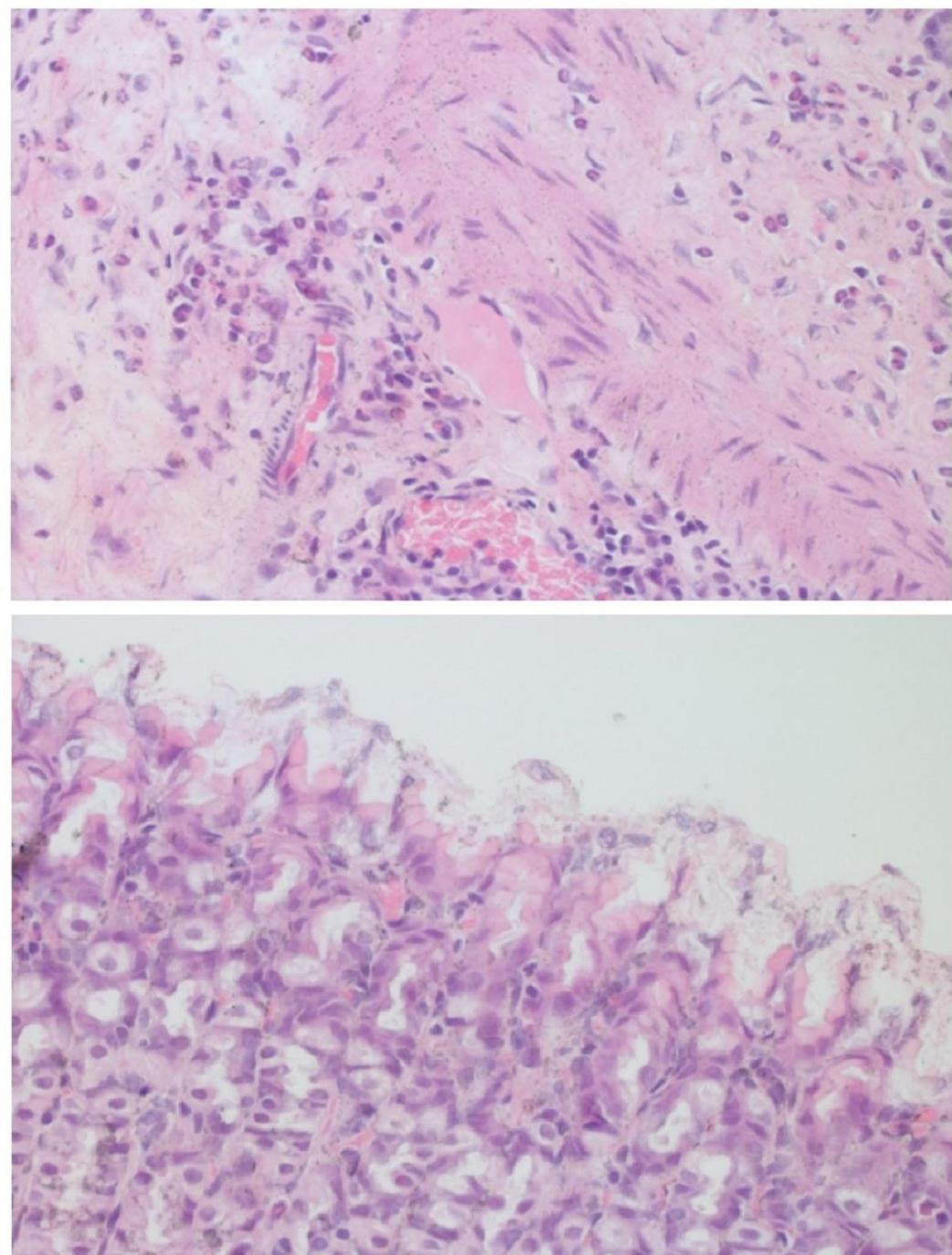


Рисунок 18 - Гистологическая картина слизистой оболочки желудка у крыс контрольной групп на 2 стадии ПД

Примечание: Окраска гематоксилин эозин, увеличение х 400

На 3 стадии ПД у крыс контрольной группы гистологический анализ также показал наличие крупных эрозий с большим количеством слизи на поверхности, примыкающий к эрозии эпителий был отечен (рис. 19А). Железы с признаками гиперплазии. В собственной пластинке слизистой оболочки желудка наблюдались

расширенные и полнокровные сосуды с признаками сладжирования эритроцитов в просвете (рис. 19Б). В собственной пластинке и на границе слизистой оболочки и подслизистого слоя выявлялась скучная инфильтрация в виде скоплений и единичных сегментоядерных нейтрофилов и эозинофилов (рис. 19В). Обнаруживались сливающиеся кровоизлияния и сладжи эритроцитов в капиллярах под покровным эпителием (рис. 19Г).

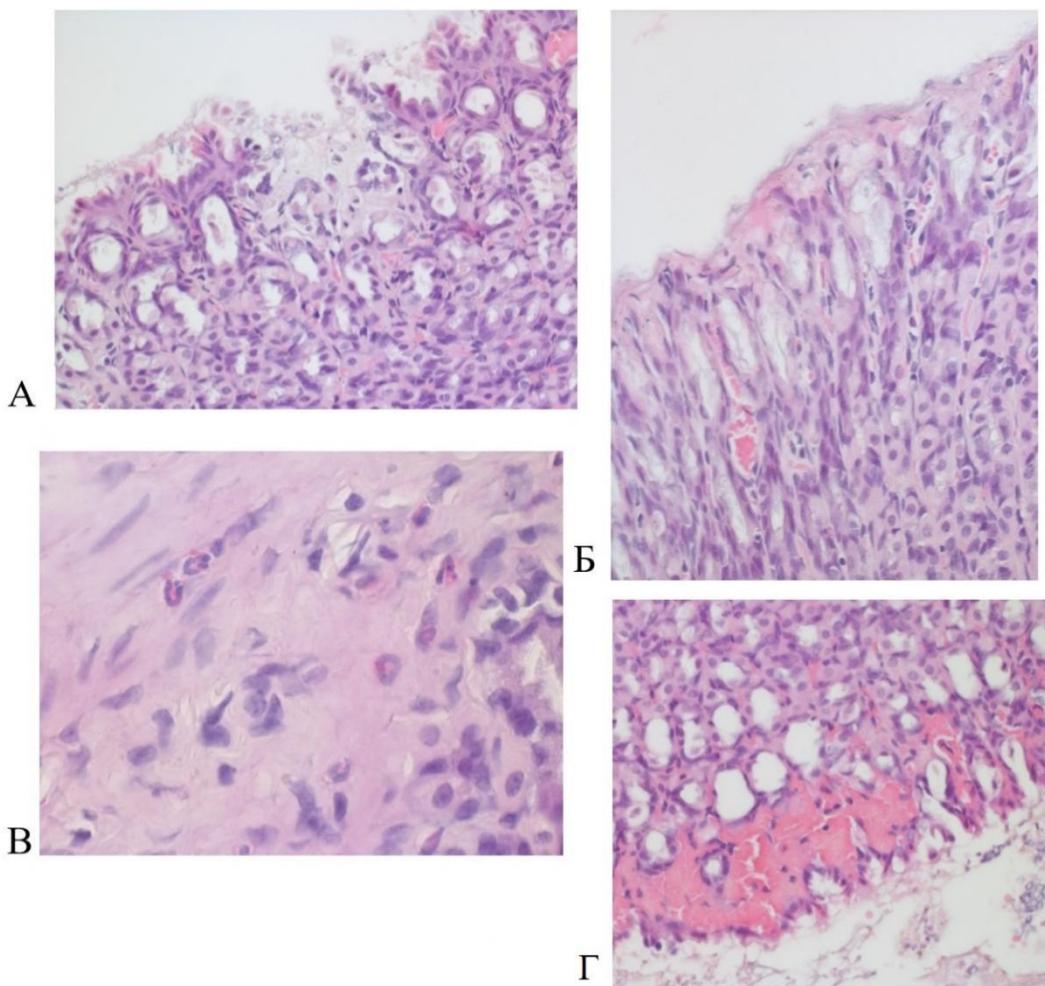


Рисунок 19 - Гистологическая картина слизистой оболочки желудка у крыс контрольной группы на 3 стадии ПД

Примечания: Окраска гематоксилином эозином. А, Б, Г – в увеличение х 400. В – масляная иммерсия, увеличение х 1000

Таким образом, по данным гистологического анализа можно заключить, что фактором возникновения эрозий при длительной ПД является нарушение кровоснабжения слизистой оболочки желудка.

## ГЛАВА 5. СТРЕСС-ПРОТЕКТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ ГАМК ПРИ СТРЕССЕ, ВЫЗВАННОМ ДЛИТЕЛЬНОЙ ПИЩЕВОЙ ДЕПРИВАЦИЕЙ

### 5.1 Влияние ГАМК на электрическую активность тонкой кишки при стрессе, вызванном длительной пищевой депривацией

С целью оценки влияния ГАМК на электрическую активность тонкой кишки при стрессе, вызванном длительной ПД, у крыс опытной группы была выполнена регистрация и анализ ЭМГ тонкой кишки при введении ГАМК на разных стадиях ПД.

Перед началом длительной ПД проводили фоновую регистрацию электрической активности тонкой кишки. Визуальный анализ фоновых ЭМГ показал выраженную периодичность электрической активности тонкой кишки во внепищеварительном периоде, при котором наблюдалось наличие ММК (рис. 20).

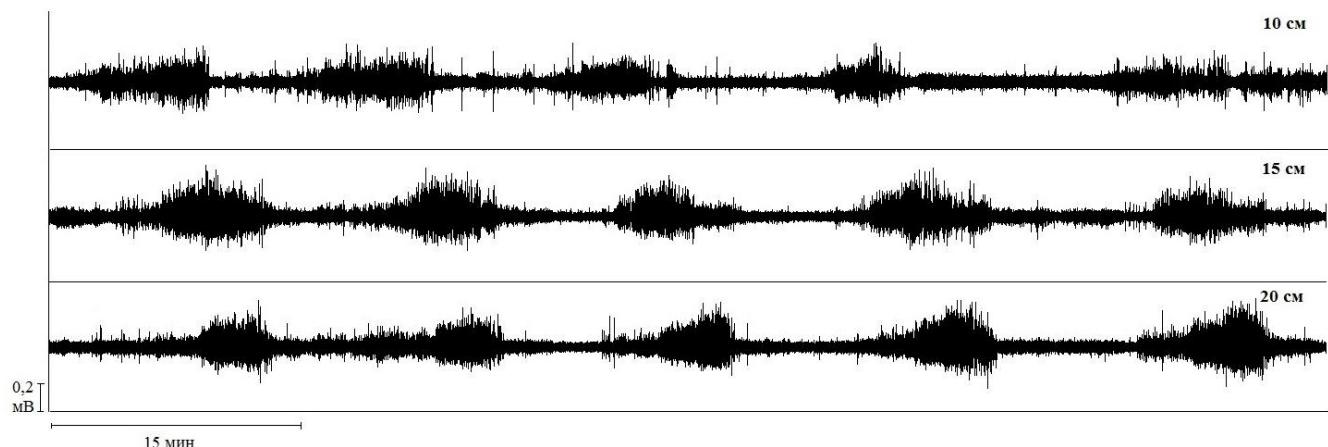


Рисунок 20 - Фоновая часовая электромиограмма тонкой кишки во  
внепищеварительном периоде у крыс опытной группы

Примечание: расположение электродов в тонкой кишке - 10, 15, 20 см за связкой  
Трейтца

У всех животных в фоновых записях (0-й день) электрическая активность тонкой кишки характеризовалась наличием ММК. Параметры фоновых ЭМГ соответствовали норме и представлены в таблице 13.

В соответствии со стадией ПД животным опытной группы ежедневно однократно в течение 3-х суток вводили раствор ГАМК.

На 1 стадии ПД, относительно фоновых значений 0-дня (рис. 21, табл.13), наблюдалось сохранение генерации ММК, однако его частота была снижена и составляла 3 (3;4) в час ( $p < 0,05$ ). Продолжительность периода ММК была увеличена 1025 (853;1212) с ( $p < 0,05$ ). Наблюдалось присутствие всех фаз комплекса, однако процент представленности фазы II был выше фона и составлял 62 (59;65) % ( $p < 0,05$ ) за счет уменьшения фаз покоя 17 (12;21) % ( $p < 0,05$ ) и регулярной активности 19 (19;20) % ( $p < 0,05$ ).

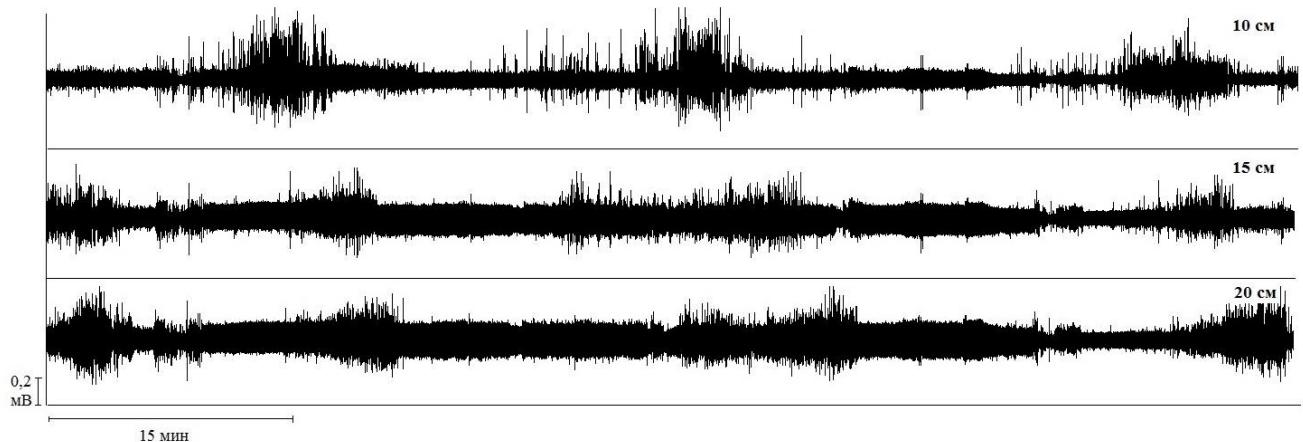


Рисунок 21 - ЭМГ тонкой кишки на 1 стадии ПД после 3-х кратного введения ГАМК у крыс опытной группы

Примечание: расположение электродов в тонкой кишке - 10, 15, 20 см за связкой Трейтца

Таблица 13 - Параметры ММК у крыс опытной группы на 1 стадии ПД после 3-х кратного введения ГАМК, Me (25;75) %

	Количество ММК в час	Период ММК, с	V <sub>распр-я</sub> , см/мин	III фаза, с	I, %	II, %	III, %
Фон 0-й день	5 (4;5)	804 (712;869)	1,46 (1,09;1,81)	176 (147;229)	37 (30;46)	36 (33;39)	24 (18;30)
1 стадия ПД (1-3 сутки)	3 (3;4)*	1025 (853;1212)*	1,41 (0,90;2,10)	201 (171;234)	17 (12;21)*	62 (59;65)*	19 (19;20)*
Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с фоном (0-й день)							

Анализ реакции на введение ГАМК на 1 стадии ПД показал, что после первого введения ГАМК наблюдалось разрушение ММК с исчезновением фаз I и III. На протяжении 24 (23;30) мин регистрировалась нерегулярная активность, после чего наблюдалось восстановление генерации ММК. При этом все параметры ММК возвращались к исходным значениям (рис. 22). В последующие два введения ГАМК картина электрической активности тонкой кишки на введении и на восстановлении была схожа с первым днем, однако во время восстановления после второго введения наблюдалось увеличение скорости распространения III фазы с 1,41 (0,90;2,10) до 3,21 (2,11;3,62) см/мин ( $p < 0,05$ ), а на восстановлении после третьего введения уменьшение периода ММК с 1025 (853;1212) до 806 (784;832) с ( $p < 0,05$ ) (рис. 22). Таким образом, реакция на введение ГАМК на 1 стадии ПД была схожей с реакцией на введение ГАМК у здоровых животных.

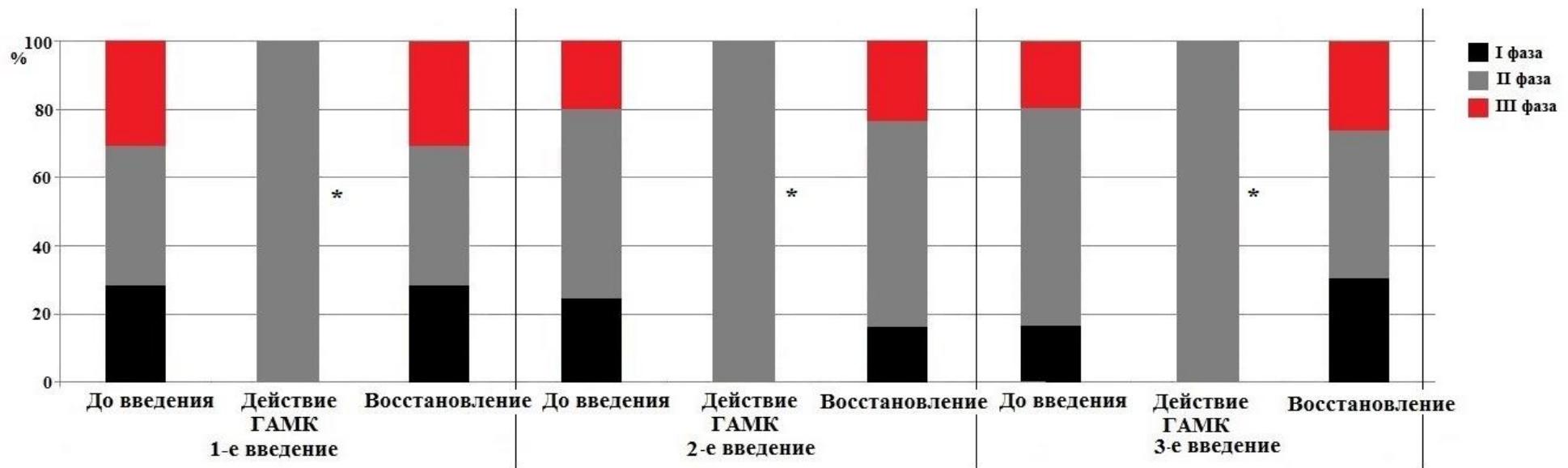


Рисунок 22 - Влияние введения ГАМК на параметры ММК тонкой кишки на 1 стадии ПД у крыс опытной группы

Примечание: \* –  $p < 0,05$  по сравнению с записью до введения

На 2 стадии ПД, относительно фоновых значений 0-дня, наблюдался ММК, однако частота генерации ММК оставалась сниженной и составляла 3 (3;4) в час ( $p < 0,05$ ) (рис. 23). Длительность периода ММК возвращалась к фоновым значениям. Продолжительность фазы покоя и нерегулярной активности соответствовала 1 стадии, а фазы регулярной активности повышалась до фоновых значений – 29 (14;31) % ( $p > 0,05$ ) (табл. 14).

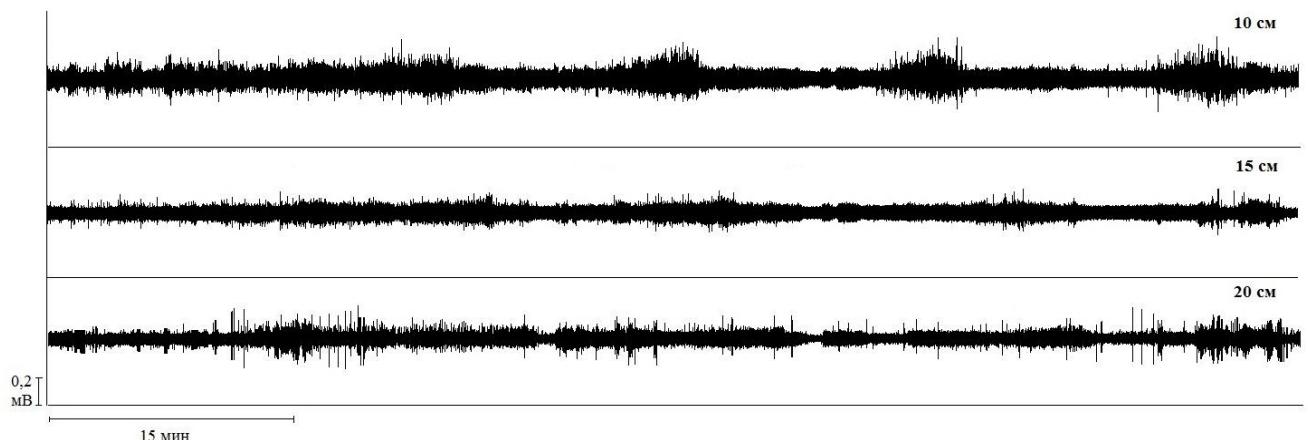


Рисунок 23 - ЭМГ тонкой кишки на 2 стадии ПД после 3-х кратного введения ГАМК у крыс опытной группы

Примечание: Расположение электродов в тонкой кишке - 10, 15, 20 см за связкой Трейтца

Таблица 14 - Параметры ММК у крыс опытной группы на 2 стадии ПД после 3-х кратного введения ГАМК, Мe (25;75) %

	Количество ММК в час	Период ММК, с	$V_{\text{распр-я}}$ , см/мин	III фаза, с	I, %	II, %	III, %
Фон 0-й день	5 (4;5)	804 (712;869)	1,46 (1,09;1,81)	176 (147;229)	37 (30;46)	36 (33;39)	24 (18;30)
2 стадия ПД (4-6 сутки)	3 (3;4)*	867 (707;1026)	1,41 (0,99;1,63)	181 (149;217)	19 (19;20)*	60 (51;66)*	29 (14;31)

Примечание: \* –  $p < 0,05$  по сравнению фоном (0-й день)

Анализ реакции на введение ГАМК на 2 стадии ПД показал, что до первого введения ГАМК на 2 стадии ПД ММК не наблюдался (рис. 24). Регистрировалась длительная нерегулярная 74 (71;87) % и регулярная активность 26 (13;29) %. Длительность III фазы составляла 443 (345;457) с, а скорость ее распространения –

1,74 (1,63;2,30) см/мин. После 1-го введения ГАМК наблюдалась нерегулярная активность на протяжении 54 (34;82) мин, после чего наблюдалось восстановление генерации ММК. Период ММК составлял 703 (671;1267) с. Длительность III фазы снижалась относительно исходных значений и составляла 186 (182;267) с, однако, снижение не было статистически значимым. Скорость распространения III фазы оставалась на уровне исходных значений. Отметим, что в последующие два дня в записях электрической активности тонкой кишки до введения ГАМК наблюдался ММК. После введения ГАМК наблюдалось нарастающее увеличение времени ее действия до 67 (57;80) и 78 (67;81) мин соответственно. После чего в оба дня наблюдалось восстановление процента представленности фаз до начальных значений. Однако в последний день введения во время восстановления длительность III фазы уменьшалась с 196 (169;225) до 141 (131;149) с ( $p < 0,05$ ), а также наблюдалось увеличение скорости распространения III фазы с 0,99 (0,77;1,06) до 2,01 (1,62;2,59) см/мин ( $p < 0,05$ ). Таким образом, введение ГАМК на 2 стадии ПД ярко проявляет модулирующее действие и приводит к сохранению ММК.

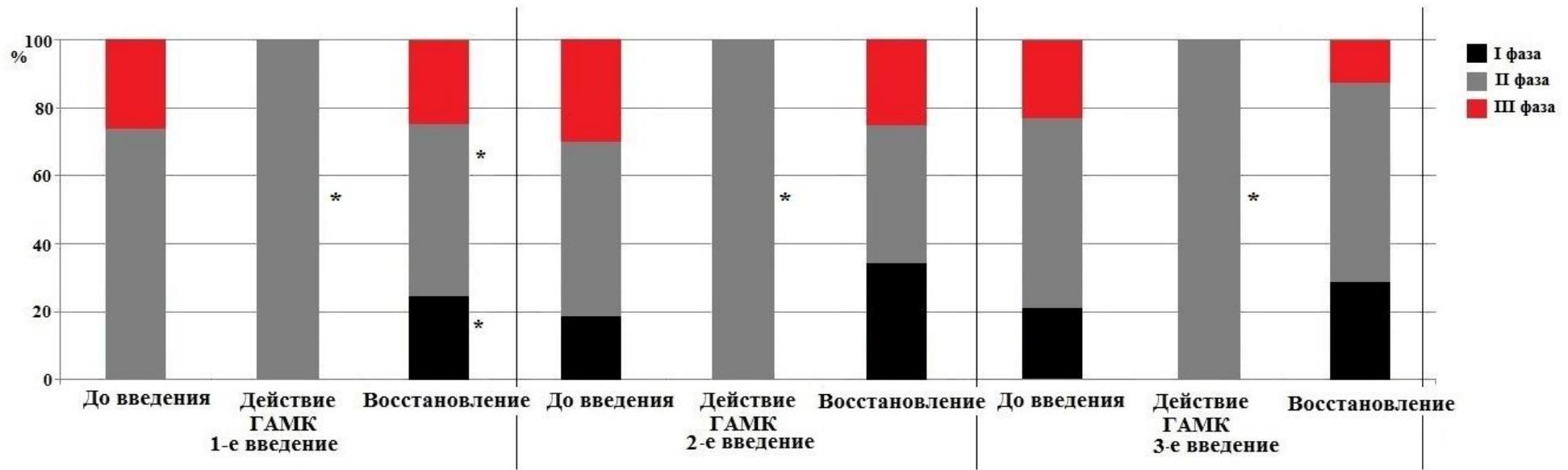


Рисунок 24 - Влияние введения ГАМК на параметры ММК тонкой кишки на 2 стадии ПД у крыс опытной группы

Примечание: \* –  $p < 0,05$  по сравнению с записью до введения

На 3 стадии ПД, относительно фоновых значений 0-дня, наблюдался ММК, однако частота генерации ММК оставалась сниженной и составляла 3 (2;3) в час ( $p < 0,05$ ) (рис. 25, табл. 15). Соотношение фаз комплекса были сходными с 1 стадией.

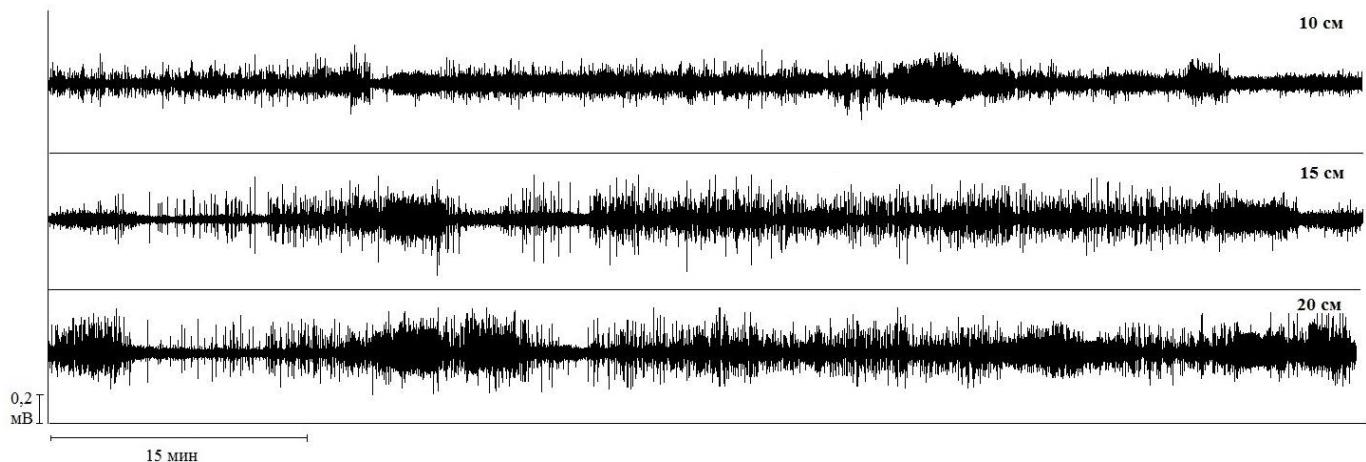


Рисунок 25 - ЭМГ тонкой кишки на 3 стадии ПД после 3-х кратного введения ГАМК у крыс опытной группы

Примечание: расположение электродов в тонкой кишке - 10, 15, 20 см за связкой Трейтца

Таблица 15 - Параметры ММК у крыс опытной группы на 3 стадии ПД после 3-х кратного введения ГАМК, Me (25;75) %

	Количество ММК в час	Период ММК, с	$V_{\text{распр-я}}$ , см/мин	III фаза, с	I, %	II, %	III, %
Фон 0-й день	5 (4;5)	804 (712;869)	1,46 (1,09;1,81)	176 (147;229)	37 (30;46)	36 (33;39)	24 (18;30)
3 стадия ПД (7-9 сутки)	3 (2;3)*	942 (882;1404)	1,63 (1,09;2,52)	164 (153;199)	15 (13;17)*	67 (57;71)*	18 (17;20)*

Примечание: \* -  $p < 0,05$  по сравнению фоном 0-й день

Анализ реакции на каждое введение ГАМК на 3 стадии ПД показал, что, как и в предыдущие две стадии, после первого введения ГАМК наблюдалась нерегулярная активность в течение 82 (76;88) мин, в дальнейшем генерация ММК восстанавливалась. Как и в предыдущие стадии, в последующие два введения в первый час в записях электрической активности тонкой кишки также наблюдался ММК. На втором введении длительность эффекта ГАМК составляла 86 (73;90) мин,

а на третьем 66 (64;67) мин. Затем в обоих случаях происходило восстановление ММК (рис. 26). После третьего введения ГАМК, процент представленности фаз имел следующие изменения: фаза I и фаза III статистически значимо увеличивались и составляли 35 (34;35) % и 28 (17;29) % от продолжительности комплекса соответственно, а фаза II наоборот статистически значимо уменьшалась и составляла 37 (37;39) %. Эти параметры ММК статистически значимо не отличались от фоновых (0-й день) значений.

Таким образом, в экспериментах установлено, что в опытной группе введение ГАМК на разных стадиях ПД изменяет характер электрической активности тонкой кишки. Введение ГАМК на разных стадиях ПД приводит к сохранению ММК тонкой кишки с уменьшением циклов до трех в час.

При сравнении динамики электрической активности тонкой кишки на протяжении длительной ПД в контрольной и опытной группах установлено, что на 1 стадии ПД в обеих группах периодичность циклов ММК сохраняется, однако циклы становятся более редкими (до трех в час). Таким образом, введение ГАМК на 1 стадии не влияет на ММК тонкой кишки. На 2 и 3 стадии ПД в контрольной группе ММК исчезает, в то время как в опытной группе введение ГАМК приводит к сохранению ритма периодической электрической активности тонкой кишки с уменьшением циклов ММК до трех в час.

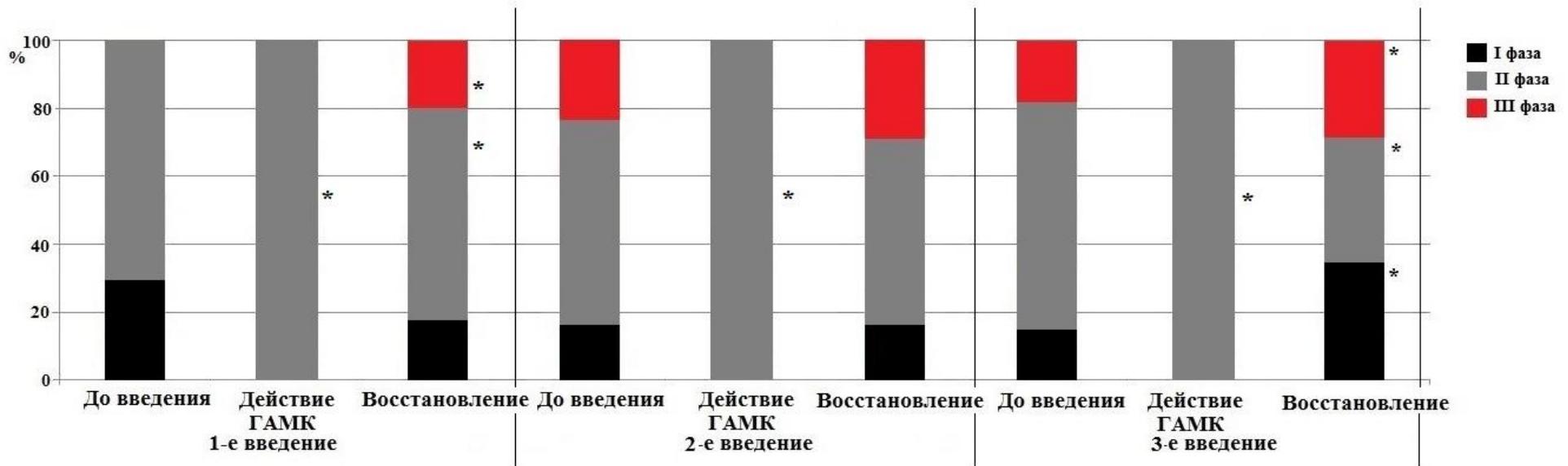


Рисунок 26 - Влияние введения ГАМК на параметры ММК тонкой кишки на 3 стадии ПД

Примечание: \* –  $p < 0,05$  по сравнению с записью до введения

## **5.2 Влияние ГАМК на микробиоту тощей и слепой кишок при стрессе, вызванном длительной пищевой депривацией**

У крыс опытной группы оценено влияние введения ГАМК на состояние микробиоты тощей и слепой кишок на разных стадиях длительной ПД.

Полученные данные качественного и количественного состава микробиоты тощей и слепой кишок указаны в таблицах 16-18.

На 1 стадии ПД в опытной группе по сравнению с контрольной в образцах полостной и пристеночной флоры тонкой кишки у всех животных исчезли *P. aeruginosa* и *Bifidobacterium spp.* Кроме того, в образцах пристеночной флоры тонкой кишки у всех животных исчезли *Lactobacillus spp.* При этом при сравнении с интактной группой в опытной группе наблюдалось исчезновение *Staphylococcus spp.* как в полостной, так и в пристеночной флоре, а также статистически значимое увеличение численности *Proteus sp.* в образцах полостной флоры тонкой кишки. В слепой кишке в опытной группе по сравнению с контрольной не обнаруживалась *Klebsiella spp.*, наблюдалось статистически значимое увеличение *Enterococcus spp.* Численность *Bifidobacterium spp.* в опытной группе была статистически значимо выше на 2 порядка, чем в контрольной и при этом не отличалась от интактных значений. Численность *Lactobacillus spp.* статистически значимо не отличалась в контрольной, опытной и интактной группах.

На 2 стадии ПД в образцах полостной флоры тонкой кишки опытной группы в отличие от контрольной наблюдалось появление *P. aeruginosa* у 2 из 6 животных, *Enterobacter sp.* у 3 из 6 животных и *Staphylococcus spp.* у 1 из 6 животных. В пристеночной флоре тонкой кишки в опытной группе в отличие от контрольной, наблюдалось появление *Enterobacter sp.* у 1 из 6 животных, статистически значимо увеличилась численность *Proteus sp.*, появились *Lactobacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.* у 1 из 6 животных. В слепой кишке у опытной группы в отличие от контрольной не высевался *S. aureus*, но появлялся *Enterobacter sp.* у 2 из 6 животных и *Staphylococcus spp.* у 2 из 6 животных. Численность *Enterococcus spp.* в опытной

группе не отличалась от контрольной, однако превосходила интактные значения на 2 порядка. Численность *Bifidobacterium spp.* статистически значимо не отличалась в контрольной, опытной и интактной группах. Численность *Lactobacillus spp.* в опытной группе статистически значимо не отличалась от интактной группы, в то время как в контрольной группе их численность статистически значимо была ниже интактной группы.

На 3 стадии ПД у крыс опытной группы в полостной флоре тонкой кишки в отличие от контрольной наблюдалось отсутствие *P. aeruginosa*, *Staphylococcus spp.*, *Enterobacter sp.*, *Lactobacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.*. При этом у интактных животных в полостной флоре отсутствовали *P. aeruginosa* и *Enterobacter sp.*. Кроме того, у опытной группы наблюдалось статистически значимое увеличение *Proteus sp.* по сравнению как с контрольной, так и с интактной группой. В пристеночной флоре в опытной группе по сравнению с контрольной группой исчезали *Klebsiella spp.*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Staphylococcus spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*. В составе флоры слепой кишки опытной группы в отличие от контрольной не наблюдалось *Candida spp.* Численность *Proteus sp.* опытной группы была статистически значимо выше значений как контрольной, так и интактной группы.

Несмотря на то, что медианные значения численности *Lactobacillus spp.* в контрольной группе были на 3 порядка ниже, чем у интактных животных, статистически значимых различий между контрольной, опытной и интактной группами не отмечалось. Численность *Bifidobacterium spp.* в опытной группе статистически значимо не отличалась от интактной группы, в то время как в контрольной группе их численность статистически значимо была ниже интактной группы. Таким образом, на 3 стадии ПД в опытной группе наблюдается поддержание колонизационной резистентности к условно-патогенной флоре, а также сохранение эубионтов в слепой кишке на уровне интактных значений.

Таблица 16 - Влияние ГАМК на содержание различных видов микроорганизмов в тонкой и слепой кишках на 1 стадии ПД, КОЕ/мл, Me (25;75) %

Вид микроорганизма	Интактная группа n=8			Контрольная группа 1 стадия (1-3 сутки) n=7			Опытная группа 1 стадия (1-3 сутки) n=6		
	Тощая кишка		Тощая кишка	Тощая кишка		Слепая кишка	Тощая кишка		Слепая кишка
	Пол. флора	Прист. флора		Пол. флора	Прист. флора		Пол. флора	Прист. флора	
<i>E.coli</i>	$10^3$ (0;10 <sup>3</sup> )	0 (0;10 <sup>1</sup> )	$10^5$ (10 <sup>5</sup> ;10 <sup>6</sup> )	$10^3$ (10 <sup>1</sup> ;10 <sup>5</sup> )	$10^2$ (0;10 <sup>5</sup> )	$10^5$ (10 <sup>5</sup> ;10 <sup>6</sup> )	$10^3$ (10 <sup>2</sup> ;10 <sup>3</sup> )	0 (0;0)	$10^7$ (10 <sup>6</sup> ;10 <sup>7</sup> )*
<i>Enterococcus sp.</i>	$10^1$ (0;10 <sup>2</sup> )	0 (0;0)	$10^5$ (10 <sup>4</sup> ;10 <sup>5</sup> )	$10^3$ (10 <sup>1</sup> ;10 <sup>5</sup> )	0 (0;10 <sup>3</sup> )	$10^5$ (10 <sup>5</sup> ;10 <sup>6</sup> )*	$10^3$ (10 <sup>2</sup> ;10 <sup>5</sup> )	0 (0;0)	$10^8$ (10 <sup>7</sup> ;10 <sup>8</sup> )*#
<i>Proteus sp.</i>	0 (0;10 <sup>2</sup> )	-	$10^2$ (0;10 <sup>4</sup> )	$10^2$ (0;10 <sup>3</sup> )	$10^2$ (0;10 <sup>4</sup> )*	$10^3$ (0;10 <sup>4</sup> )	$10^4$ (10 <sup>3</sup> ;10 <sup>4</sup> )*	0 (0;10 <sup>2</sup> )	$10^3$ (10 <sup>3</sup> ;10 <sup>6</sup> )
<i>Klebsiella spp.</i>	0 (0;0)	-	-	$10^4$ (10 <sup>2</sup> ;10 <sup>6</sup> )	0 (0;10 <sup>1</sup> )	$10^2$ (0;10 <sup>3</sup> )*	$10^1$ (0;10 <sup>2</sup> )	0 (0;0)	-#
<i>Enterobacter sp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P.aeruginosa</i>	-	-	-	0 (0;10 <sup>2</sup> )	0 (0;0)	0 (0;0)	-	-	-
<i>Staphylococcus sp.</i>	$10^2$ (0;10 <sup>3</sup> )	0 (0;0)	$10^4$ (10 <sup>2</sup> ;10 <sup>4</sup> )	-*	-	-	-*	-	0 (0;10 <sup>2</sup> )
<i>S.aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	0 (0;10 <sup>3</sup> )
<i>Candida spp.</i>	0 (0;10 <sup>1</sup> )	0 (0;0)	0 (0;10 <sup>1</sup> )	-	-	-	-	-	-
<i>Lactobacillus spp.</i>	0 (0;10 <sup>4</sup> )	0 (0;10 <sup>1</sup> )	$10^7$ (10 <sup>5</sup> ;10 <sup>7</sup> )	0 (0;10 <sup>3</sup> )	0 (0;10 <sup>3</sup> )	$10^4$ (10 <sup>3</sup> ;10 <sup>5</sup> )	0 (0;10 <sup>2</sup> )	-	$10^5$ (10 <sup>5</sup> ;10 <sup>5</sup> )
<i>Bifidobacterium spp.</i>	0 (0;10 <sup>4</sup> )	0 (0;0)	$10^6$ (10 <sup>4</sup> ;10 <sup>6</sup> )	0 (0;10 <sup>3</sup> )	0 (0;10 <sup>2</sup> )	$10^4$ (0;10 <sup>5</sup> )	-	-	$10^6$ (10 <sup>5</sup> ;10 <sup>6</sup> )*#

Примечание: \* –  $p < 0,05$  по сравнению с интактной группой; # –  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой

Пол. флора – полостная флора; Прист. флора – пристеночная флора

«-» – отсутствует у всех животных

Таблица 17 - Влияние ГАМК на содержание различных видов микроорганизмов в тонкой и слепой кишках на 2 стадии ПД, КОЕ/мл, Me (25;75) %

Вид микроорганизма	Интактная n=8			Контрольная группа 2 стадия (4-6 сутки) n=6			Опытная группа 2 стадия (4-6 сутки) n=6		
	Тонкая кишка		Слепая кишка	Тонкая кишка		Слепая кишка	Тонкая кишка		Слепая кишка
	Пол. флора	Прист. флора		Пол. флора	Прист. флора		Пол. флора	Прист. флора	
<i>E.coli</i>	10 <sup>3</sup> (0;10 <sup>3</sup> )	0 (0;10 <sup>1</sup> )	10 <sup>5</sup> (10 <sup>5</sup> ;10 <sup>6</sup> )	10 <sup>3</sup> (10 <sup>1</sup> ;10 <sup>4</sup> )	0 (0;0)	10 <sup>5</sup> (10 <sup>3</sup> ;10 <sup>7</sup> )	10 <sup>4</sup> (10 <sup>2</sup> ;10 <sup>4</sup> )	0 (0;10 <sup>2</sup> )# (10 <sup>7</sup> ;10 <sup>7</sup> )*	10 <sup>7</sup>
<i>Enterococcus sp.</i>	10 <sup>1</sup> (0;10 <sup>2</sup> )	0 (0;0)	10 <sup>5</sup> (10 <sup>4</sup> ;10 <sup>5</sup> )	10 <sup>3</sup> (10 <sup>1</sup> ;10 <sup>5</sup> )	-	10 <sup>6</sup> (10 <sup>5</sup> ;10 <sup>7</sup> )*	10 <sup>1</sup> (0;10 <sup>4</sup> )	0 (0;0)	10 <sup>6</sup> (10 <sup>5</sup> ;10 <sup>6</sup> )
<i>Proteus sp.</i>	0 (0;10 <sup>2</sup> )	-	10 <sup>2</sup> (0;10 <sup>4</sup> )	10 <sup>4</sup> (10 <sup>3</sup> ;10 <sup>5</sup> )*	0 (0;10 <sup>2</sup> )	10 <sup>5</sup> (10 <sup>4</sup> ;10 <sup>5</sup> )	10 <sup>3</sup> (10 <sup>1</sup> ;10 <sup>4</sup> )	10 <sup>2</sup> (0;10 <sup>3</sup> )*	10 <sup>4</sup> (10 <sup>1</sup> ;10 <sup>5</sup> )
<i>Klebsiella spp.</i>	0 (0;0)	-	-	0 (0;10 <sup>2</sup> )	-	0 (0;10 <sup>2</sup> )	0 (0;0)	-	0 (0;10 <sup>2</sup> )
<i>Enterobacter sp.</i>	-	-	-	-	-	-	10 <sup>1</sup> (0;10 <sup>4</sup> )*	0 (0;0)	0 (0;10 <sup>3</sup> )
<i>P.aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	0 (0;10 <sup>2</sup> )	-	-
<i>Staphylococcus sp.</i>	10 <sup>2</sup> (0;10 <sup>3</sup> )	0 (0;0)	10 <sup>4</sup> (10 <sup>2</sup> ;10 <sup>4</sup> )	-*	-	-	0 (0;0)	-	0 (0;10 <sup>3</sup> )
<i>S.aureus</i>	-	-	-	0 (0;0)	-	0 (0;10 <sup>2</sup> )	0 (0;0)	-	-
<i>Candida spp.</i>	0 (0;10 <sup>1</sup> )	0 (0;0)	0 (0;10 <sup>1</sup> )	-	-	-	-	-	-
<i>Lactobacillus spp.</i>	0 (0;10 <sup>4</sup> )	0 (0;10 <sup>1</sup> )	10 <sup>7</sup> (10 <sup>5</sup> ;10 <sup>7</sup> )	0 (0;10 <sup>4</sup> )	-	10 <sup>5</sup> (0;10 <sup>5</sup> )*	0 (0;10 <sup>3</sup> )	0 (0;0)	10 <sup>5</sup> (10 <sup>4</sup> ;10 <sup>5</sup> )
<i>Bifidobacterium spp.</i>	0 (0;10 <sup>4</sup> )	0 (0;0)	10 <sup>6</sup> (10 <sup>4</sup> ;10 <sup>6</sup> )	0 (0;10 <sup>5</sup> )	-	10 <sup>5</sup> (0;10 <sup>5</sup> )	0 (0;10 <sup>3</sup> )	0 (0;0)	10 <sup>5</sup> (10 <sup>5</sup> ;10 <sup>6</sup> )

Примечание: \* – p < 0,05 по сравнению с интактной группой; # – p < 0,05 по сравнению с контрольной группой

Пол. флора – полостная флора; Прист. флора – пристеночная флора

«-» – отсутствует у всех животных

Таблица 18 - Влияние ГАМК на содержание различных видов микроорганизмов в тонкой и слепой кишках на 3 стадии ПД, КОЕ/мл, Me (25;75) %

Вид микроорганизма	Интактная n=8			Контрольная группа 3 стадия (7-9 сутки) n=7			Опытная группа 3 стадия (7-9 сутки) n=6		
	Тонкая кишка		Слепая кишка	Тонкая кишка		Слепая кишка	Тонкая кишка		Слепая кишка
	Пол. флора	Прист. флора		Пол. флора	Прист. флора		Пол. флора	Прист. флора	
<i>E.coli</i>	10 <sup>3</sup> (0;10 <sup>3</sup> )	0 (0;10 <sup>1</sup> )	10 <sup>5</sup> (10 <sup>5</sup> ;10 <sup>6</sup> )	0 (0;10 <sup>4</sup> )	0 (0;0)	10 <sup>6</sup> (10 <sup>5</sup> ;10 <sup>6</sup> )	10 <sup>2</sup> (10 <sup>1</sup> ;10 <sup>3</sup> )	-	10 <sup>5</sup> (10 <sup>4</sup> ;10 <sup>5</sup> )
<i>Enterococcus sp.</i>	10 <sup>1</sup> (0;10 <sup>2</sup> )	0 (0;0)	10 <sup>5</sup> (10 <sup>4</sup> ;10 <sup>5</sup> )	10 <sup>2</sup> (0;10 <sup>4</sup> )	0 (0;10 <sup>4</sup> )	10 <sup>5</sup> (10 <sup>5</sup> ;10 <sup>6</sup> )*	10 <sup>4</sup> (10 <sup>3</sup> ;10 <sup>4</sup> )*	10 <sup>1</sup> (0;10 <sup>3</sup> )	10 <sup>6</sup> (10 <sup>5</sup> ;10 <sup>6</sup> )
<i>Proteus sp.</i>	0 (0;10 <sup>2</sup> )	-	10 <sup>2</sup> (0;10 <sup>4</sup> )	10 <sup>3</sup> (0;10 <sup>4</sup> )	0 (0;0)	0 (0;0)	10 <sup>5</sup> (10 <sup>5</sup> ;10 <sup>5</sup> )*#	10 <sup>2</sup> (0;10 <sup>3</sup> )*	10 <sup>6</sup> (10 <sup>5</sup> ;10 <sup>6</sup> )*#
<i>Klebsiella spp.</i>	0 (0;0)	-	-	10 <sup>3</sup> (0;10 <sup>4</sup> )	0 (0;0)	10 <sup>3</sup> (0;10 <sup>4</sup> )*	0 (0;0)	-	0 (0;0)
<i>Enterobacter sp.</i>	-	-	-	0 (0;0)	-	-	-	-	-
<i>P.aeruginosa</i>	-	-	-	0 (0;0)	0 (0;0)	-	-	-	-
<i>Staphylococcus sp.</i>	10 <sup>2</sup> (0;10 <sup>3</sup> )	0 (0;0)	10 <sup>4</sup> (10 <sup>2</sup> ;10 <sup>4</sup> )	0 (0;10 <sup>2</sup> )	0 (0;0)	10 <sup>3</sup> (0;10 <sup>3</sup> )	-	-	0 (0;10 <sup>2</sup> )
<i>S.aureus</i>	-	-	-	0 (0;0)	-	0 (0;10 <sup>2</sup> )	0 (0;10 <sup>2</sup> )	-	0 (0;10 <sup>4</sup> )
<i>Candida spp.</i>	0 (0;10 <sup>1</sup> )	0 (0;0)	0 (0;10 <sup>1</sup> )	-	-	0 (0;10 <sup>2</sup> )	-	-	-
<i>Lactobacillus spp.</i>	0 (0;10 <sup>4</sup> )	0 (0;10 <sup>1</sup> )	10 <sup>7</sup> (10 <sup>5</sup> ;10 <sup>7</sup> )	0 (0;10 <sup>5</sup> )	0 (0;10 <sup>2</sup> )	10 <sup>4</sup> (10 <sup>2</sup> ;10 <sup>4</sup> )	-	-	10 <sup>5</sup> (10 <sup>4</sup> ;10 <sup>5</sup> )
<i>Bifidobacterium spp.</i>	0 (0;10 <sup>4</sup> )	0 (0;0)	10 <sup>6</sup> (10 <sup>4</sup> ;10 <sup>6</sup> )	0 (0;10 <sup>4</sup> )	0 (0;10 <sup>2</sup> )	10 <sup>4</sup> (0;10 <sup>4</sup> )*	-	-	10 <sup>5</sup> (10 <sup>4</sup> ;10 <sup>5</sup> )

Примечание: \* –  $p < 0,05$  по сравнению с интактной группой; # –  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой  
Пол. флора – полостная флора; Прист. флора – пристеночная флора  
«-» – отсутствует у всех животных

Таким образом, в опытных группах введение ГАМК на разных стадиях ПД приводит к перераспределению качественного и количественного состава микробиоты в тонкой и слепой кишках, а также к нормализации численности лакто- и бифидобактерий в слепой кишке.

### **5.3 Влияние ГАМК на изменения показателей метаболизма при стрессе, вызванном длительной пищевой депривацией**

У крыс опытной группы оценено влияние введения ГАМК на основные параметры метаболизма (белкового, липидного, углеводного обмена), а также основные показатели функционального состояния печени на различных стадиях длительной ПД.

На 1 стадии ПД (табл. 19) в опытной группе основной показатель углеводного обмена – глюкоза статистически значимо не отличался от значений контрольной группы, при этом по сравнению с интактной группой данный показатель статистически значимо снижался в 1,7 раз ( $p < 0,05$ ). Активность альфа-амилазы в опытной группе также не отличалась от контрольной группы, при этом была статистически значимо снижена на 42 % ( $p < 0,05$ ) по сравнению с интактной группой, таким образом, в опытной группе не наблюдалось восстановления показателей углеводного обмена. Показатели белкового обмена опытной группы статистически значимо не отличались от контрольной, исключением являлся уровень альбуминов, который на 9,6 % был статистически значимо ниже ( $p < 0,05$ ). При этом по сравнению с интактными значениями в опытной группе наблюдалось статистически значимое снижение содержания общего белка на 9,2 % ( $p < 0,05$ ) и альбуминов на 15,6 % ( $p < 0,05$ ). Уровень глобулинов и мочевины в опытной группе соответствовал интактным значениям, в то время как в контрольной группе значения этих показателей были статистически значимо ниже интактной группы. Уровень креатинина не изменился: в контрольной и опытной группе его значения не отличались от интактных.

Таблица 19 - Влияние ГАМК на основные параметры метаболизма и показатели функционального состояния печени контрольной и опытной группы на 1 стадии ПД, Me (25;75) %

Параметр	Интактная группа n=8	Контрольная группа 1 стадия (1-3 сутки) n=7	Опытная группа 1 стадия (1-3 сутки) n=6
Глюкоза, мкмоль/л	9,52 (8,59; 10,5)	7,29 (6,09;7,89)*	5,74 (5,09;6,12)*
Альфа-Амилаза, Ед/л	1788 (1669;1870)	1223 (636,9;1410)*	1037 (920,6;1165)*
Общий белок, г/л	67,2 (65,6;68,9)	61,0 (60,1;62,7)*	61,0 (58,4;61,4)*
Альбумины, г/л	28,9 (28,1;30,1)	27,0 (25,7;27,7)	24,4 (23,0;25,5)*#
Глобулины, г/л	37,7 (37,0;39,4)	35,3 (33,7;36,0)*	35,4 (34,1;36,0)
Мочевина, мкмоль/л	4,92 (4,54;5,41)	3,93 (3,85;4,26)*	4,74 (4,16;5,13)
Креатинин, мкмоль/л	40,6 (37,2;42,2)	38,3 (36,4;41,4)	41,5 (40,5;42,1)
Триглицериды, мкмоль/л	0,89 (0,71;1,13)	0,37 (0,32;0,42)*	0,54 (0,47;0,60)*#
Холестерин, мкмоль/л	1,93 (1,68;2,30)	1,26 (1,10;1,37)*	1,20 (1,05;1,38)*
АСТ, Ед/л	128,4 (105,6;144,4)	118,7 (107,0;133,3)	191,6 (146,2;218,1)*
АЛТ, Ед/л	41,2 (36,2;49,4)	23,7 (21,5;25,3)*	20,7 (17,8;25,4)*
ЩФ, Ед/л	73,9 (58,0;75,5)	99,2 (83,9;139,3)*	126,3 (119,4;179,1)*
Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с интактной группой;			
# – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой			

Уровень триглицеридов (табл. 19) опытной группы статистически значимо был выше в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ) показателей контрольной группы, при этом его значения статистически значимо были ниже в 1,7 раз ( $p < 0,05$ ) интактных значений. Уровень холестерина в опытной группе не отличался от уровня контрольных значений, однако по сравнению с интактной группой был статистически значимо ниже в 1,6 раз ( $p < 0,05$ ). Показатели функционального состояния печени опытной и контрольной группы

статистически значимо не отличались друг от друга. При этом при сравнении с интактной группой в опытной наблюдалось существенное снижение активности АЛТ (в 2 раза ( $p < 0,05$ )), а АСТ и ЩФ, напротив, возрастал в 1,5 и 1,7 раз соответственно ( $p < 0,05$ ).

На 2 стадии ПД (табл. 20) в опытной группе основной показатель углеводного обмена – глюкоза статистически значимо не отличался от значений контрольной группы, однако по сравнению с интактной группой данный показатель статистически значимо снижался в 1,7 раз ( $p < 0,05$ ). Активность альфа-амилазы в опытной группе также не отличалось от контрольной группы. При этом наблюдалось значительное статистически значимое снижение ее активности на 59,4 % ( $p < 0,05$ ) относительно интактных значений. Показатели белкового обмена (табл. 20) опытной и контрольной групп статистически значимо не отличались друг от друга. Исключением являлся уровень мочевины, который на 15,1% был выше в опытной группе ( $p < 0,05$ ). При этом уровень мочевины как в контрольной, так и опытной группе не отличался от интактных значений. При сравнении опытной и интактной группы выявлялось статистически значимое снижение содержания общего белка на 14,6% ( $p < 0,05$ ) и глобулинов на 15% ( $p < 0,05$ ), повышение уровня креатинина на 9,1% ( $p < 0,05$ ). Уровни триглицеридов и холестерина в опытной группе статистически значимо не отличались от показателей контрольной группы, при этом статистически значимо были ниже интактных в 2,7 и 1,5 раза соответственно. Уровень АСТ не отличался в контрольной и опытной группе, при этом значения в обеих группах были статистически значимо выше, чем в интактной. Уровень АЛТ в опытной группе не отличался от интактных значений, в то время как в контрольной группе он был существенно ниже интактных ( $p < 0,05$ ). Уровень ЩФ в опытной группе был статистически значимо выше, чем в контрольной и интактной группе.

Таблица 20 – Влияние ГАМК на основные параметры метаболизма и показатели функционального состояния печени на 2 стадии ПД, Me (25;75) %

Параметр	Интактная группа n=8	Контрольная группа 2 стадия (4-6 сутки) n=7	Опытная группа 2 стадия (4-6 сутки) n=6
Глюкоза, мкмоль/л	9,52 (8,59; 10,5)	6,78 (5,07;7,18)*	5,45 (5,05;5,87)*
Альфа-Амилаза, Ед/л	1788 (1669;1870)	1224 (1120;1236)*	725,6 (692,1;878,3)*
Общий белок, г/л	67,2 (65,6;68,9)	61,7 (60,1;63,1)*	57,4 (56,6;60,3)*
Альбумины, г/л	28,9 (28,1;30,1)	27,6 (24,9;28,7)	27,8 (25,2;29,0)
Глобулины, г/л	37,7 (37,0;39,4)	34,1 (32,3;36,3)	32,0 (30,3;34,2)*
Мочевина, мкмоль/л	4,92 (4,54;5,41)	6,02 (4,55;6,65)	6,93 (5,78;7,25)≠
Креатинин, мкмоль/л	40,6 (37,2;42,2)	45,8 (45,4;49,1)*	44,3 (43,7;49,5)*
Триглицериды, мкмоль/л	0,89 (0,71;1,13)	0,43 (0,37;0,55)*	0,33 (0,28;0,40)*
Холестерин, мкмоль/л	1,93 (1,68;2,30)	0,98 (0,92;1,33)*	1,28 (1,21;1,50)*
АСТ, Ед/л	128,4 (105,6;144,4)	167,8 (149,8;202,5)*	195,8 (159,6;308,4)*
АЛТ, Ед/л	41,2 (36,2;49,4)	26,8 (17,9;34,3)*	40,0 (32,5;52,5)
ЩФ, Ед/л	73,9 (58,0;75,5)	63,2 (53,6;70,5)	98,1 (93,4;102,5)*≠

Примечание: \* –  $p < 0,05$  по сравнению с интактной группой;  
# –  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой

На 3 стадии ПД (табл. 21) в опытной группе основной показатель углеводного обмена – глюкоза статистически значимо не отличался от значений контрольной группы. Однако этот показатель статистически значимо был ниже в 1,3 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с интактной группой. В опытной группе активность альфа-амилазы не отличалось от контрольной группы. Однако при этом наблюдалось значительное статистически значимое снижение ее активности на 58,8 % ( $p < 0,05$ ) относительно интактных значений. Показатели белкового обмена опытной группы статистически значимо не отличались от контрольной. При сравнении опытной группы с интактной наблюдалось статистически значимое снижение содержания общего белка на 13 % ( $p < 0,05$ ), альбуминов на 12,5 % и глобулинов на 15 % ( $p < 0,05$ ), а уровень мочевины,

напротив, статистически значимо увеличивался в 1,4 раза ( $p < 0,05$ ). Уровень креатинина оставался в пределах значений интактных животных.

Таблица 21 - Влияние ГАМК на основные параметры метаболизма и показатели функционального состояния печени на 3 стадии ПД, Ме (25;75) %

Параметр	Интактная группа n=8	Контрольная группа 3 стадия (7-9 сутки) n=7	Опытная группа 3 стадия (7-9 сутки) n=6
Глюкоза, мкмоль/л	9,52 (8,59; 10,5)	9,81 (6,58;10,30)	7,30 (6,36;7,98)*
Альфа-Амилаза, Ед/л	1788 (1669;1870)	867,8 (610,2;1056)*	737,3 (637,0;908,1)*
Общий белок, г/л	67,2 (65,6;68,9)	59,6 (52,6;70,0)*	58,5 (55,9;60,7)*
Альбумины, г/л	28,9 (28,1;30,1)	24,5 (23,6;26,3)*	25,3 (22,7;25,8)*
Глобулины, г/л	37,7 (37,0;39,4)	34,5 (31,9;36,5)	33,3 (31,9;34,9)*
Мочевина, мкмоль/л	4,92 (4,54;5,41)	8,25 (7,68;11,7)*	7,00 (5,89;8,70)*
Креатинин, мкмоль/л	40,6 (37,2;42,2)	42,0 (39,3;44,1)	45,2 (42,7;48,2)
Триглицериды, мкмоль/л	0,89 (0,71;1,13)	0,24 (0,22;0,24)*	0,28 (0,22;0,33)*
Холестерин, мкмоль/л	1,93 (1,68;2,30)	1,05 (0,91;1,53)*	1,35 (1,22;1,51)*
АСТ, Ед/л	128,4 (105,6;144,4)	167,8 (130,0;179,5)	169,3 (129,4;215,7)
АЛТ, Ед/л	41,2 (36,2;49,4)	34,6 (33,2;42,4)	33,1 (20,8;43,8)
ЩФ, Ед/л	73,9 (58,0;75,5)	70,3 (69,4;113,2)	76,7 (59,4;127,6)
Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с интактной группой;			
# – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой			

Уровень триглицеридов и холестерина (табл. 21) опытной группы статистически значимо не отличался от показателей контрольной группы, при этом эти показатели в опытной группе были статистически значимо ниже интактных в 3,2 и 1,4 раза соответственно. Показатели функционального состояния печени АСТ, АЛТ и ЩФ в

опытной группе статистически значимо не отличались как от контрольной, так и от интактной группы.

Таким образом, введение ГАМК на разных стадиях ПД опытной группе существенно не влияет на перестройку белкового, жирового и углеводного обмена и адаптацию организма при переходе на эндогенное питание.

#### **5.4 Влияние ГАМК на состояние органов маркеров стресса на разных стадиях длительной пищевой депривации**

Ежедневно на протяжении эксперимента оценивался внешний вид крыс опытной группы.

На 1 стадии ПД животные опытной группы сохраняли активность, и их внешнее состояние не отличалось от крыс контрольной группы, наблюдалась нормальная дефекация в течение всей стадии.

На 2 стадии ПД у животных опытной группы уровень активности и внешнее состояние, также как на 1 стадии ПД, не отличалось от крыс контрольной группы. Наблюдалась нормальная дефекация в течение всей стадии.

На 3 стадии ПД у животных опытной группы двигательная активность немного снижалась, наблюдалась слегка взъерошенная шерсть, однако ее блеск сохранялся. Ребра легко прощупывались. У большинства крыс наблюдался твёрдый кал комочками.

На протяжении всей ПД у крыс опытной группы наблюдалось прогрессирующее снижение массы тела. В течение 1 стадии животные теряли 10 (9;11) % массы тела, 2 стадии 16 (15;16) %, а к 3 стадии масса тела животных снизилась на 27 (27; 29) % от исходной ( $p < 0,05$ ). При сравнении потери массы тела опытной группы и контрольной групп не было выявлено статистически значимых различий.

У крыс опытной группы оценено влияние ГАМК на состояние органов маркеров стресса (относительные массы надпочечников и тимуса, а также слизистая оболочка желудка) на разных стадиях длительной ПД.

На 1 и 2 стадии ПД не наблюдалось отличий относительных масс надпочечников и тимуса опытной группы от контрольной. При этом в обеих группах относительная масса надпочечников была статистически значимо увеличена в 1,7-1,8 раза ( $p < 0,05$ ) относительно интактных значений, а относительная масса тимуса соответствовала интактным значениям (табл. 22).

На 3 стадии ПД также не наблюдалось статистически значимых отличий относительных масс надпочечников и тимуса опытной группы от контрольной. При этом в опытной группе относительная масса надпочечников была статистически значимо увеличена в 2,3 раза ( $p < 0,05$ ) относительно интактных значений, в то время как у контрольной группы - в 2,7 раз ( $p < 0,05$ ). Относительная масса тимуса в опытной группе статистически значимо не отличалась от интактной группы, а в контрольной группе была статистически значимо ниже интактных значений - в 1,8 раз ( $p < 0,05$ ) (табл. 22).

Таблица 22 – Влияние ГАМК на изменения относительных масс органов крыс на разных стадиях длительной ПД, мг/100 г

Интактная группа n=8	Надпочечники		Тимус (70;94)
	12 (8;15)	84	
Контрольная группа			
1 стадия n=7	22 (18;30)*	90 (55;103)	
2 стадия n=7	21 (19;23)*	85 (65;88)	
3 стадия n=7	32 (24;35)*	47 (8;64)*	
Опытная группа			
1 стадия n=6	21 (18;27)*	79 (69;84)	
2 стадия n=6	20 (18;22)*	70 (65;78)	
3 стадия n=6	27 (22;31)*	68 (46;87)	
Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с интактной группой; # – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой			

Таким образом, введение ГАМК на 3 стадии ПД проявило протекторный эффект на органы - маркеры стресса, который выражался в меньшей реакции со стороны надпочечников и отсутствии реакции со стороны тимуса.

У крыс опытной группы была проведена макроскопическая оценка слизистой оболочки желудков крыс. Так, на 1 стадии ПД слизистая оболочка желудка оставалась без изменений и внешне не отличалась от слизистой крыс интактной группы (рис. 27). При этом у крыс контрольной группы слизистая оболочка желудка также была сохранна, однако в его содержимом наблюдалось пенистое содержимое с примесью желчи.



Рисунок 27 - Макроскопическая картина слизистой оболочки желудка крыс опытной группы на 1 стадии ПД

На 2 стадии ПД у крыс опытной группы в содержимом желудка наблюдалось обильное прозрачное жидкое содержимое, складчатость желудка сохранялась, слизистая была визуально без изменений (рис. 28). При этом у крыс контрольной группы складчатость желудка была сглажена и наблюдались единичные точечные эрозии.

На 3 стадии ПД с введением ГАМК складчатость желудка была чуть сглажена, слизистая была покрыта мелкими пылевидными эрозиями (рис. 29). При этом у крыс

контрольной группы наблюдались крупные кровоточащие эрозии в безжелезистой части.



Рисунок 28 - Макроскопическая картина слизистой оболочки желудка крыс опытной группы на 2 стадии ПД



Рисунок 29 - Макроскопическая картина слизистой оболочки желудка крыс опытной группы на 3 стадии ПД

Таким образом, введение ГАМК предотвращало появление эрозий на 2 стадии ПД и значительно уменьшало их выраженность на 3 стадии ПД.

После оценки макроскопической картины слизистой оболочки желудка перед нами встал вопрос: повлияло ли введение ГАМК на разных стадиях ПД на кислотность желудка?

Анализ данных измерения pH желудка крыс опытной группы показал, что на 1 стадии ПД значение pH желудка опытной группы статистически значимо было выше значений контрольной группы в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ), при этом не отличалось от интактной группы (табл. 23).

Таблица 23 – Влияние ГАМК на кислотность желудка на разных стадиях ПД, Ме (25;75) %

Интактная группа n=8	pH желудка
	2,0 (2,0; 2,5)
Контрольная группа	
1 стадия n=7	2,0 (2,0;2,3)
2 стадия n=7	3,0 (3,0;3,1)
3 стадия n=7	3,0 (3,0;3,8)
Опытная группа	
1 стадия n=6	3,0 (2,9;3,3,3)≠
2 стадия n=6	4,0 (3,5;4,3)*≠
3 стадия n=6	3,0 (3,0;4,1)
Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с интактной группой; # – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой	

На 2 стадии ПД значение pH желудка опытной группы статистически значимо было выше значений контрольной группы в 1,3 раза ( $p < 0,05$ ), при этом кислотность

желудка статистически значимо снижалась в 2 раза (рН повышалось) по сравнению с интактными значениями (табл. 23).

На 3 стадии ПД значение рН желудка опытной группы статистически значимо не отличалось ни от контрольной, ни от интактной группы (табл. 23).

Полученные данные свидетельствуют о том, что введение ГАМК на разных стадиях ПД оказывает различное влияние на кислотность желудка. Особенно эффективным является введение ГАМК на 2 стадии ПД, снижая кислотность желудка, что может способствовать гастропротективному эффекту.

У крыс опытной группы также проводилась оценка влияния введения ГАМК на разных стадиях ПД на гистологическую картину слизистой оболочки желудка.

На 1 и 2 стадии ПД с введением ГАМК при гистологическом анализе слизистая оболочка желудка была без изменений и соответствовала слизистой интактных животных (рис. 30-31).

Изменения в гистологических образцах выявлялись только на 3 стадии ПД. В слизистой оболочке желудка этих животных наблюдались незначительные признаки очагового полнокровия сосудов (рис. 32).

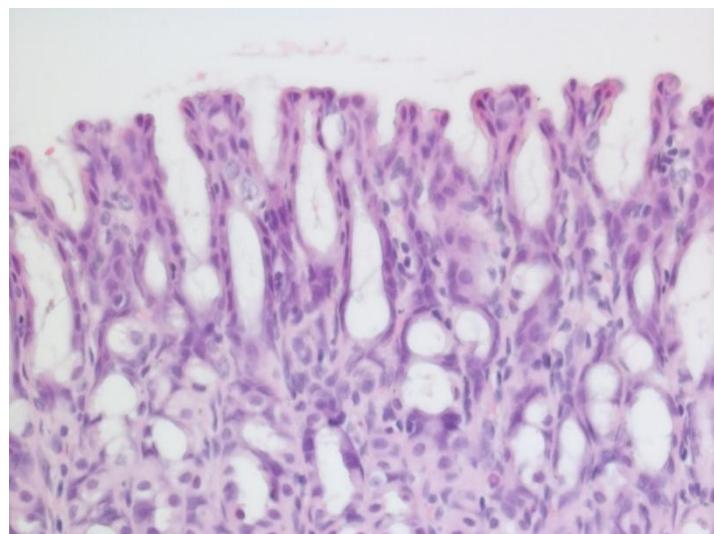


Рисунок 30 - Гистологическая картина слизистой оболочки желудка у крыс опытной группы на 1 стадии ПД

Примечание: Окраска гематоксилином эозином, увеличение х 400

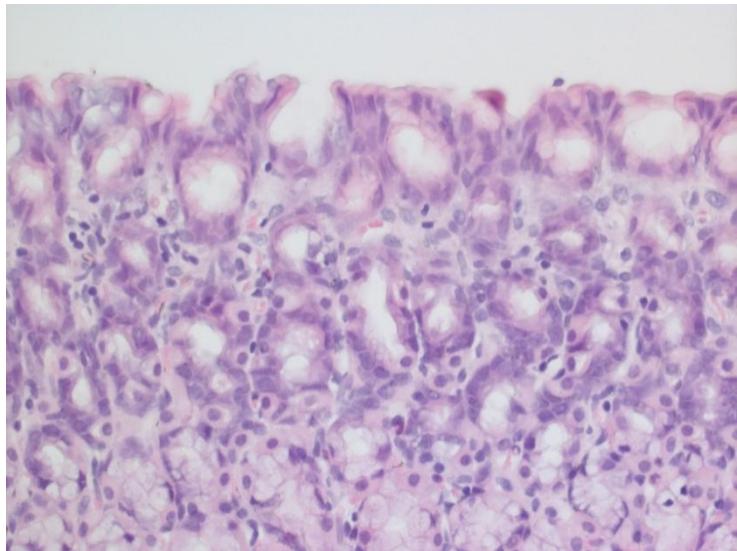


Рисунок 31 - Гистологическая картина слизистой оболочки желудка крыс опытной группы на 2 стадии ПД

Примечание: Окраска гематоксилином эозином, увеличение x 400

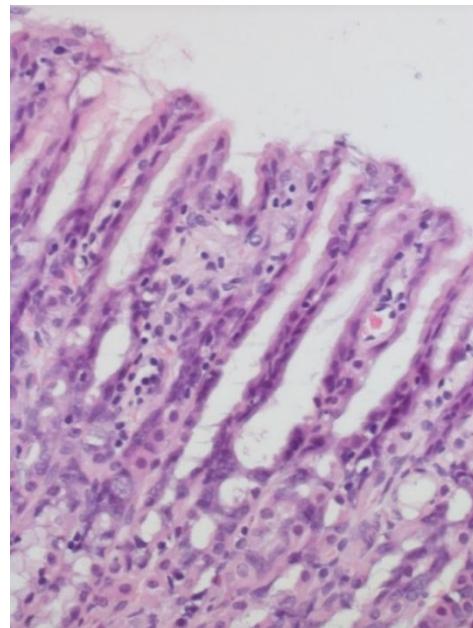


Рисунок 32 - Гистологическая картина слизистой оболочки желудка крыс опытной группы на 3 стадии ПД

Примечание: Окраска гематоксилином эозином, увеличение x 400

Введение ГАМК на разных стадиях ПД оказывало гастропротекторный эффект, который, по всей видимости, заключался в нормализации кровоснабжения слизистой.

Таким образом, введение ГАМК на разных стадиях ПД оказывало стресс-протективный эффект, что проявлялось в меньшей реакции со стороны надпочечников и отсутствии реакции со стороны тимуса и слизистой оболочки желудка.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Периодическая деятельность пищеварительной системы – это один из биоритмов организма человека и животных, в котором закономерно изменяются ее моторная и секреторная функции [Коротко, 2013]. Несмотря на длительную историю изучения периодической деятельности ряд вопросов до настоящего времени оставался открытым. В данной работе предпринята попытка ответа на такие вопросы, как долго сохраняется периодическая моторная активность тонкой кишки при длительной ПД, и какие особенности перестройки ритма происходят при адаптации к эндогенному питанию.

В настоящем исследовании нами установлено, что при длительной ПД наблюдается адаптационная перестройка ритма периодической электрической активности тонкой кишки. Так, на 1 стадии ПД (ранние сроки (1 – 3 сутки)) периодичность циклов сохраняется, однако циклы становятся более редкими, что сопровождается уменьшением продолжительности пропульсивной перистальтики. На 2 стадии ПД (4 – 6 сутки) исчезает ММК тонкой кишки, так как исчезает фаза покоя. На 3 стадии ПД (поздние сроки (7-е по 9-е сутки)) блокируется пропульсивная перистальтика тонкой кишки.

Известно, что цикл ММК имеет три фазы, каждая из которых имеет свое функциональное значение. Фаза I – секреторного и двигательного покоя – сокращения отсутствуют. Фаза II – нерегулярной активности (некоординированные сокращения, непропульсивная перистальтика в виде сегментирующих и маятникообразных сокращений). В эту фазу происходит секреция эндогенных веществ в кишечник (желчных кислот, бикарбоната, панкреатических ферментов) и перемешивание химуса с пищеварительными соками. В III фазу (регулярной активности) регистрируются мощные пропульсивные распространяющиеся сокращения, во время которых происходит активная эвакуация кишечного содержимого. При поступлении

пищи периодическая моторика исчезает – ММК ингибуется появлением нутриентов в верхней части тонкой кишки. Пищевая моторика представляет собой непропульсивную перистальтику, которая способствует эффективному перемешиванию пищевого комка с пищеварительными соками [Коротко, 2013; Wood, 2020; Тропская, 2023].

В связи с тем, что одним из назначений периодической межпищеварительной моторной активности тонкой кишки является эвакуация содержимого, то урежение ММК с 5 до 3 циклов час на протяжении первых 3-х суток ПД (I стадия) оказывается энергетически эффективным (экономичным) и достаточным для удаления остатков пищи, а также освобождения просвета кишки от слущенных клеток и слизи.

Начиная со 2 стадии ПД ситуация кардинально меняется. По данным литературы в эти сроки начинается обильная непрерывная секреция пищеварительных соков в просвет кишечника, что, по мнению И.П. Разенкова, является сигналом перехода на эндогенное питание [Охнянская, 2004]. В составе секретируемых продуктов особую ценность представляют белки, суточное количество которых достигает половину необходимого для питания пищевого белка. В качестве энергетического источника используются преимущественно продукты белковой природы, глутамин и глутамат [Охнянская, 2004]. Переход на эндогенное питание и непрерывную секрецию на 2 и 3 стадии ПД приводит к аномально длительной нерегулярной активности гладких мышц тонкой кишки (длительному перемешиванию) и исчезновению ММК. При этом на 2 стадии ПД незначительная пропульсивная перистальтика сохраняется, что способствует опорожнению кишечника, а на 3 стадии ПД исчезновение регулярной активности (пропульсивной перистальтики) направлено на максимальное сохранение питательных веществ.

Известно, что при голодании наблюдается снижение секреции слизи энтероцитами, следствием этого является изменение видового состава микробиоты, поскольку некоторым видам для жизнедеятельности необходима слизь, снижение ее

секреции приводит к гибели большинства нормобионтов и адгезии условно-патогенной флоры [Kohl et al., 2014; Angoorani et al., 2021].

Нами установлено, что на разных стадиях ПД происходят изменения в кишечной микробиоте, которые проявляются в изменении ее качественного и количественного состава, наблюдается перераспределение условно-патогенной флоры, снижение численности лакто- и бифидобактерий на 2 порядка в слепой кишке.

Длительное голодание можно рассматривать как одну из разновидностей метаболического стресса, что подтверждается характерными для состояния функционального напряжения организма метаболическими перестройками, происходящими в ответ на лишение его пищи [Кузьменко и др., 2014].

Нами установлено, что на разных стадиях ПД происходили метаболические изменения, такие как снижение уровня глюкозы на 1 и 2 стадии, однако на 3 стадии ее уровень возвращался к нормальным значениям, что на фоне длительной ПД может быть связано с инициированием глюконеогенеза [Епринцев и др., 2008], а также с повышением интенсивности фосфоролиза в ответ на повышение выработки адренокортикопротоного гормона, что может говорить о том, что длительная ПД может рассматриваться как одна из разновидностей стресса [Дерхо, 2016]. Также необходимо отметить, что аминотрансферазы гепатоцитов принимают активное участие в глюконеогенезе, при этом при длительном голодании их активность адаптируется под нужды глюконеогенеза. Возвращение ЩФ к норме на 3 стадии ПД свидетельствует об адаптации экскреторной функции печени в условиях отсутствия пищи [Кузьменко и др., 2014]. Таким образом, восстановление активности функционального состояния печени на 3 стадии ПД формирует адаптационный метаболический ответ с перестройкой ферментативных систем на путь интенсивного глюконеогенеза. Кроме того, стремительное снижение показателей липидного обмена свидетельствует о переключении энергетического метabolизма с углеводного на жировой. Это, вероятно, связано с окислением жирных кислот и индукцией глиоксилатного цикла [Нихаев, 2019]. Данная адаптационная перестройка необходима для поддержания

энергии и уровня углеводов, а также сохранения структурных белков организма. Таким образом, при голодании наблюдается перераспределение энергетических субстратов в организме: глюкоза поступает в глюкозозависимые ткани, в частности в ЦНС, а остальные органы и ткани организма обеспечиваются энергией благодаря мобилизации жиров.

Наши данные показали, что длительная 9-ти суточная ПД у крыс сопровождалась потерей 24% массы тела. Наблюдался последовательный и усиливающийся ответ со стороны органов-маркеров стресса, что сопровождалось инволюцией тимуса и гипертрофией надпочечников. Эти результаты согласуются с данными авторов, изучающих состояние этих органов при воздействии стрессоров различного генеза [Городецкая, 2010; Перцов и др., 2015, Алексеева и др, 2019]. Также нами наблюдалось развитие эрозивного повреждения слизистой оболочки желудка. При этом установлено, что не происходило изменение кислотности желудка. Одним из основных факторов возникновения эрозий является нарушение кровоснабжения слизистой оболочки желудка с развитием ишемии, что микроскопически проявлялось стазами и сладжами эритроцитов, паретическим расширением венул с кровоизлияниями.

Таким образом, нами установлено, что при длительной ПД развивается метаболический стресс, при котором нарушается функциональное состояние кишечника.

Хорошо известно, что ГАМК является основным тормозным нейротрансмиттером в ЦНС, при этом ГАМК участвует в широком спектре физиологических функций в тканях и органах вне мозга [Есин и др., 2020, Tedeschi et al., 2003]. Есть данные, о том, что ГАМК-эргические нейроны присутствуют в ЭНС и играют важную физиологическую роль в работе ЖКТ [Malomouzh et al., 2019]. ГАМК рецепторы расположены на чувствительных окончаниях внутренних первичных афферентных нейронов, на возбуждающих и тормозных нейронах миэнтального

сплетения и, таким образом принимают участие в модуляции перистальтического рефлекса [Krantis, 2000; Auteri et al., 2015].

При изучении роли холинергических и нитрергических механизмов в эффектах ГАМК на периодическую электрическую активность тонкой кишки у здоровых животных нами установлено, что введение ГАМК на фоне блокады М-ХР посредством введения атропина вызывало кратковременную стимуляцию пропульсивной активности тонкой кишки. Введение ГАМК на фоне NO-зависимого подавления электрической активности тонкой кишки приводило к увеличению продолжительности тормозного влияния нитроглицерина на пропульсивную моторику тонкой кишки. Полученные данные согласуются с данными литературы о двунаправленном влиянии ГАМК на моторику кишечника – как тормозным, так и стимулирующим [Krantis, 2000]. Действительно, М. Г. Зиззо с коллегами оценили действие ГАМК на сократительную активность гладкомышечных препаратов двенадцатиперстной и толстой кишок и установили, что в механизмах влияния ГАМК участвуют холинергические и нитрергические пути [Zizzo et al., 2007; Zizzo, et al. 2020]. Кроме того, участие этих механизмов подтверждено в исследованиях *in vivo* в тощей кишке в острых экспериментах в условиях наркоза [Белобородая и др., 2011]. Исходя из доказанного нами двунаправленного влияния ГАМК на периодическую электрическую активность тонкой кишки в хронических экспериментах мы предположили, что введение ГАМК на различных стадиях ПД может являться перспективным средством для нормализации координированной перистальтики.

Нами установлено, что введение ГАМК на разных стадиях 9-ти суточной ПД изменяло характер электрической активности тонкой кишки. Именно благодаря двунаправленному механизму (тормозному и стимулирующему) ГАМК на разных стадиях ПД модулирует электрическую активность тонкой кишки таким образом, что сохраняет ММК на протяжении всех стадий ПД, хотя циклы становятся более редкими по сравнению с фоном. Наличие ММК в этих условиях позволяет сохранить координированную перистальтику тонкой кишки.

Известно, что между перистальтикой кишечника и микробиотой существуют двунаправленные взаимосвязи: нарушения моторики кишечника вызывают изменения микробиоты, которые, в свою очередь, могут оказывать выраженное действие на сенсорно-моторную функцию кишки. В полости кишечника обнаруживается ГАМК, поступившая в составе пищи, а также образованная ГАМК-синтезирующими бактериями. Из полости кишки ГАМК действует на соответствующие рецепторы и таким образом, влияет на моторную функцию кишечника. Некоторые виды лакто- и бифидобактерий синтезируют ГАМК. Известно, что связь между бактериями-потребителями ГАМК (*Euterpia gabavorous (KLE1738)*, *Flavonifractor sp.*) и ГАМК-синтезирующими бактериями носит симбиотический характер: потребители растут только в присутствии продуцентов, которые синтезируют ГАМК как фактор роста для первых. При стрессе, вызванным длительной ПД блокируется один из путей поступления ГАМК в организм. Кроме того, стресс нарушает баланс кишечной микробиоты, что сопровождается снижением микробного синтеза ГАМК. В нашем исследовании введение экзогенной ГАМК на разных стадиях ПД оказывало нормализующее влияние на численность лакто- и бифидобактерий в слепой кишке. Наши данные согласуются с данными литературы о корrigирующем эффектах ГАМК на микробиоту кишечника в условиях гипокинетического стресса [Шекоян и др., 2022].

В нашем исследовании введение ГАМК на разных стадиях ПД существенно не влияло на направленность адаптационной перестройки белкового, жирового и углеводного обмена.

По нашим данным введение ГАМК на разных стадиях ПД оказывало стресс-протективное действие, выражющееся в тенденции к снижению реакции со стороны надпочечников, отсутствии реакции со стороны тимуса и слизистой оболочки желудка. У животных с 9-ти суточной ПД без введения ГАМК наблюдалось возникновение эрозий вследствие нарушения кровоснабжения слизистой оболочки желудка. Как показано нами ранее [Тропская, 2024], в условиях вазоконстрикции,

вызванной введением неселективного ингибитора NO-синтазы (L-NAME), введение ГАМК приводило к нормализации скорости кровотока в желудочной артерии. Возможно, гастропротекторное действие ГАМК реализуется через NO. Действительно, хорошо изучена способность NO при стрессе препятствовать образованию эрозивных повреждений слизистой оболочки желудка [Манухина, 2000; Золотарев и др., 2019]. NO является мощным вазодилататором и одновременно ограничивает выброс катехоламинов из нервных окончаний, препятствует нарушению микроциркуляции в слизистой желудка и тем самым уменьшает ее стресс-зависимое повреждение [Филаретова, 2019]. В связи с тем фактом, что ГАМК и NO-синтаза локализуются в желудке и кишечнике в одних и тех же нейронах [Auteri et al., 2015; Xie et al., 2017], введение ГАМК может модулировать высвобождение NO через активацию ГАМКА-рецепторов.

## **ВЫВОДЫ**

1. Введение ГАМК здоровым животным приводит к стимуляции нерегулярной и подавлению регулярной электрической активности тонкой кишки. Модулирующее влияние ГАМК на межпищеварительную периодическую электрическую активность тонкой кишки связано с воздействием на холинергические и нитрергические пути.

2. При стрессе, вызванным длительной пищевой депривацией, выявлены стадии адаптационной перестройки ритма периодической электрической активности тонкой кишки. На 1 стадии (1 – 3 сутки) периодичность циклов сохраняется, однако циклы становятся более редкими (до трех в час), что сопровождается уменьшением продолжительности регулярной активности. На 2 стадии (4 – 6 сутки) исчезает мигрирующий миоэлектрический комплекс тонкой кишки, регистрируется нерегулярная и регулярная активность. На 3 стадии (7 – 9 сутки) пищевой депривации преимущественно наблюдается нерегулярная активность с периодами покоя; исчезает электрическая регулярная активность тонкой кишки.

3. На разных стадиях пищевой депривации выявлено снижение биохимических показателей крови, отражающих состояние белкового, углеводного и жирового обмена. Установлен последовательный и усиливающийся (от 1 к 3 стадии) ответ со стороны органов-маркеров стресса, что проявляется гипертрофией надпочечников, инволюцией тимуса и развитием эрозивного повреждения слизистой оболочки желудка, связанного с нарушением кровоснабжения. Выявлено изменение качественного и количественного состава микробиоты слепой кишки, в том числе снижение численности лакто- и бифидобактерий на 2 порядка.

4. При введении ГАМК на разных стадиях пищевой депривации показатели белкового, углеводного и жирового обмена остаются сниженными. Введение ГАМК приводит к сохранению ритма периодической электрической активности тонкой

кишки с уменьшением циклов мигрирующего миоэлектрического комплекса до трех в час. Обнаружено стресс-протективное действие ГАМК, выражющееся в тенденции к снижению реакции со стороны надпочечников, отсутствии реакции со стороны тимуса и слизистой оболочки желудка. Выявлено нормализующее действие ГАМК на численность лакто- и бифидобактерий в слепой кишке.

**ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

- 1) Применение ГАМК как прокинетического и модулирующего средства целесообразно использовать для коррекции гипо- и гипермоторных нарушений тонкой кишки.
- 2) Введение ГАМК возможно применять для нормализации микробиоты кишечника при различных дисбиотических состояниях.
- 3) Введение ГАМК следует использовать в качестве гастропротекторного средства для защиты слизистой оболочки желудка от развития стрессорных эрозивных повреждений.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

ГАМК – гамма-аминомасляная кислота

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ММК – мигрирующий миоэлектрический комплекс

М-ХР – М-холинорецепторы

ПД – пищевая депривация

ЭМГ – электромиограмма

NANC-нейроны – неадренергические и нехолинергические нейроны

NO – оксид азота

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Авдеева, Л. В. Гормональная регуляция обмена веществ и функций организма / Л. В. Авдеева, С. А. Воробьева // Биохимия. - Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2005. – С. 545-616.
2. Аверина, О. В. Микробиота кишечника человека: роль в становлении и функционировании нервной системы / О. В. Аверина, В. Н. Даниленко // Микробиология. – 2017. – Т. 86, № 1. – С. 5-24.
3. Безбородкина, Н. Н. Углеводный метаболизм при хронических поражениях печени: монография / Н. Н. Безбородкина, С. В. Оковитый, Б. Н. Кудрявцев. – Санкт-Петербург: Синтез Бук, 2008. – 176 с.
4. Белобородая, М. В. Реализация влияний блуждающего нерва на моторику кишечника в условиях действия ингибиторных аминокислот / М. В. Белобородая, С. А. Руткевич, А. Г. Чумак // Труды Белорусского государственного университета. Серия: Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем. – 2011. – Т. 6, № 1. – С. 33-38.
5. Белобородова, Н. В. Метаболизм микробиоты при критических состояниях (обзор и постулаты) / Н. В. Белобородова // Общая реаниматология. – 2019. – Т. 15, № 6. – С. 62-79.
6. Биохимия голодаания и ожирения: новые аспекты и перспективы / Д. И. Кузьменко, С. Н. Удинцев, В. Ю. Серебров, Т. К. Климентьева. – Томск: СибГМУ, 2014. – 270 с.
7. Буров, П. Г. Пероксидация липидов в печени крыс на разных фазах голодаания / П. Г. Буров, Д. И. Кузьменко, В. Ю. Серебров // Вестник Новосибирского государственного университета. Серия: Биология, клиническая медицина. – 2011. – Т. 9, № 3. – С. 34-38.

8. Влияние ванкомицина на мигрирующий миоэлектрический комплекс и видовой состав микрофлоры кишечника / Н. С. Тропская, И. Г. Шашкова, Т. В. Черненькая, Т. С. Попова //Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2016. – Т. 60, №. 2. – С. 44-50.
9. Влияние метаболического стресса на лизосомальный протеолиз в печени и мозге крыс при включении в рацион коэнзима Q10 / Н. В. Кирбаева, Н. Э. Шаранова, В. М. Жминченко, А. В. Васильев // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2018. – Т. 165, № 3. – С. 276-280.
10. Влияние пищевой депривации на углеводный метаболизм в органах и тканях крыс / Т. А. Косматых, М. Ю. Шевченко, В. Н. Попов, А. Т. Епринцев // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2001. – № 2. – С. 118-120.
11. Городецкая, И. В. Влияние тиреоидного статуса на интенсивность стресс-реакции при хроническом стрессовом воздействии / И. В. Городецкая, Н. А. Кореневская // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2010. – Т. 9, № 4. – С. 24-33.
12. Дерхо, М. А. Влияние металлотоксикоза и вибрационного стресса на состояние углеводного обмена в организме мышей / М. А. Дерхо, Т. И. Середа // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2016. – № 1(57). – С. 72-75.
13. Детекция нейромедиаторных аминов у микроорганизмов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии / Е. А. Цавкелова, И. В. Ботвиненко, В. С. Кудрин, А. В. Олескин // Доклады Академии наук. – 2000. – Т. 372, № 6. – С. 115-117.
14. Епринцев, А. Т. Глиоксилатный цикл: универсальный механизм адаптации? / А. Т. Епринцев, В. Н. Попов, М. Ю. Шевченко. – Москва: Академкнига, 2007. – 228 с.

15. Епринцев, А. Т. Углеводный метаболизм в печени крыс при пищевой депривации и экспериментальном диабете / А. Т. Епринцев, М. Ю. Шевченко, В. Н. Попов // Известия Российской академии наук. Серия биологическая. – 2008. – № 1. – С. 115-118.
16. Есин, Р. Г. Стress-индуцированные расстройства / Р. Г. Есин, О. Р. Есин, А. Р. Хакимова // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. - 2020. - Т. 120, № 5. - С. 131-137.
17. Жеребцов, А. В. Методика регистрации и оценки спайковой электрической активности тонкой кишки в режиме реального времени / А. В. Жеребцов, Н. С. Тропская // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2019. - Т. 168, № 9. - С. 383-386.
18. Заквасочные культуры лактобацилл - продуценты нейромедиаторов: биогенных аминов и аминокислот / А. В. Олескин, О. Г. Жиленкова, Б. А. Шендеров [и др.] // Молочная промышленность. – 2014. – № 9. – С. 42-43.
19. Золотарев В. А. Слабая ирритация слизистой оболочки желудка потенцирует секрецию, вызванную раздражением вагуса / В. А. Золотарев, Ю. В. Андреева, Р. П. Хропычева // Российский физиологический журнал им. ИМ Сеченова. – 2019. – Т. 105, № 9. – С. 1142-1153.
20. Ибрагимова, К. И. Влияние пищевой депривации в период органогенеза пренатального развития на обмен ГАМК в структурах ЦНС у трехмесячных крыс в постнатальном онтогенезе / К. И. Ибрагимова // Международный научно-исследовательский журнал. – 2017. – № 12-4(66). – С. 21-26.
21. Коротко, Г. Ф. Полифункциональность периодической деятельности пищеварительной системы (Век после открытия) / Г. Ф. Коротко // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2013. – Т. 23, № 6. – С. 4-10.
22. Лебедев, Н. Н. Биоритмы пищеварительной системы / Н. Н. Лебедев. – Москва: Медицина, 1987. – 256с.

23. Манухина, Е. Б. Стресс-лимитирующая система оксида азота / Е. Б. Манухина, И. Ю. Малышев // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2000. – Т. 86, №. 10. – С. 1283-1292.
24. Махов, С. Ю. Автономное выживание человека в условиях многодневного полного голодания на фоне повышенной физической активности / С. Ю. Махов, В. С. Макеева // Совершенствование физической, огневой и тактико-специальной подготовки сотрудников правоохранительных органов. Физическая подготовка и спорт: сб. статей. – Орел, 2015. - С. 97-101.
25. Меерсон, Ф. З. Адаптация, стресс и профилактика / Ф. З. Меерсон. – 1981. Москва: Наука, 1981. – 279 с.
26. Между когнитивностью и нейропатиями: нейровизуализация эффектов ГАМК-ergicической модуляции гиппокампа и префронтального неокортика по нормированным электрограммам мозга / Н. Н. Каркищенко, В. Н. Каркищенко, Ю. В. Фокин [и др.] // Биомедицина. - 2020. - Т. 16, № 2. - С. 12–38.
27. Моррофункциональная характеристика тимуса и селезенки при пищевой депривации и информационной нагрузке у мышей линии BALB/c / М. В. Кондашевская, М. Е. Диатроптов, М. А. Диатроптова [и др.] // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2013. – № 1. – С. 39-44.
28. Нихаев, Л. Е. Липидный обмен как стабилизирующий фактор / Л. Е. Нихаев // Организация и регуляция физиолого-биохимических процессов: межрегион. сборник научных работ, Т. 21. – Воронеж: ВГУ, 2019. – С. 161-166.
29. Отбор бактерий-симбионтов рода *lactobacillus* *Bifidobacterium* по их способности синтезировать гамма-аминомасляную кислоту-один из подходов в получении психобиотиков / Р. А. Юнес, Е. У. Полуэктова, М. С. Дьячкова [и др.] // Вестник Российской университета дружбы народов. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности. – 2016. – № 4. – С. 51-59.
30. Охнянская, Л. Г. Иван Петрович Разенков, 1888-1954 / Л. Г. Охнянская, И. Н. Вишнякова. – Москва: Наука, 2004. – 356 с.

31. Оценка поступления гамма-аминомасляной кислоты с рационом питания человека / В. А. Саркисян, А. А. Кочеткова, В. В. Бессонов [и др.] // Вопросы питания. - 2024. - Т. 93, № 1. - С. 120–124.
32. Пальцын, А. А. Интервальное голодание / А. А. Пальцын, Н. Б. Свиридкина // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2021. – Т. 65, № 4. – С. 116-120.
33. Патент РФ 2317000 МПК<sup>51</sup>A61B5/0408 (2006.01) G09B 23/28 (2006.01) Устройство для исследования электрической активности желудочно-кишечного тракта в хронических экспериментах на крысах / Н. С. Тропская, Т. С. Попова, Г. И. Соловьева, С. А. Сергеев. - № 2007105207/14; заявл. 13.02.2007; опубл.20.02.2008. - Бюл. №5. – 10 с.
34. Перфилова, В. Н. Роль ГАМК-ergicической системы в ограничении стрессорного повреждения миокарда / В. Н. Перфилова, И. Н. Тюренков // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2005. – Т. 4, №1. - С. 21-26.
35. Перфилова, В. Н. Участие гамма-аминомаслянокислотно-ergicической системы в регуляции мозгового кровообращения / В. Н. Перфилова, Л. Е. Бородкина // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2014. – №. 1. – С. 203-211.
36. Роль ГАМК в коррекции отрицательных последствий влияния гипокинетического стресса на состояние микрофлоры кишечного биотопа крыс / В. А. Шекоян, З. У. Геворкян, К. Г. Абгарян [и др.] // Медицина, наука и образование. – 2022. – № 33. – С. 8-13.
37. Состояние органов-маркеров стресса у крыс после однократной длительной стрессорной нагрузки в условиях введения липополисахарида / И.В. Алексеева, А.Ю. Абрамова, А.Ю. Козлов [и др.] //Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2019. – Т. 167, №. 5. – С. 561-565.
38. Состояние органов-маркеров стресса у крыс с разной поведенческой активностью при многократных стрессорных воздействиях / С. С. Перцов, О. С.

Григорчук, Е. В. Коплик [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2015. – Т. 160, № 7. – С. 25-29.

39. Теоретическое обоснование применения кетогенной диеты в лечении фармакорезистентной эпилепсии у детей / С. А. Лихачев, С. Л. Куликова, И. И. Зайцев, С. А. Белая // Неврология и нейрохирургия. Восточная Европа. – 2017. – Т. 7, № 1. – С. 171-183.

40. Ткаченко, Е. И. Питание, микробиоценоз и интеллект человека / Е. И. Ткаченко, Ю. П. Успенский. – Санкт-Петербург: СпецЛит, 2006. - 590 с.

41. Тропская, Н. С. Некоторые аспекты регуляции моторной функции желудка и тонкой кишки / Н. С. Тропская, Т. С. Попова // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2008. – № 4. – С. 12-16.

42. Тропская, Н. С. Нормализующее влияние ГАМК на кровоток желудка в условиях вазоконстрикции / Н. С. Тропская, Ю. В. Гурман // Российский журнал Гастроэнтерологии Гепатологии, Колопроктологии. - 2024. – Т. 34, № 5. - Прил. № 64: Материалы 30-го Юбилейного Российского гастроэнтерологического конгресса, (Москва, 29 сентября – 1 октября 2024 г.). - С. 50. - #179.

43. Тропская, Н. С. Секреторно-моторная деятельность пищеварительной системы и механизмы регуляции / Н. С. Тропская // Парентеральное и энтеральное питание: нац. руководство / под ред. С. С. Петрикова, М. Ш. Хубутия, Т. С. Поповой. - 2- е изд., перераб. и доп. - Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2023. - Гл. 4. – С. 100-113. – (Серия «Национальные руководства»).

44. Филаретова, Л.П. Капсицин-чувствительные нейроны: роль в гастропротекции и регуляции болевой чувствительности / Л.П. Филаретова, Н.И. Ярушкина // Успехи физиологических наук. – 2019. – Т. 50, №. 1. – С. 3-16.

45. Хороших, Н. В. Влияние пищевой депривации на эстральный цикл крыс / Н. В. Хороших, Е. Е. Шевелина // Вестник новых медицинских технологий. – 2010. – Т. 17, № 2. – С. 259-261.

46. Хочанский, Д. Н. Современные представления о структуре и функции энтеральной нервной системы / Д. Н. Хочанский, О. В. Макарова // Морфологические ведомости. – 2015. – № 1. – С. 106-117.
47. Цитокиновый профиль крови у крыс с разными поведенческими характеристиками в условиях метаболического стресса / Н. В. Кирбаева, В. С. Евстратова, Н. А. Ригер [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2018. – Т. 166, № 10. – С. 417-420.
48. Шевяков, М. А. Candida species в кишечнике: клинические аспекты / М. А. Шевяков, Е. Б. Авалуева, Н. В. Барышникова // Проблемы медицинской микологии. – 2007. – Т. 9, № 4. – С. 4-11.
49. Экспериментальное исследование активности лизосомальных эндопептидаз в печени и мозге крыс в условиях метаболического стресса / Н. В. Кирбаева, С. Х. Сото, Н. Э. Шаранова, А. В. Васильев // The Scientific Heritage. – 2017. – № 10(10). – С. 9-12.
50. [3H] GABA uptake and GABA localization in mucosal endocrine cells of the rat stomach and colon / A. Krantis, K. Tufts, K. Nichols, G. P. Morris // Journal of the Autonomic Nervous System. – 1994. – Vol. 47, N. 3. – P. 225-232.
51. A forward chemical genetic screen reveals gut microbiota metabolites that modulate host physiology / H. Chen, P. K. Nwe, Y. Yang [et al.] // Cell. – 2019. – Vol. 177, N. 5. – P. 1217-1231.e18.
52. A novel mechanism of Gamma-aminobutyric acid (GABA) protecting human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative injury / Z. Zhu, Z. Shi, C. Xie [et al.] // Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology. – 2019. – Vol. 217. – P. 68-75.
53. A novel role of intestine epithelial GABAergic signaling in regulating intestinal fluid secretion / Y. Li, Y. Y. Xiang, W. Y. Lu [et al.] // American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology. – 2012. – Vol. 303, N. 4. – P. G453-G460.

54. A Scoping Review of the Relationship between Intermittent Fasting and the Human Gut Microbiota: Current Knowledge and Future Directions / A. D. Popa, O. Niță, A. Gherasim [et al.] // Nutrients. – 2023. – Vol. 15, N. 9. – P. 2095.
55. Age-related differences of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA)ergic transmission in human colonic smooth muscle / M. G. Zizzo, A. Cicio, S. Raimondo [et al.] // Neurogastroenterology & Motility. – 2022. – Vol. 34, N. 3. – P. e14248.
56. Almutairi S. The effect of oral GABA on the nervous system: potential for therapeutic intervention / S. Almutairi, A. Sivadas, A. Kwakowsky // Nutraceuticals. – 2024. – Vol. 4. – N. 2. – P. 241-259.
57. An in vitro study of the relationship between GABA receptor function and propulsive motility in the distal colon of the rabbit / M. Tonini, A. Crema, G. M. Frigo [et al.] // British Journal of Pharmacology. – 1989. – Vol. 98, N. 4. – P. 1109-1118.
58. Anti-Obesity Effects of GABA in C57BL/6J Mice with High-Fat Diet-Induced Obesity and 3T3-L1 Adipocytes / H. Jin, H. Han, G. Song [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2024. – Vol. 25, N. 2. – P. 995.
59. Assessment of psychotropic-like properties of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in rats and human subjects / M. Messaoudi, R. Lalonde, N. Violle [et al.] // British Journal of Nutrition. – 2011. – Vol. 105, N. 5. – P. 755-764.
60. Auteri, M. GABA and GABA receptors in the gastrointestinal tract: from motility to inflammation / M. Auteri, M. G. Zizzo, R. Serio // Pharmacological Research. – 2015. – Vol. 93. – P. 11-21.
61. Bak, L. K. The glutamate/GABA-glutamine cycle: aspects of transport, neurotransmitter homeostasis and ammonia transfer / L. K. Bak, A. Schousboe, H. S. Waagepetersen // Journal of Neurochemistry. – 2006. – Vol. 98, N. 3. – P. 641-653.
62. Bi, S. Acute food deprivation and chronic food restriction differentially affect hypothalamic NPY mRNA expression / S. Bi, B. M. Robinson, T. H. Moran // American

Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. – 2003. – Vol. 285, N. 5. – P. R1030-R1036.

63. Bifidobacteria exert strain-specific effects on stress-related behavior and physiology in BALB/c mice / H. M. Savignac, B. Kiely, T. G. Dinan, J. F. Cryan // Neurogastroenterology & Motility. – 2014. – Vol. 26, N. 11. – P. 1615-1627.
64. Boelen, A. Fasting-induced changes in the hypothalamus–pituitary–thyroid axis / A. Boelen, W. M. Wiersinga, E. Fliers // Thyroid. – 2008. – Vol. 18, N. 2. – P. 123-129.
65. Bowery, N. G. Historical perspective and emergence of the GABAB receptor / N. G. Bowery // Advances in Pharmacology. – Academic Press, 2010. – Vol. 58. – P. 1-18.
66. Braga, J. D. Gamma-aminobutyric acid as a potential postbiotic mediator in the gut–brain axis / J. D. Braga, M. Thongngam, T. Kumrungsee // NPJ Science of Food. – 2024. – Vol. 8, N. 1. – P. 16.
67. Browning, K. N. Plasticity of vagal brainstem circuits in the control of gastrointestinal function / K. N. Browning, R. A. Travagli // Autonomic Neuroscience. – 2011. – Vol. 161, N. 1-2. – P. 6-13.
68. Cahill, G. F. Jr. Fuel metabolism in starvation / G. F. Cahill Jr // Annual Review of Nutrition. – 2006. – Vol. 26, N. 1. – P. 1-22.
69. Catabolism of GABA, succinic semialdehyde or gamma-hydroxybutyrate through the GABA shunt impair mitochondrial substrate-level phosphorylation / D. Ravasz, G. Kacso, V. Fodor [et al.] // Neurochemistry International. – 2017. – Vol. 109. – P. 41-53.
70. Changes in Human Gut Microbiota Composition Are Linked to the Energy Metabolic Switch During Ten Days of Fasting / R. Mesnage, F. Grundler, A. Schwiertz [et al.] // Journal of Nutrition Science. – 2019. – Vol. 8. – P. e36.
71. Characterization of GABA(B) receptors involved in inhibition of motility associated with acetylcholine release in the dog small intestine: possible existence of a heterodimer of GABA(B1) and GABA(B2) subunits / S. Kawakami, Y. Uezono, N. Makimoto [et al.] // Journal of Pharmacological Sciences. – 2004. – Vol. 94, N. 4. – P. 368-375.

72. Critical role of gut microbiota in the production of biologically active, free catecholamines in the gut lumen of mice / Y. Asano, T. Hiramoto, R. Nishino, [et al.] // American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology. – 2012. – Vol. 303, N. 11. – P. G1288-G1295.
73. Daikhin, Y. Ketone bodies and brain glutamate and GABA metabolism / Y. Daikhin, M. Yudkoff // Developmental Neuroscience. – 1998. – Vol. 20, N. 4-5. – P. 358-364.
74. Daniel, E. E. Electrical activity of the gastrointestinal tract as an indication of mechanical activity / E. E. Daniel, K. M. Chapman // The American Journal of Digestive Diseases. – 1963. – Vol. 8, N. 1. – P. 54-102.
75. Dicks, L. M. T. Gut bacteria and neurotransmitters / L. M. T. Dicks // Microorganisms. – 2022. – Vol. 10, N. 9. – P. 1838.
76. Effect of diet on the gut microbiota: rethinking intervention duration / E. R. Leeming, A. J. Johnson, T. D. Spector, C. I. Le Roy // Nutrients. – 2019. – Vol. 11, N. 12. – P. 2862.
77. Effects of fasting and refeeding on jejunal morphology and cellular activity in rats in relation to depletion of body stores / C. Habold, C. Chevalier, S. Dunel-Erb [et al.] // Scandinavian Journal of Gastroenterology. – 2004. – Vol. 39, N. 6. – P. 531-539.
78. Effects of food deprivation on daily changes in body temperature and behavioral thermoregulation in rats / T. Yoda, L. I. Crawshaw, K. Yoshida [et al.] // American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. – 2000. – Vol. 278, N. 1. – P. R134-R139.
79. Effects of GABA on circular smooth muscle spontaneous activities of rat distal colon / S. Bayer, F. Crenner, D. Aunis, F. Angel // Life Sciences. – 2002. – Vol. 71, N. 8. – P. 911-925.
80. Effects of intermittent fasting on brain metabolism / A. Brocchi, E. Rebelos, A. Dardano [et al.] // Nutrients. – 2022. – Vol. 14, N. 6. – P. 1275.

81. Endogenous  $\gamma$ -hydroxybutyric acid is in the rat, mouse and human gastrointestinal tract / L. Tedeschi, M. Carai., G. Frison [et al.] // Life sciences. – 2003. – Vol. 72, N. 22. – P. 2481-2488.
82. Exploring the Therapeutic Potential of Gamma-Aminobutyric Acid in Stress and Depressive Disorders through the Gut–Brain Axis / T. Liwinski, U. E. Lang, A. B. Brühl, E. Schneider // Biomedicines. – 2023. – Vol. 11, N. 12. – P. 3128.
83. Food deprivation exacerbates mitochondrial oxidative stress in rat liver exposed to ischemia-reperfusion injury / M. Domenicali, P. Caraceni, G. Vendemiale [et al.] // The Journal of Nutrition. – 2001. – Vol. 131, N. 1. – P. 105-110.
84. Food deprivation, body weight loss and anxiety-related behavior in rats / S. Dietze, K. R. Lees, H. Fink [et al.] // Animals (Basel). – 2016. – Vol. 6, N. 1. – P. 4.
85. Frangaj, A. Structural biology of GABAB receptor / A. Frangaj, Q. R. Fan // Neuropharmacology. - 2018. - T. 136. - C. 68-79.
86. Fukatsu, K. Nutrition and gut immunity / K. Fukatsu, K. A. Kudsk // Surgical Clinics. – 2011. – Vol. 91, N. 4. – P. 755-770.
87. Functional evidence for a role of GABA receptors in modulating nerve activities of circular smooth muscle from rat colon in vitro / S. Bayer, A. Jellali, D. Aunis, F. Angel // Life Sciences. – 2003. – Vol. 72, N. 13. – P. 1481-1493.
88. Fung, T. C. Interactions between the microbiota, immune and nervous systems in health and disease / T. C. Fung, C. A. Olson, E. Y. Hsiao // Nature neuroscience. – 2017. – Vol. 20, N. 2. – P. 145-155.
89. GABA and fermented litchi juice enriched with GABA promote the beneficial effects in ameliorating obesity by regulating the gut microbiota in HFD-induced mice / D. Wang, Y. Deng, L. Zhao [et al.] // Food & Function. – 2023. – Vol. 14, N. 18. – P. 8170-8185.
90. GABA and GABA receptors in the central nervous system and other organs / M. Watanabe, K. Maemura, K. Kanbara [et al.] // International Review of Cytology. – 2002. – Vol. 213. – P. 1-47.

91. GABA dramatically improves glucose tolerance in streptozotocin-induced diabetic rats fed with high-fat diet / S. Sohrabipour, M. R. Sharifi, A. Talebi [et al.] // European Journal of Pharmacology. – 2018. – Vol. 826. – P. 75-84.
92. GABA(A) receptor subtype involvement in addictive behaviour / D. N. Stephens, S. L. King, J. J. Lambert [et al.] // Genes, Brain and Behavior. – 2017. – Vol. 16, N. 1. – P. 149-184.
93. GABA(B) receptor chemistry and pharmacology: Agonists, antagonists, and allosteric modulators / A. Vlachou, T. Bailey, K. Kaczanowska, P. McDonald // Behavioral Neurobiology of GABAB Receptor Function / eds. S. Vlachou, K. Wickman. – Springer Cham, 2021. – P. 81-118.
94. GABA(B) receptor mediated effects on vagal pathways to the lower oesophageal sphincter and heart / L. A. Blackshaw, S. D. Smid, T. A. O'Donnell, J. Dent // British Journal of Pharmacology. – 2000. – Vol. 130, N. 2. – P. 279-288.
95. GABA-modulating bacteria of the human gut microbiota / P. Strandwitz, K. H. Kim, D. Terekhova [et al.] // Nature microbiology. – 2019. – Vol. 4, N. 3. – P. 396-403.
96. GABA-producing *Bifidobacterium dentium* modulates visceral sensitivity in the intestine / K. Pokusaeva, C. Johnson, B. Luk [et al.] // Neurogastroenterology & Motility. – 2017. – Vol. 29, N. 1. – P. e12904.
97. Gamma-aminobutyric acid (GABA) transport across human intestinal epithelial (Caco-2) cell monolayers / D. T. Thwaites, L. Basterfield, P. M. McCleave [et al.] // British Journal of Pharmacology. – 2000. – Vol. 129, N. 3. – P. 457-464.
98. Gamma-aminobutyric acid and probiotics: Multiple health benefits and their future in the global functional food and nutraceuticals market / L. Diez-Gutiérrez, L. V. San Tecnalia, L. J. R. Barron [et al.] // Journal of Functional Foods. – 2020. – Vol. 64. – P. 103669.
99. Gamma-Aminobutyric acid production in small and large intestine of normal and germfree Wistar rats: Influence of food intake and intestinal flora / C. L. H. van Berlo, H. R. de Jonge, A. E. van den Bogaard [et al.] // Gastroenterology. – 1987. – Vol. 93, N. 3. – P. 472-479.

100. Gamma-aminobutyric acid regulates glucose homeostasis and enhances the hepatopancreas health of juvenile Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) under fasting stress / C. Zhang, X. Wang, C. Wang [et al.] // General and Comparative Endocrinology. – 2021. – Vol. 303. – P. 113704.
101. Gastroprotective effect of gamma-aminobutyric acid against ethanol-induced gastric mucosal injury / M. Xie, H. Chen, S. Nie [et al.] // Chemico-Biological Interactions. – 2017. – Vol. 272. – P. 125-134.
102. Genetically engineered *Lactococcus lactis* strain constitutively expresses GABA-producing genes and produces high levels of GABA / M. P. Monteiro, H. M. Kohl, J. B. Roullet [et al.] // Letters in Applied Microbiology. – 2024. – T. 77, №. 6. – P. ovae051.
103. Glycerol not lactate is the major net carbon source for gluconeogenesis in mice during both short and prolonged fasting / Y. Wang, H. Kwon, X. Su, F. E. Wondisford // Molecular Metabolism. – 2020. – Vol. 31. – P. 36-44.
104. Gut Biofactory-Neurocompetent metabolites within the gastrointestinal tract. A scoping review / K. Skonieczna-Żydecka, K. Jakubczyk, D. Maciejewska-Markiewicz [et al.] // Nutrients. – 2020. – Vol. 12, N. 11. – P. 3369.
105. Gut microbiota modulation as a possible mediating mechanism for fasting-induced alleviation of metabolic complications: a systematic review / P. Angoorani, H. S. Ejtahed, S. Hasani-Ranjbar [et al.] // Nutrition & Metabolism. – 2021. – Vol. 18. – P. 1-17.
106. Gut production of GABA by a probiotic formula: an in vitro study / M. Casertano, C. Fryganas, V. Valentino [et al.] // Beneficial Microbes. – 2024. – Vol. 15, N. 1. – P. 67-81.
107. Gut, microbiome, and brain regulatory axis: relevance to neurodegenerative and psychiatric disorders / G. B. Stefano, N. Pilonis, R. Ptacek [et al.] // Cellular and Molecular Neurobiology. – 2018. – Vol. 38, N. 6. – P. 1197-1206.
108. Hornby, P. J. Receptors and transmission in the brain-gut axis. II. Excitatory amino acid receptors in the brain-gut axis / P. J. Hornby // American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology. – 2001. – Vol. 280, N. 6. – P. G1055-G1060.

109. Hyland, N. P. A gut feeling about GABA: focus on GABAB receptors / N. P. Hyland, J. F. A. Cryan // *Frontiers in Pharmacology*. – 2010. – Vol. 1. – P. 124.
110. Impact of diet on human gut microbiome and disease risk / S. R. Mansour, M. A. A. Moustafa, B. M. Saad [et al.] // *New Microbes and New Infections*. – 2021. – Vol. 41. – P. 100845.
111. Induction of NPY/AgRP orexigenic peptide expression in rat hypothalamus is an early event in fasting: relationship with circulating leptin, insulin and glucose / M. Palou, J. Sánchez, A. M. Rodríguez [et al.] // *Cellular Physiology and Biochemistry*. – 2009. – Vol. 23, N. 1-3. – P. 115-124.
112. Influence of microbial species on small intestinal myoelectric activity and transit in germ-free rats / E. Husebye, P. M. Hellström, F. Sundler [et al.] // *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. – 2001. – Vol. 280, N. 3. – P. G368-G380.
113. Ingestion of Lactobacillus strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve / J. A. Bravo, P. Forsythe, M. V. Chew [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2011. – Vol. 108, N. 38. – P. 16050-16055.
114. Interactions between commensal Bacteria and enteric neurons, via FPR1 induction of ROS, increase gastrointestinal motility in mice / B. Chandrasekharan, B. J. Saeedi, A. Alam [et al.] // *Gastroenterology*. – 2019. – Vol. 157, N. 1– P. 179–192 e2.
115. Intermittent fasting on neurologic diseases: potential role of gut microbiota / M. Guo, X. Wang, Y. Li [et al.] // *Nutrients*. – 2023. – Vol. 15, N. 23. – P. 4915.
116. Intermittent metabolic switching, neuroplasticity and brain health / M. P. Mattson, K. Moehl, N. Ghena [et al.] // *Nature Reviews Neuroscience*. – 2018. – Vol. 19, N. 2. – P. 81-94.
117. Kim, K. Gamma-aminobutyric acid signaling in damage response, metabolism, and disease / K. Kim, H. Yoon // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 24, N. 5. – P. 4584.

118. Konturek, P. C. Stress and the gut: pathophysiology, clinical consequences, diagnostic approach and treatment options / P. C. Konturek, T. Brzozowski, S. J. Konturek // Journal Physiology Pharmacology. – 2011. – Vol. 62, N. 6. – P. 591-599.
119. Krantis, A. GABA in the mammalian enteric nervous system / A. Krantis // Physiology. – 2000. – Vol. 15, N. 6. – P. 284-290.
120. Krantis, A. Rat gastroduodenal motility in vivo: interaction of GABA and VIP in control of spontaneous relaxations / A. Krantis, K. Mattar, I. Glasgow // American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology. – 1998. – Vol. 275, N. 5. – P. G897-G903.
121. Lactococcus lactis NCDO2118 exerts visceral antinociceptive properties in rat via GABA production in the gastro-intestinal tract / V. Laroute, C. Beaufrand, P. Gomes [et al.] // Elife. – 2022. – Vol. 11. – P. e77100.
122. Leptin mediates a glucose-fatty acid cycle to maintain glucose homeostasis in starvation / R. J. Perry, Y. Wang, G. W. Cline [et al.] // Cell. – 2018. – Vol. 172, N. 1-2. – P. 234-248. e17.
123. Li, H. Lactic acid bacterial cell factories for gamma-aminobutyric acid / H. Li, Y. Cao // Amino acids. – 2010. – Vol. 39, N. 5. – P. 1107-1116.
124. Longo, V. D. Fasting: molecular mechanisms and clinical applications / V. D. Longo, M. P. Mattson // Cell metabolism. – 2014. – Vol. 19, N. 2. – P. 181-192.
125. Luminal administration ex vivo of a live Lactobacillus species moderates mouse jejunal motility within minutes / B. Wang, Y. K. Mao, C. Diorio [et al.] // The FASEB Journal. – 2010. – Vol. 24, N. 10. – P. 4078-4088.
126. Maggi, C. A. GABA A receptor mediated neurogenic inhibition of motility in the small intestine of urethane-anaesthetized rats / C. A. Maggi, S. Manzini, A. Meli // General Pharmacology. – 1986. – Vol. 17, N. 2. – P. 167-171.
127. Malcangio, M. GABAB receptors and pain / M. Malcangio // Neuropharmacology. – 2018. – Vol. 136. – P. 102-105.

128. Malomouzh, A. Components of the GABAergic signaling in the peripheral cholinergic synapses of vertebrates: A review / A. Malomouzh, V. Ilyin, E. Nikolsky // Amino Acids. – 2019. – Vol. 51. – P. 1093-1102.
129. Modulatory activity of GABAB receptors on cholinergic tone in guinea pig distal colon / A. Giotti, S. Luzzi, C. A. Maggi [et al.] // British Journal of Pharmacology. – 1985. – Vol. 84, N. 4. – P. 883-895.
130. Molecular and functional diversity of GABA-A receptors in the enteric nervous system of the mouse colon / M. Seifi, J. F. Brown, J. Mills [et al.] // Journal of Neuroscience. – 2014. – Vol. 34, N. 31. – P. 10361-10378.
131. Neurally released GABA acts via GABAC receptors to modulate Ca<sup>2+</sup> transients evoked by trains of synaptic inputs, but not responses evoked by single stimuli, in myenteric neurons of mouse ileum / K. Koussoulas, M. Swaminathan, C. Fung [et al.] // Frontiers in Physiology. – 2018. – Vol. 9. – P. 97.
132. Ngo, D. H. An Updated Review on Pharmaceutical Properties of Gamma-Aminobutyric Acid / D. H. Ngo, T. S. Vo // Molecules. – 2019. – Vol. 24, N. 15. – P. 2678.
133. Novel fermented chickpea milk with enhanced level of  $\gamma$ -aminobutyric acid and neuroprotective effect on PC12 cells / W. Li, M. Wei, J. Wu [et al.] // PeerJ. – 2016. – Vol. 4. – P. e2292.
134. Obesity-associated deficits in inhibitory control are phenocopied to mice through gut microbiota changes in one-carbon and aromatic amino acids metabolic pathways / M. Arnoriga-Rodríguez, J. Mayneris-Perxachs, O. Contreras-Rodríguez [et al.] // Gut. – 2021. – Vol. 70, N. 12. – P. 2283-2296.
135. Ong, J. Evidence for a physiological role of GABA in the control of guinea-pig intestinal motility / J. Ong, D. I. B. Kerr // Neuroscience letters. – 1984. – Vol. 50, N. 1-3. – P. 339-343.
136. Ong, J. GABAA-and GABAB-receptor-mediated modification of intestinal motility / J. Ong, D. I. B. Kerr // European Journal of Pharmacology. – 1982. – Vol. 86, N. 1. – P. 9-17.

137. Opposite role played by GABAA and GABAB receptors in the modulation of peristaltic activity in mouse distal colon / M. Auteri, M. G. Zizzo, M. Mastropaoletti, R. Serio // European Journal of Pharmacology. – 2014. – Vol. 731. – P. 93-99.
138. Optimization of food deprivation and sucrose preference test in SD rat model undergoing chronic unpredictable mild stress / L. W. He, L. Zeng, N. Tian [et al.] // Animal Models and Experimental Medicine. – 2020. – Vol. 3, N. 1. – P. 69-78.
139. Oral treatment with  $\gamma$ -aminobutyric acid improves glucose tolerance and insulin sensitivity by inhibiting inflammation in high fat diet-fed mice / J. Tian, H. N. Dang, J. Yong [et al.] // PLoS One. – 2011. – Vol. 6. – P. e25338.
140. Padgett, C. L. GABAB receptor coupling to G-proteins and ion channels / C. L. Padgett, P. A. Slesinger // Advances in Pharmacology. – 2010. – Vol. 58. – P. 123-147.
141. Palmer, B. F. Starvation ketosis and the kidney / B. F. Palmer, D. J. Clegg // American Journal of Nephrology. – 2021. – Vol. 52, N. 6. – P. 467-478.
142. Physiology of  $\gamma$ -aminobutyric acid production by Akkermansia muciniphila / P. Konstanti, K. Ligthart, C. Fryganas [et al.] // Applied and Environmental Microbiology. – 2024. – Vol. 90, N. 1. – P. e01121-23.
143. Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic–pituitary–adrenal system for stress response in mice / N. Sudo, Y. Chida, Y. Aiba [et al.] // The Journal of Physiology. – 2004. – Vol. 558, N. 1. – P. 263-275.
144. Preoperative fasting confers protection against intestinal ischaemia/reperfusion injury by modulating gut microbiota and their metabolites in a mouse model / W. Huang, Y. Yan, M. Wu [et al.] // British Journal of Anaesthesia. – 2022. – Vol. 128, N. 3. – P. 501-512.
145. Pre-therapy fasting slows epithelial turnover and modulates the microbiota but fails to mitigate methotrexate-induced gastrointestinal mucositis / H. R. Wardill, A. R. da Silva Ferreira, S. Lichtenberg Cloo [et al.] // Gut Microbes. – 2020. – Vol. 12, N. 1. – P. 1809332.

146. Programmed cell death in rat intestine: effect of feeding and fasting / R. Iwakiri, Y. Gotoh, T. Noda [et al.] // Scandinavian Journal of Gastroenterology. – 2001. – Vol. 36, N. 1. – P. 39-47.
147. Regulation of carbohydrate metabolism, lipid metabolism, and protein metabolism by AMPK / Y. Angin, C. Beauloye, S. Horman, L. Bertrand // Experientia. Supplementum. – 2016. – Vol. 107. - P. 23-43.
148. Regulation of hepatic mitochondrial oxidation by glucose-alanine cycling during starvation in humans / K. F. Petersen, S. Dufour, G. W. Cline, G. I. Shulman // The Journal of Clinical Investigation. – 2019. – Vol. 129, N. 11. – P. 4671-4675.
149. Rezazadeh, H. Insulin resistance and the role of gamma-aminobutyric acid / H. Rezazadeh, M. R. Sharifi, N. Soltani // Journal of Research in Medical Sciences. – 2021. – Vol. 26, N. 1. – P. 39.
150. Rotondo, A. Functional evidence for different roles of GABA<sub>A</sub> and GABA<sub>B</sub> receptors in modulating mouse gastric tone / A. Rotondo, R. Serio, F. Mulè // Neuropharmacology. – 2010. – Vol. 58, N. 7. – P. 1033-1037.
151. Ruckebusch, M. Electrical spiking activity and propulsion in small intestine in fed and fasted rats / M. Ruckebusch, J. Fioramonti // Gastroenterology. – 1975. – Vol. 68, N. 6. – P. 1500-1508.
152. Rudolph, U. GABAergic system / U. Rudolph // Encyclopedia of Molecular Pharmacology. – Cham: Springer International Publishing, 2022. – P. 679-684.
153. Sarna, S. Myoelectrical and Contractile Activities of the Gastrointestinal Tract / S. Sarna // Schuster Atlas of Gastrointestinal Motility in Health and Disease / M. M. Schuster, M. D. Crowell, L. K. Kenneth. – London: BC Decker Inc., Hamilton, 2002. – P. 1-18.
154. Selye, H. The general adaptation syndrome and the diseases of adaptation / H. Selye // The Journal of Clinical Endocrinology. – 1946. – Vol. 6, N. 2. – P. 117-230.

155. Sigel, E. Structure, function, and modulation of GABA<sub>A</sub> receptors / E. Sigel, M. E. Steinmann // Journal of Biological Chemistry. – 2012. – Vol. 287, N. 48. – P. 40224-40231.
156. Smid, S. D. Vagal neurotransmission to the ferret lower oesophageal sphincter: inhibition via GABAB receptors / S. D. Smid, L. A. Blackshaw // British Journal of Pharmacology. – 2000. – Vol. 131, N. 3. – P. 624-630.
157. Spencer, N. J. Enteric nervous system: sensory transduction, neural circuits and gastrointestinal motility / N. J. Spencer, H. Hu // Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology. – 2020. – Vol. 17, N. 6. – P. 338-351.
158. Strandwitz, P. Neurotransmitter modulation by the gut microbiota / P. Strandwitz // Brain Research. – 2018. – Vol. 1693. – P. 128-133.
159. Targeting the microbiota-gut-brain axis: prebiotics have anxiolytic and antidepressant-like effects and reverse the impact of chronic stress in mice / A. Burokas, S. Arboleya, R. D. Moloney [et al.] // Biological Psychiatry. – 2017. – Vol. 82, N. 7. – P. 472-487.
160. The circulating metabolome of human starvation / M. L. Steinhauser, B. A. Olenchock, J. O'Keefe [et al.] // JCI Insight. – 2018. – Vol. 3, N. 16. – P. e121434.
161. The effects of daily fasting hours on shaping gut microbiota in mice / L. Li, Y. Su, F. Li [et al.] // BMC microbiology. – 2020. – Vol. 20, N. 1. – P. 65.
162. The effects of time-restricted eating and Ramadan fasting on gut microbiota composition: a systematic review of human and animal studies / J. M. Pieczyńska-Zajac, A. Malinowska, K. Łagowska [et al.] // Nutrition Reviews. – 2024. – Vol. 82, N. 6. – P. 777-793.
163. The influence of starvation and water deprivation upon certain serum enzyme activity in chicks in the first week after hatching / B. Markovska-Gosic, A. Dodovski, V. Stojkovski [et al.] // Macedonian Veterinary Review. – 2009. – Vol. 32, N. 2. - P. 11-22.

164. The ketogenic diet and brain metabolism of amino acids: relationship to the anticonvulsant effect / M. Yudkoff, Y. Daikhin, T. M. Melø [et al.] // Annual Review Nutrition. – 2007. – Vol. 27, N. 1. – P. 415-430.
165. Thompson, D. G. Guts and their motions (gastrointestinal motility in health and disease) / D. G. Thompson, J. R. Malagelada // Journal of Clinical Gastroenterology. – 1981. – Vol. 3. – P. 81-87.
166. Unique and shared responses of the gut microbiota to prolonged fasting: a comparative study across five classes of vertebrate hosts / K. D. Kohl, J. Amaya, C. A. Passemant [et al.] // FEMS Microbiology Ecology. – 2014. – Vol. 90, N. 3. – P. 883-894.
167. Vargas, R. A. The GABAergic system: an overview of physiology, physiopathology and therapeutics / R. A. Vargas // International Journal of Clinical Pharmacology & Pharmacotherapy. – 2018. – Vol. 3, N. 2. – P.142.
168. Wang, T. The comparative physiology of food deprivation: from feast to famine / T. Wang, C. C. Y. Hung, D. J. Randall // Annual Review Physiology. – 2006. – Vol. 68. – P. 223-251.
169. Wood, J. D. Autonomic brain in the gut / J. D. Wood // Интегративная физиология. – 2020. – Vol. 1, N. 1. – P. 5-10.
170. Zizzo, M. G. Functional evidence for GABA as modulator of the contractility of the longitudinal muscle in mouse duodenum: role of GABAA and GABAC receptors / M. G. Zizzo, F. Mulè, R. Serio // Neuropharmacology. – 2007. – Vol. 52, N. 8. – P. 1685-1169.
171.  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA): Biosynthesis, role, commercial production, and applications / D. Rashmi, R. Zanan, S. John [et al.] // Studies in Natural Products Chemistry. – 2018. – Vol. 57. – P. 413-452.