

На правах рукописи

**МОХАММАД ВАЛИД ЗИБ**

**ВЛИЯНИЕ ПЕРИОДИЧНОСТИ ПРИЕМА ПИЩИ НА ОБЩЕЕ  
СОСТОЯНИЕ ОРГАНИЗМА И КИШЕЧНОЙ МИКРОФЛОРЫ У  
ЖИВОТНЫХ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

14.03 03 – Патологическая физиология

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Бишкек – 2011

Работа выполнена на кафедре патологической физиологии Кыргызской государственной медицинской академии им. И. К. Ахунбаева

**Научный руководитель:** доктор медицинских наук, профессор  
Тухватшин Рустам Романович

**Официальные оппоненты:** доктор медицинских наук, профессор  
Алымкулов Добулбек Алымкулович

доктор медицинских наук, профессор  
Анкудинова Светлана Александровна

**Ведущая организация:** Институт медицины, экологии и физической культуры Ульяновского государственного университета (г. Ульяновск).

Защита диссертации состоится 6 июля 2011 г. в 14.00 часов на заседании диссертационного совета \_\_\_\_\_ при Кыргызско-Российском Славянском университете (720021, Кыргызская Республика, г. Бишкек, ул. Киевская, 44).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Кыргызско-Российского Славянского университета (720021, Кыргызская Республика, г. Бишкек, ул. Киевская, 44).

Автореферат разослан 6 июня 2011 г.

Ученый секретарь  
Диссертационного совета,  
кандидат медицинских наук, доцент

Гурович Т.Ц.

### Актуальность темы

Проблемы оптимизации питания населения являются крупной медицинской проблемой в современной нутрициологии. Как показывают материалы социально-гигиенического мониторинга, фактическое питание отдельных групп населения стран СНГ и, в частности, Кыргызстана характеризуется в последние годы не только общим снижением, но и нерегулярным потреблением мяса, мясных продуктов, молока, молочных продуктов, рыбы, растительного масла, свежих овощей и фруктов, что может отражаться, как на общем состоянии организма, так и на состоянии желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) (Смолянский Б.Л., Абрамова Ж.И., 1993).

Среди многочисленных условий внешней среды, постоянно воздействующих на организм, фактор питания имеет наибольший удельный вес. Влияние этого фактора является определяющим в обеспечении оптимального роста и развития человеческого организма, его трудоспособности, адаптации к воздействию различных агентов внешней среды и, в конечном итоге, фактор питания обуславливает не только продолжительность жизни, но и длительность активной деятельности организма.

За последние 20-30 лет во многих развитых странах в области питания произошли существенные изменения: исчезли плотные завтраки, обед в середине дня заменили легким вторым завтраком, а обедать стали вечером. Эти новации связаны в основном с тем, что многие женщины теперь работают. Население Земли, в том числе в Кыргызстане, регулярно держит религиозные посты, ограничивая прием пищи и воды в течение дня, восполняя ее в вечернее время.

Диеты, рассчитанные на частый прием пищи небольшими порциями, помогают избежать чувства голода, к тому же если такая диета направлена на лечение ожирения, замечено, что вес сбрасывается гораздо быстрее. Однако возникает вопрос, насколько такая диета полезна для организма человека, т. к. желудочно-кишечный тракт в этом случае, а также слюнные железы, печень, поджелудочная железа, АПУД-система будут находиться в постоянной работе (Хендерсон Д. М., 2001).

Во многих трудах, связанных с изучением фактического питания населения, оно рассматривалось в некотором отрыве от общих показателей здоровья, кроме того, не учитывалось его влияние на микрофлору кишечника и способность переваривать пищу. Непременным же условием объективной оценки состояния фактического питания населения является сопоставление его с состоянием здоровья обследуемых контингентов.

Согласно новым веяниям, в конце XIX – начале XX вв. сформировалось представление об эндоэкологии – внутренней экологии человека, базирующееся на утверждении о важной роли микрофлоры кишечника. Было доказано, что между организмом человека и микробами, обитающими в его кишечнике, поддерживаются особые отношения взаимозависимости. В соответствии с положениями, теории адекватного

питания, питательные вещества образуются из пищи не только под влиянием ферментативного расщепления ее макромолекул за счет полостного и мембранного пищеварения, но также посредством формирования в кишечнике новых соединений, в том числе и незаменимых под действием микрофлоры. И как учащение (урезание) актов приема пищи повлияет на микрофлору кишечника, а в итоге ее состояние, в случае развития дисбактериоза, не известно.

Все вышеизложенное обусловило актуальность проведенного исследования.

### **Цель работы**

Модификация состояния организма животных коррекцией работы ЖКТ через изменения периодичности кормления животных и состояния кишечной микрофлоры.

### **Задачи исследования**

1. Изучить количественное и качественное состояние кишечной микрофлоры у животных.

2. Изучить время нахождения и скорость переваривания пищи в различных отделах ЖКТ при различной периодичности приема пищи в норме и при развитии дисбактериоза и их влияние на общее состояние организма.

3. Разработать экспресс-метод диагностики нарушений профиля кишечной микрофлоры.

### **Новизна работы**

Впервые установлено, что наиболее оптимальное содержание микрофлоры тонкого кишечника наблюдается при трехразовом кормлении, несколько снижено – при однократном и происходит развитие дисбактериоза – при восьмикратной даче корма.

Показано, что время нахождения химуса в желудке укорачивается при одно- и восьмиразовом кормлении, в толстом кишечнике только при восьмиразовом кормлении; увеличивается в тонком и толстом кишечнике при одноразовом кормлении, причем при развитии дисбактериоза время пребывания пищи в желудке и тонком кишечнике возрастает, при трехразовом кормлении уменьшается в толстом кишечнике; при разовом кормлении – увеличивается во всех отделах ЖКТ; при восьмиразовом кормлении – укорачивается в тонком и толстом кишечнике. При этом установлено снижение эффективности мембранного и полостного процесса пищеварения и отклонения от нормы в биохимических показателях крови при изменении частоты приема пищи, особенно в случае развития или моделирования дисбактериоза у экспериментальных животных.

### **Практическая значимость работы**

Полученные данные могут стать основой для дальнейших клинических исследований в этой области. Улучшение эффективности работы ЖКТ, в результате учета периодичности приема пищи, позволяет корректировать общее состояние организма и влиять на снижение заболеваний ЖКТ. Внедрение экспресс-метода диагностики состояния кишечной микрофлоры позволит иметь постоянную информацию о ее состоянии и отклонениях от нормы.

### **Основные положения диссертации, выносимые на защиту**

Периодичность приема пищи, особенно на фоне дисбактериоза, отражается на качественном и количественном состоянии микрофлоры кишечника, а также на времени нахождения и скорости продвижения пищи по ЖКТ.

Эффективность мембранного и полостного процессов пищеварения зависит от частоты приема пищи и состояния кишечной микрофлоры и отражается на биохимических показателях крови.

Уровень уробилиногена может служить критерием состояния кишечной микрофлоры.

### **Личный вклад соискателя**

Весь базовый материал исследования собран и обработан лично исполнителем работы, в результате чего сделаны основные заключения и выводы.

### **Внедрение**

Полученные результаты работы внедрены в лекционный курс по гастроэнтерологии кафедр физиологии и патофизиологии, курса «Поликлинической терапии и семейной медицины» Кыргызской государственной медицинской академии им. И.К. Ахунбаева

### **Апробация результатов диссертации**

Материалы диссертации доложены на: Первом Евразийском конгрессе «Современный взгляд на проблемы курортологии и восстановительной медицины на Евразийском пространстве» (Бишкек, 2010); III Международной научно-практической конференции «Современные проблемы теории и практики физической культуры и спорта» (Чолпон-Ата, 2010); межкафедральном совещании кафедр патологической физиологии, судебной медицины и правоведения, гистологии, цитологии и эмбриологии, курса семейной медицины (Бишкек, 2011); Республиканской научной конференции «Физиология, морфология и патология человека и животных в условиях Кыргызстана» (Бишкек, 2011).

### **Публикация результатов**

По теме диссертации опубликованы 7 статей.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**Во введении** обоснована актуальность темы исследования, представлены цели и задачи исследования, изложены научная новизна, практическая значимость и основные положения диссертации, выносимые на защиту.

**В главе I** автором приводятся систематизированные и обобщенные данные научной литературы по теме диссертационной работы, которые позволили обосновать актуальность выбранного направления НИР.

**В главе II** изложены материалы и методы исследования. Для решения поставленных задач в работе выполнены экспериментальные исследования на 400 белых лабораторных крысах средней массой 180-250 гр., которые были разделены на две группы (I, II), каждая из которых, в свою очередь, делилась на 3 подгруппы:

1 – контрольная группа, животные, находящиеся на трехразовом стандартном кормлении ( $n = 20$ );

2 – опытная группа, животные, находящиеся на одноразовом кормлении ( $n = 20$ );

3 – опытная группа, животные, находящиеся на восьмиразовом кормлении ( $n = 20$ ).

Во II группе животных с аналогичным режимом кормления моделировали дисбактериоз путем дачи антибиотиков по общепринятой методике (Шамсиев С. Ш., Еренков В. А., 1988).

Для кормления крыс был использован изготовленный в заводских условиях комбикорм в виде специальных брикетов, содержащих сбалансированное количество белков, жиров, углеводов, витаминов, минеральных веществ и микроэлементов в рациональных дозах.

Для нахождения химуса в ЖКТ было использовано 200 крыс, которые также были разделены на две группы и три подгруппы.

Работа с животными велась в соответствии с положениями IV Европейской Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (ETS 123, 1986).

Производили определение амилолитической активности амилазы С и амилазы Г кишечника по методу Вольгемута (40 крыс), где принцип метода заключается в определении степени расщепления крахмала по изменению окраски раствора в присутствии йода как индикатора (Уголев А. М., 1987).

Определив амилолитическую активность обеих фракций, определяли отношение мембранного пищеварения к полостному – Г/С. В норме удельная амилолитическая активность ферментов мембранного пищеварения амилаза - превышает таковую у полостных ферментов, отношение Г/С = 2,2 и выше.

Определение количественного и качественного состава кишечной микрофлоры проводили в соответствии с Методическими рекомендациями № 1—11/31,1986 и информационным письмом «Совершенствование методов диагностики дисбактериозов толстого кишечника» (С-Пб, государственная медицинская академия им. И. И.Мечникова, 2002).

Культурально-ферментативные свойства изучали согласно МУ 04-723/3 Министерства Здравоохранения СССР от 17. 12. 1984 г. и Приказу №535 от 22. 04. 1985 г. с использованием СИБ. Для изучения гемолизирующей активности использовали ГМФ-агар с добавлением 5-процентных эритроцитов барана.

Доставленные в лабораторию образцы подготавливали к посеву в среды обогащения и на дифференциально-диагностические среды (Эндо, Плоскирева, ВСА, кровяной агар, энтерококк агар, среда Блаурокка, железосульфитный агар, Сабуро, ЖСА). После 18-20 часового инкубирования чашек с дифференциально-диагностическими средами (висмут-сульфит агар 48 час.) производился учет характера роста с отбором 3-5 подозрительных колоний на одну из сред для первичной идентификации (Клиглера, Ресселя, Олькеницкого) и на скошенный питательный агар. Для идентификации вида микроорганизмов определялись морфологические и биохимические свойства, с использованием соответствующих индикаторных тестов.

У животных определяли биохимические показатели крови на биохимическом анализаторе Screen master: глюкозу, холестерин, мочевую кислоту, остаточный азот, креатин и креатинин, альбумин в плазме крови, АсТ, АлТ, калий, кальций в крови.

Полученный фактический материал был подвергнут компьютерной обработке с помощью пакета прикладных программ Microsoft Excel с расчетом критерия Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

### Состояние кишечной микрофлоры у животных с различным режимом питания

Многочисленные наблюдения свидетельствуют об изменениях микробного пейзажа ЖКТ при различных заболеваниях местного и общего характера. Дисбактериоз регистрируется у большинства больных с поражениями желудочно-кишечного тракта инфекционной и неинфекционной природы, у больных и реконвалесцентов после острых вирусных и бактериальных инфекций не кишечной локализации, при хронических воспалительных и аллергических заболеваниях, лучевой болезни, у больных со злокачественными процессами, при постлучевом синдроме, на фоне применения цитостатиков и антибиотиков. Лекарственные (особенно антибиотикозависимые) дисбактериозы отличаются наибольшей стабильностью и могут иметь серьезные последствия (классический пример – кандидомикоз) (Агафонова Н. А. и соавт., 2008).

Установлено, что микрофлора желудка у животных контрольной группы при трехразовом кормлении характеризовалась практически стерильным состоянием, за исключением наличия дрожжеподобных грибов рода *candida* в среднем от  $10^4$  до  $5 \times 10^4$ . При одноразовом режиме кормления желудок содержал дрожжеподобные грибы только у одного животного. При

восьмиразовом кормлении концентрация грибков резко увеличилась – от 0 до  $3 \times 10^6$ .

В опытной группе животных с дисбактериозом при трехразовом кормлении дрожжеподобные грибки в желудке в среднем определялись в количестве  $10^4$ , при одноразовом кормлении отсутствие микроорганизмов и при восьмиразовом –  $3 \times 10^3$ .

Таким образом, микрофлора желудка у животных контрольной и опытной групп представлена в основном дрожжеподобными грибами рода *candida*, концентрация которых возрастает с увеличением частоты кормления животных.

Известно, что 12-перстная кишка и проксимальный отдел тощей кишки практически стерильны. Поддержание нормальной экологии тонкой кишки обеспечивается низкой рН желудочного сока, пропульсивной перистальтикой, а также эффективным кишечным пищеварением и всасыванием (Уголев А. М., 1985).

В **тонком кишечнике** при трехразовом кормлении животных микрофлора оказалась более разнообразной и представлена наиболее часто регистрируемыми в кишечнике микроорганизмами. Так, уровень бифидобактерий составлял от  $10^1$  до  $10^7$ , лактобактерии встречались только у одного животного в минимальном количестве, на фоне полного отсутствия бактериоидов (см. табл.1).

Кишечные палочки с нормальной ферментативной активностью находились в диапазоне от  $10^3$  до  $5 \times 10^3$ , тогда как кишечные палочки со сниженной ферментативной активностью полностью отсутствовали.

Энтерококки встречались от 0 до  $10^3$  и только в 50 % случаев. В небольшом количестве отмечены гемолитические микроорганизмы, представленные *e.coli* и условно патогенными бактериями *pr.vulgalis*.

В большом количестве были дрожегрибы рода *candida* – от  $10^3$  до  $5 \times 10^5$ . Реже встречался стафилококк – сапрофитический и эпидермальный.

**При одноразовом кормлении у животных в тонком кишечнике** увеличивалась концентрация лактобактерий, в границах от  $1 \times 10^2$  до  $3 \times 10^3$ . Известно, что род лактобактерий насчитывает 56 видов, 11 родов (*Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Camobacterium*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Oenococcus*, *Veissella*). Лактобактерии – бесспорные грам-положительные как факультативные, так и строго анаэробные палочковидные бактерии.

При одноразовом кормлении у животных уменьшилось количество бифидобактерий. Бактероиды также отсутствовали. У отдельных животных резко увеличилось количество кишечных палочек с нормальной ферментативной активностью в количестве от  $1 \times 10^5$  до  $5 \times 10^5$ , со сниженной ферментативной активностью они отсутствовали, как и в предыдущей группе. Уменьшилось количество энтерококков.





У большего количество животных (в два раза чаще), по сравнению с предыдущей группой, выявлялись *e.coli*, но также не было отмечено условно патогенных бактерий, *s.aureus*, шигеллы, салмонеллы, стафилококка.

В отличие от предыдущей группы в микрофлоре тонкого кишечника были выявлены клостридии в диапазоне от  $10^1$  до  $10^3$ .

**При восьмиразовом кормлении в тонком кишечнике** практически перестали регистрироваться липидобактерии, лактобактерии (у 2-х животных) в количестве  $10^2$  и  $10^1$  соответственно. Появились бактериоды. По сравнению с предыдущей группой уменьшилось количество кишечных палочек с нормальной ферментативной активностью ( $1 \times 10^3 - 5 \times 10^3$ ). Также как и в предыдущих группах не встречались кишечная палочка со сниженной ферментативной активностью, а также *s.aureus*, салмонеллы, шигеллы. Осталось без изменения количество энтерококков и в два раза увеличились гемолитические организмы и, в отличие от двух предыдущих групп, появились условнопатогенные бактерии и стафилококки ( $10^2-10^3$ ).

Стабильно высоко повысился уровень дрожжеподобных грибов рода *candida*  $10^6 - 5 \times 10^8$ , также увеличилось количество колоний клостридий.

Наиболее разнообразной является флора толстого кишечника. Состав микрофлоры толстой кишки может меняться под влиянием различных факторов и неблагоприятных воздействий, ослабляющих защитные механизмы организма (экстремальные климатогеографические условия, загрязнение биосферы промышленными отходами, различными химическими веществами, инфекционные заболевания, болезни органов пищеварения, неполноценное питание, ионизирующая радиация) (Парфенов А. И., 1998).

**При трехразовом кормлении количество бифитобактерий в толстом кишечнике** составляет от  $0-10^7$  при полном отсутствии лактобактерий, кишечной палочки со сниженной ферментативной активностью, условно патогенных бактерий *S.aureus*, клостридии, шигелл и сальмонелл. Уровень кишечных палочек с нормальной ферментативной активностью составлял от  $10^3$  до  $5 \times 10^5$ . Уровень энтерококков от 0 до  $5 \times 10^3$ . Гемолитические микробы, представленные *e.coli* – от 0 до  $10^3$ , стафилококк – от 0 до  $10^3$ . В большом количестве дрожжеподобные грибки – от  $0-10^4$  до  $5 \times 10^4$ .

При исследовании свойств условнопатогенных бактерий, входящих в состав нормальной микрофлоры толстой кишки и определяющих в ряде случаев развитие дисбактериозов, установлено, что многие патогенные и условнопатогенные микроорганизмы обладают набором секретлируемых факторов, обеспечивающих им внутриклеточное паразитирование и длительное персистирование, что, в конечном итоге, приводит к развитию хронических инфекций и бактерионосительству (Леванова Л. А. и соавт., 2002).

**При одноразовом кормлении, также как и в предыдущей группе в толстом кишечнике** отсутствовали бактериоды, кишечные палочки со сниженной ферментативной активностью, условные патогенные бактерии *S.aureus*, стафилококки и шигеллы. Со стороны других микроорганизмов

наблюдалась динамика как в сторону увеличения, так и снижения отдельных видов. Так, имело место снижение бифитобактерий ( $10^1 - 10^2$ ). В значительном количестве появились лактобактерии ( $1 \times 10^2$  до  $5 \times 10^3$ ). Произошло небольшое увеличение количество кишечных палочек с нормальной ферментативной активностью ( $5 \times 10^5$  до  $6 \times 10^5$ ). Также, чаще стали встречаться энтерококки и гемолитические микроорганизмы (*e.coli*) и дрожжеподобные грибки рода *candida*. В отличие от предыдущей группы одноразовое питание способствовало появлению в кишечнике клостридий (от 0 до  $10^3$ ).

**При восьмиразовом кормлении в толстом кишечнике** значительно уменьшилось количество бифитобактерий (от 0 до  $10^1$ ) и лактобактерий (от 0 до  $10^2$ ). Одновременно появились бактериоиды (от 0 до  $10^2$ ), произошло снижение кишечной палочки с нормальной ферментативной активностью. Количество энтерококков и гемолитических микроорганизмов (*e.coli*) увеличилось. В значительном количестве в толстом кишечнике стали встречаться условнопатогенные микробы, а также стафилококк (от  $10^2$  до  $10^3$ ). Значительно возросло количество дрожжеподобных грибов рода *candida* (от  $3 \times 10^6$  до  $8 \times 10^6$ ). Уровень клостридий не изменился.

При моделировании дисбактериоза произошла практически полная гибель кишечной микрофлоры, за исключением гемолитических микроорганизмов, которые были отмечены в небольшом количестве и значительного развития дрожжеподобных грибов.

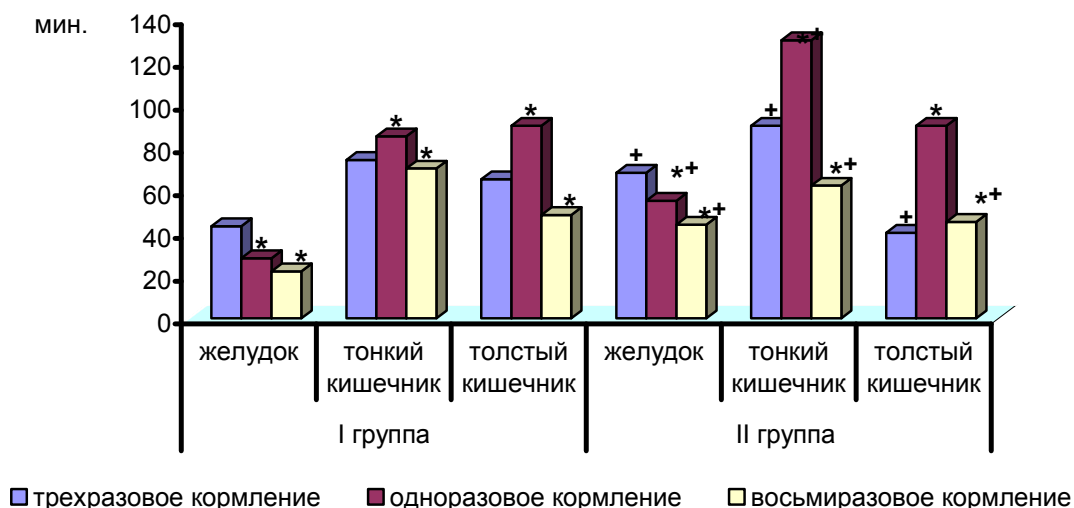
Таким образом, при сравнении групп, различающихся кратностью питания, установлено, что наиболее оптимальное содержание микрофлоры тонкого кишечника было при трехразовом кормлении, несколько снижено – при одноразовом и выраженное развитие дисбактериоза при восьмиразовом. При этом: а) у животных с одноразовым кормлением в среднем количество кишечной палочки составляло  $1 \times 10^5 - 6 \times 10^5$ . Определялись бифидо- и лактобактерии в количестве от 10-100 кл/г и грибки рода *Candida* в пределах 1000 микробных клеток. Отсутствовала условно-патогенная флора за счет бактерицидного действия кишечной палочки; б) у животных с восьмиразовым кормлением наблюдалось снижение количества облигатной микрофлоры кишечника по совокупности всех ее представителей (бифидо- и лактобактерии), размножение патогенной микрофлоры плазмокоагулирующих стафилококков, протеев, грибов рода *Candida*, условно-патогенных энтеробактерий (*Klebsiella spp*, *Citrobacterspp*, *Enterobacter spp*, *Proteus spp*).

### **Время нахождения и скорость прохождения химуса в ЖКТ у животных с различным режимом питания**

Установлено, что время нахождения химуса в желудке у животных I группы при трехразовом кормлении составляет  $43,0 \pm 0,8$  мин., при одноразовом питании оно укорачивается на 35,9 %, а при восьмиразовом – на 48,9 %. При моделировании дисбактериоза (II группа) при трехразовом кормлении оно удлиняется на 58,1 % по сравнению с аналогичной

контрольной группой. При одноразовом кормлении – возрастает на 96,4 %, при восьмиразовом кормлении – на 95,4 % соответственно.

Время нахождения химуса в **тонком кишечнике** животных I группы, в среднем составляет  $74,0 \pm 0,8$  мин. При одноразовом кормлении это время удлиняется на 14,8 %, а при восьмиразовом кормлении уменьшается на 5,5 %. Моделирование дисбактериоза (II группы) влияет на время переваривания пищи в тонком кишечнике. Так, при трехразовом кормлении оно возрастает на 21,6 %, при одноразовом кормлении – на 52,9 %, в то же время при восьмиразовом кормлении снижается на 11,5 % (рис. 1).



\*-  $P < 0,05$  – достоверно по отношению к контрольной группе.

+ -  $P < 0,05$  – достоверно по отношению к I группе.

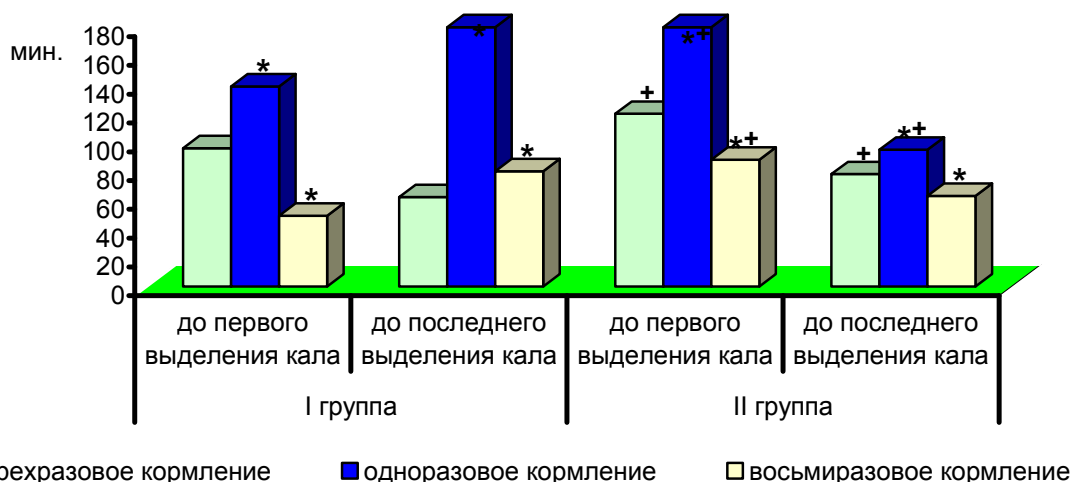
Рис. 1. Время нахождения химуса в различных отделах ЖКТ при различной периодичности кормления

Время нахождения химуса в **толстом кишечнике** у животных I группы в среднем составляет  $65,0 \pm 0,8$  мин. При одноразовом кормлении оно удлинялось на 38,1 %, при восьмиразовом питании сокращалось на 35,7 %.

Моделирование у животных дисбактериоза (II группа) сокращало время нахождения химуса в толстом кишечнике при трехразовом кормлении на 38,5%, при одноразовом – практически не изменялось и при восьмиразовом – имело тенденцию к снижению ( $P < 0,05$ ) по сравнению с аналогичными контрольными группами.

Для уточнения процессов переваривания пищи нами изучена общая скорость продвижения химуса по ЖКТ (рис. 2).

Установлено, что при трехразовом кормлении первое выделение экскрементов происходило в среднем на  $96,0 \pm 0,7$  минуте, а последняя порция дополнительно через 62 мин. При одноразовом питании эти промежутки увеличивались на 44,7 % и 190,3 % соответственно. При восьмиразовом питании время первого выделения уменьшалось на 49,0 %, а последнее увеличивалось на 29,0 %.



\* –  $P < 0,05$  – достоверно по отношению к контрольной группе.

+ –  $P < 0,05$  – достоверно по отношению к I группе.

Рис. 2. Общее время продвижения химуса по ЖКТ при различной периодичности кормления

При развитии дисбактериоза при трехразовом кормлении время первого выделения экскрементов отодвигалось на 25,0 % и последнее дополнительно на 25,8 %. При одноразовом питании первое выделение экскрементов увеличивалось на 29,4 %, а время окончания выделения уменьшалось на 47,3 %. При восьмиразовом питании время первого выделения кала увеличивалось на 79,5 %, а окончание укорачивалось на 21,3 %.

Очень важным показателем является средняя скорость продвижения химуса по ЖКТ, которое определяется по времени первого и последнего выделения экскрементов.

Так, при трехразовом кормлении средняя скорость продвижения химуса по ЖКТ, оцениваемая по первому выделению кала, составляет  $1,46 \pm 0,01$  см/мин, а по последнему –  $2,3 \pm 0,03$  см/мин. При одноразовом питании эта скорость уменьшается на 30,9 % и 66,1 % соответственно, кал выглядит плотным конгломератом. При 8-разовом кормлении скорость продвижения химуса по первому выделению кала увеличивалась на 96,5 %, а последнему – на 24,0 %.

При развитии дисбактериоза кал выглядел в виде жидкой кашицы, скорость продвижения химуса в ЖКТ в среднем увеличилась на 25,0 %. При одноразовом кормлении скорость продвижения химуса в ЖКТ увеличивалась на 29,4 % судя по первому выделению помёта и уменьшилась на 47,3 % по последнему. При восьмиразовом кормлении в первом случае оно увеличилось на 75,9 %, а во втором уменьшилось на 21,3 %.

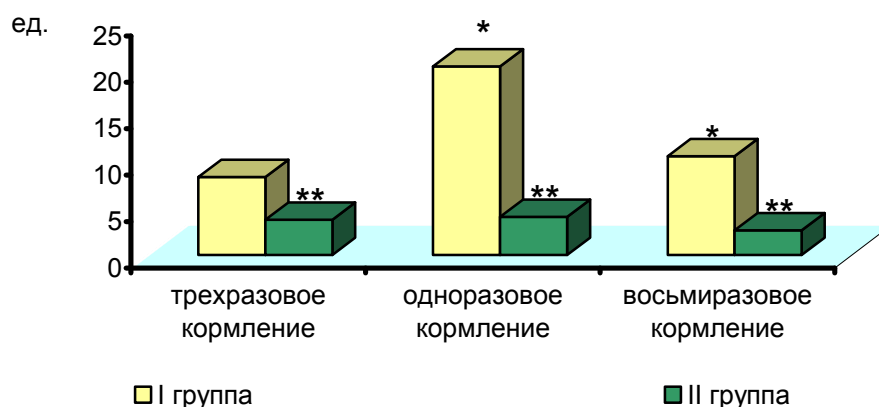
Средняя скорость продвижения химуса по первому выделению помёта у животных с дисбактериозом уменьшилась на 9,9 % а по последнему – на 11,8 %. При одноразовом кормлении скорость прохождения химуса по первому выделению – уменьшилась на 22,7 %, по последнему – увеличилась на 88,4 %. При восьмиразовом кормлении скорость продвижения химуса по

первому выделению помета уменьшилась на 49,6 %, по последнему – увеличилась на 27,4 %.

Известно, что в тонком кишечнике происходит расщепление нутриентов и всасывание образующихся более простых химических соединений, воды и минеральных солей. Первоначальная обработка крупных пищевых молекул происходит в полости тонкого кишечника. Образующиеся промежуточные продукты гидролиза приходят в контакт с поверхностью кишечного эпителия. Окончательное расщепление питательных веществ происходит на поверхности клеточных мембран эпителия – т.н. мембранное пищеварение.

Большая поверхность клеточных мембран обеспечивает поверхностный катализ, дополняющий катализ химический и активное контактное пищеварение, сочетающееся с интенсивным всасыванием. Можно считать, что в системе полостного и пристеночного пищеварения и всасывания действует поперечный микроконвейер, дополняющий деятельность продольного конвейера ЖКТ, ответственного за пассаж и преобразование пищи (Хендерсон Дж.М., 1999).

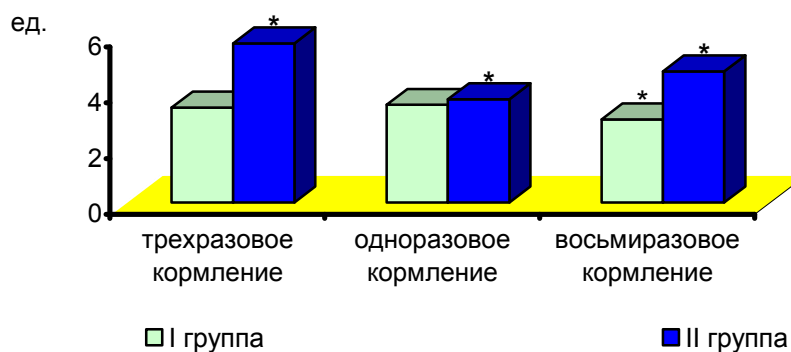
При одноразовом кормлении животных мембранное пищеварение увеличилось на 138,4% (фракция Г), а амилалитическая активность фракции С, отражающая полостное пищеварение, практически не изменилась по сравнению с животными с трехразовым кормлением ( $P > 0,05$ ) (рис. 3, 4), т. е. при одноразовом кормлении превалирующим становится мембранное пищеварение превышая, в среднем на 472,2 %, полостное. При восьмиразовом кормлении мембранное пищеварение имело лишь тенденцию к росту ( $P > 0,05$ ), а полостное пищеварение снижалось на 12,4 % ( $P < 0,05$ ), коэффициент отношения мембранного пищеварения к полостному увеличивался на 44,0 % по сравнению с животными, получающим трехразовое кормление.



\* –  $P < 0,05$  достоверно по отношению к контрольной группе.

\*\* –  $P < 0,05$  достоверно по отношению к I группе.

Рис. 3. Динамика показателей мембранного пищеварения при различной частоте кормления животных

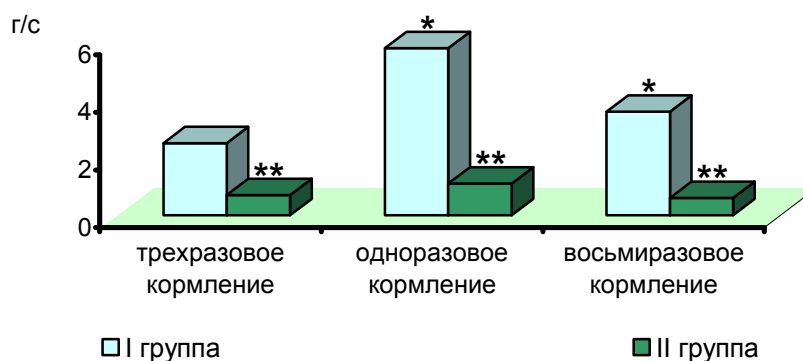


\* –  $P < 0,05$  достоверно по отношению к I группе.

Рис. 4. Динамика показателей полостного пищеварения при различной частоте кормления животных

Если отношение мембранного пищеварения к полостному при трехразовом кормлении составляло 2,5 то при одноразовом кормлении увеличилось на 132,0 %.

При моделировании дисбактериоза происходит значительное снижение мембранного пищеварения и увеличение полостного (особенно при трехкратном кормлении) по сравнению с I группой.



\* –  $P < 0,05$  достоверно по отношению к контрольной группе.

\*\* –  $P < 0,05$  достоверно по отношению к I группе.

Рис. 5. Отношение мембранного пищеварения к полостному (Г/С) при различной частоте кормления у животных с дисбактериозом и без дисбактериоза

Таким образом, установлено снижение эффективности мембранного процесса пищеварения при увеличении частоты приема пищи, особенно на фоне развития (моделирования) дисбактериоза.

### **Биохимические показатели крови у экспериментальных животных с различной периодичностью кормления**

Установлено, что у животных I группы при трехразовом кормлении уровень глюкозы крови находился в пределах средних величин, принятых у этого вида животных. При одноразовом кормлении у экспериментальных животных развивалась гипогликемия и уровень глюкозы снижался на 23,6 %.

Таблица 2

## Биохимические показатели крови у животных с различной периодичностью кормления

Группы животных		Показатели											
		Глю-коза, ммоль/л	Амила-за, Е/л	Общий холестерин, ммоль/л	Аль-бумин, %	Оста-точный азот, ммоль/л	Моче-вина, ммоль/л	мочевая кислота, ммоль/л	Алт Е/л	Аст, Е/л	Каль-ций, ммоль/л	Калий, ммоль/л	Креатинин, мкмоль/л
<b>Трехразовое кормление животных (контрольная группа, n = 40)</b>													
I группа	M ±m	6,1 ± 0,08	727,2 ±1,4	2,37 ± 0,01	38,71 ±0,008	16,51 ±0,006	4,35 ±0,009	0,233 ±0,006	13,6 ±0,01	36,3 ±0,01	2,21 ±0,01	4,4 ±0,005	76,38 ±0,02
II группа	M ±m	3,5 ± 0,08	39,3 ± 0,7	2,2 ± 0,01	38,7 ± 0,07	16,36 ± 0,05	8,2 ± 0,08	0,232 ± 0,0008	12,7 ± 0,1	12,1 ± 0,1	2,2 ± 0,008	4,41 ± 0,06	115,5 ± 0,3
<b>Одноразовое кормление животных (опытная группа, n = 40)</b>													
I группа	M ±m	3,9 ±0,07	495,7 ±7,5	1,77 ±0,05	39,0 ±0,005	15,6 ±0,05	3,95 ±0,01	0,2 ±0,007	14,71 ±0,003	12,28 ±0,01	2,2 ±0,01	3,75 ±0,01	59,52 ±0,02
II группа	M ±m	3,3 ± 0,2	27,13 ± 1,3	2,1 ± 0,02	38,9 ± 0,09	15,67 ± 0,1	7,93 ± 0,04	0,230 ± 0,0003	11,0 ± 0,4	10,31 ± 0,3	2,21 ± 0,005	3,78 ± 0,1	112,7 ± 0,3
P <sub>1</sub>		<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05	<0,05	<0,05
P <sub>2</sub>		>0,05	<0,05	<0,05	>0,05	<0,05	<0,05	>0,05	<0,05	<0,05	>0,05	<0,05	<0,05
<b>Восьмиразовое кормление животных (опытная группа, n = 40)</b>													
I группа	M ±m	6,58 ±0,02	827,7 ±2,1	2,12 ±0,009	39,5 ±0,02	15,79 ±0,02	4,18 ±0,007	0,231 ±0,0003	16,5 ±0,06	15,28 ±0,02	2,0 ±0,004	4,62 ±0,01	70,64 ±0,02
II группа	M ±m	4,0 ± 0,05	58,8 ± 1,1	2,09 ± 0,005	39,43 ± 0,06	15,86 ± 0,03	8,67 ± 0,04	0,231 ± 0,0005	13,5 ± 0,1	12,9 ± 0,1	2,0 ± 0,01	4,6 ± 0,04	116,8 ± 0,2
P <sub>1</sub>		<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
P <sub>2</sub>		<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05	<0,05

P<sub>1</sub> – достоверно по отношению к контрольной группе.

P<sub>2</sub> – достоверно по отношению к I группе.



При восьмиразовом кормлении имело место увеличение уровня глюкозы – на 7,9 % (см. табл. 2).

При моделировании дисбактериоза (II группа) во всех экспериментальных группах у животных отмечалось явление гипогликемии. Так, в контрольной группе, при трехразовом кормлении, у животных с дисбактериозом уровень сахара снижался на 42,7 % по сравнению с I группой.

При одноразовом кормлении у животных с дисбактериозом (II группа) уровень сахара снижался на 5,7 %, а в сравнении с I группой – на 15,4 %. У животных с восьмиразовым кормлением уровень глюкозы возрастал на 14,2 %, а в сравнении с I группой – снижался на 39,3 %.

Своеобразную динамику имеет фермент амилазы крови. Известно, что амилазы – это групповое название ферментов, катализирующих гидролитическое расщепление гликогена, крахмала, а также продуктов их частичного гидролиза – декстринов и мальтоолигосахаридов.  $\alpha$ -Амилаза расщепляет в полисахаридах внутренние  $\alpha$ -1,4-глюкозидные связи, в результате чего происходит быстрое уменьшение вязкости и величины молекулярного веса субстратов (Хендерсон Дж., 1997).

Так при одноразовом кормлении уровень амилазы снижался на 31,9 %, при восьмиразовом – возрастал на 13,8 % (табл. 2). Моделирование дисбактериоза, у животных при 3-х разовом кормлении, сопровождалось снижением концентрации амилазы на 94,6 %. Одноразовое кормление приводит к еще более низкому уровню амилазы, по сравнению с аналогичной группой, с трехразовым кормлением она снижается на 31,0 %, при восьмиразовом кормлении – увеличивается на 49,6 %. Однако видно, что у всех животных с дисбактериозом (II группа) уровень амилазы значительно снижен.

Снижение активности альфа-амилазы в данном случае, видимо, свидетельствует о недостаточности экзокринной функции поджелудочной железы под влиянием интоксикации, вызванной развитием дисбактериоза.

Установлено, что у животных с трехразовым кормлением уровень общего холестерина не выходил за нижние границы общепринятых норм и составлял 2,33 ммоль/л (табл. 2). При одноразовом кормлении уровень холестерина снижался на 25,3 %, а при восьмиразовом – недостоверная тенденция к снижению. При моделировании дисбактериоза показатели уровня общего холестерина не отличается от показателей контрольной группы животных.

У обследуемых животных определялась тимоловая проба, которая считается одним из надежных тестов оценки функционального состояния печени. Установлено, что при одноразовом кормлении у животных I группы тимоловая проба снижалась на 14,5 %, что свидетельствовало об уменьшении, в какой-то степени, функциональной нагрузки на печень, тогда как при восьмиразовом кормлении этот показатель увеличивается на 42,8 % ( $P < 0,05$ ).

У животных при моделировании дисбактериоза с одноразовым кормлением наблюдается тенденция к уменьшению тимоловой пробы, при восьмиразовом – достоверное увеличение на 57,2 %.

Таким образом развитие дисбактериоза не отражается на показателе тимоловой пробы при одноразовом кормлении животных, а ее динамика, при восьмиразовом кормлении определяется количеством принятой пищи, и соответственно, нагрузкой на печень, вследствие избыточной нагрузки нутриентами и, возможно, токсинов, поступающих через ЖКТ и систему воротной вены в печень при развитии и моделировании дисбактериоза.

У животных I группы уровень остаточного азота практически не изменялся, хотя можно отметить, что при одно- и восьмиразовом кормлении он был несколько ниже на 5,5 % и 4,4 % соответственно ( $P > 0,05$ ). У животных при моделировании дисбактериоза кишечника уровень остаточного азота крови количественно не отличался от аналогичной группы без дисбактериоза кишечника. Известно, что во фракцию остаточного азота входят: азот мочевины, на долю которого у практически здоровых людей приходится 46 – 60 % всего остаточного азота, азот аминокислот (до 25 %), креатинина (2,5 – 7,5 %), креатина (5 %), мочевой кислоты (4 %) и других продуктов белкового обмена (за исключением азота гетероциклических структур) (Хендерсон Дж. М., 1997).

Показатель мочевой кислоты практически не изменялся от количества кормлений животных. Можно лишь отметить, что при одноразовом кормлении этот показатель снижался на 14,2 % ( $P < 0,05$ ). У животных с дисбактериозом уровень мочевой кислоты не отличался от показателей контрольной группы животных с трехразовым кормлением (I группа).

Динамика концентрации мочевины в крови имеет существенное различие у животных с дисбактериозом. Так, установлено, что при одно- и восьмиразовом кормлении животных уровень мочевины имеет тенденцию к снижению. При моделировании дисбактериоза кишечника у животных с трехразовым кормлением (II группа) уровень мочевины возрастал на 88,5%. При одноразовом кормлении – на 82,2 % и при восьмиразовом – на 92,6 % по сравнению с животными I группы.

Можно сделать вывод, что причиной роста мочевины в крови ( $P < 0,05$ ) является развитие дисбактериоза, а фактор периодичности кормления усиливает эту причину.

Установлено, что одноразовое кормление животных приводило к достоверному снижению концентрации креатинина в крови, который уменьшался на 32,1 %, а при восьмиразовом – на 7,6 %, в сравнении с I группой при трехразовом кормлении.

Моделирование дисбактериоза кишечника приводило к резкому увеличению уровня креатинина – на 51,2 %. При одноразовом кормлении он возрастал на 47,5 %, а при восьмиразовом – на 52,9 % по сравнению с I группой с трехразовым кормлением.

Таким образом, дисбактериоз накладывает заметный отпечаток на образование креатинина у экспериментальных животных, что особенно явно проявляется в группах, где животные получают одноразовое кормление.

Со стороны показателей концентрации ферментов АсТ и АлТ необходимо отметить, что уровень АлТ при одно- и восьмиразовом кормлении животных возростал на 8,2 и 21,3 % соответственно по сравнению с I группой животных с трехразовым кормлением.

Развитие дисбактериоза кишечника привело к снижению уровня АлТ на 6,7 % у животных с трехразовым кормлением, в сравнении с животными I группы, при одноразовом кормлении – на 19,2 %, при восьмиразовом кормлении – на 5,2 %.

Таким образом, концентрация фермента АлТ при развитии у животных дисбактериоза кишечника снижалась. Особенно это заметно при сравнении I и II групп животных с одно- и восьмиразовым кормлением. Уменьшение составляет 25,3 и 19,2 % соответственно.

Одноразовое кормление приводило к снижению АсТ на 76,2 %, при восьмиразовом кормлении на 57,9% соответственно в I группе. Моделирование дисбактериоза привело к снижению АсТ у животных с трехразовым кормлением на 69,7%, при одноразовом – на 71,6% и восьмиразовом – на 64,5% по сравнению с I группой животных.

В группе с моделированием дисбактериоза уровень АсТ уменьшался у животных при одноразовом кормлении на 15,8 % и увеличивался при восьмиразовом кормлении на 6,6 % по сравнению с животными с трехразовым кормлением.

Аналогично выглядит и динамика со стороны концентрации калия крови. У животных I группы уровень калия уменьшался при одноразовом кормлении на 14,8 %, а при восьмиразовом имел тенденцию к возрастанию.

Таким образом, отклонение от стандартной периодичности приема пищи, особенно на фоне дисбактериоза, приводит к отклонениям в биохимических показателях крови у экспериментальных животных.

### **Динамика массы животных при различных режимах питания**

Известно, что животные в процессе роста набирают массу, поэтому этот показатель в какой-то степени является результирующим отражением обменных процессов, как у здоровых животных, так и в случае развития дисбактериоза. Так, в I группе животных при трехразовом кормлении через 40 дней масса их увеличилась на 5,0 %, при одноразовом – на 3,2 % и восьмиразовом – на 6,5 % по сравнению с исходной массой (см. табл. 3).

При моделировании у животных дисбактериоза масса животных уменьшилась.

Динамика массы животных при различных режимах кормления

Масса животных, гр. (M ± m)	Трехразовое кормление	Одноразовое кормление	Восьмиразовое кормление	Трехразовое кормление	Одноразовое кормление	Восьмиразовое кормление
	I группа (n = 60)			II группа (n = 60)		
Исх. масса	201,5±0,25	202,1±0,2	201,4±0,	201,5±0,2	202,1±0,2	201,4±0,2
через 40 дней	211,97±0,6	208,65±0,3	214,4±0,3	196,96±0,3	189,6±0,4	195,7±0,2
P <sub>1</sub>	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
P <sub>2</sub>				<0,05	<0,05	<0,05

Примечание: P<sub>1</sub> – достоверно по отношению к группе «до эксперимента»

P<sub>2</sub> – достоверно по отношению к I группе.

Таким образом, нарушение нормальной микрофлоры в кишечнике отражается на состоянии животных и сопровождается снижением массы тела.

### Экспресс-метод диагностики состояния кишечной микрофлоры по уробилиногену

Наиболее применяемыми в медицинской практике методами диагностики состояния микробиоценоза (дисбактериоза) являются рутинное бактериологическое исследование кала, ПЦР-диагностика, хромато-масс-спектрометрия и биохимическое исследование микробных метаболитов. Недостатком является то, что эти методы диагностики достаточно трудоемкие и затратные по времени, не всегда и всем доступны (Смирнова Г. И., 1997). Нами был разработан экспресс-метод состояния кишечной микрофлоры по уробилиногену.

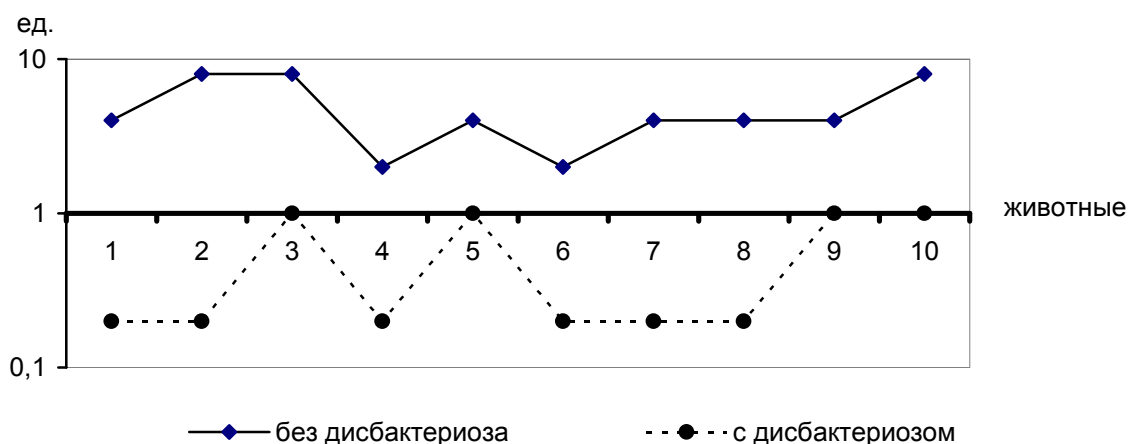


Рис. 6. Показатели уробилиногена кала по тест-полоске у животных в норме и после развития дисбактериоза.

У животных был отмечен обычный уровень уробилиногена – 8 ед. (сдвиг вправо), что подтверждало нормальное состояние кишечной микрофлоры и высокую активность кишечной микрофлоры по превращению стеркобилина в уробилиноген, а во II группе – с дисбактериозом, наоборот, уровень уробилиногена у животных был низким – 0,2 ед. (сдвиг влево), что подтверждало угнетение (утрату) кишечной микрофлоры и утрату ею соответствующей функции.

### **Заключение**

Установлено, что при изменении частоты потребления пищи формируется своеобразный «порочный» круг, когда, с одной стороны, для сохранения изменяющегося нутрициологического статуса требуется адекватная обеспеченность макро- и микронутриентами, с другой, невозможность осуществления этого только за счет стандартных рационов питания, без значительного увеличения объемов потребляемой пищи.

Показано, что при дисбиозе кишечника существенно меняется микробный пейзаж внутренней среды кишечника, что нарушает пищеварительные процессы, оказывая повреждающее действие на кишечную стенку. Нарушенная кишечная микрофлора оказывает негативное воздействие на организм, усиливает кишечное брожение, выработку токсинов и, в итоге, отрицательно сказывается на эффективности ЖКТ, обменных процессах в организме.

Превышение функциональных возможностей системы пищеварения переварить и ассимилировать постоянно поступающую пищу даже в обычных количествах (восьмиразовое кормление), приводит к дефициту питательных веществ и требует адекватной коррекции, которую необходимо проводить с учетом систем мембранного и полостного пищеварения, а также реакции кишечной микрофлоры в этих процессах и частоты приема пищи.

Перестройку в нормальной микрофлоре можно использовать как критерий для суждения о состоянии здоровья, его явных и скрытых нарушениях, о позитивных и негативных тенденциях в развитии патологического процесса и адекватности проводимой терапии. Громоздкость бактериологического анализа фекальной микрофлоры практически исключало такую возможность, тем более что наблюдение необходимо было вести в динамике, поэтому внедрение, предложенного нами теста позволит оперативно корректировать состояние кишечной микрофлоры и положительно влиять на состояние здоровья.

### **Выводы**

1. При сравнении групп, различающихся кратностью кормления, установлено, что наиболее оптимальное содержание микрофлоры тонкого кишечника было при трехразовом кормлении, несколько снижено – при одноразовом и выраженное состояние дисбактериоза при восьмиразовом кормлении. При этом:

а) у животных с одноразовым кормлением в среднем количество кишечной палочки составляло от  $1 \times 10^5$  до  $6 \times 10^5$ . Определялись бифидо- и лактобактерии в количестве от 10-100 кл/г и грибки рода *Candida* в пределах 1000 микробных клеток. Отсутствовала условно-патогенная флора за счет бактерицидного действия кишечной палочки.

б) у животных с восьмиразовым кормлением наблюдалось снижение количества облигатной микрофлоры кишечника по совокупности всех ее представителей (бифидо- и лактобактерии), размножение патогенной микрофлоры плазмокоагулирующих стафилококков, протеев, грибков рода *Candida*, условно-патогенных энтеробактерий (*Klebsiella* spp, *Citrobacterspp*, *Enterobacter* spp, *Proteus* spp.).

2. Показано, что время нахождения химуса в желудке укорачивается при одно- и восьмиразовом кормлении, в толстом кишечнике только при восьмиразовом кормлении; увеличивается в тонком и толстом кишечнике при одноразовом кормлении.

При моделировании дисбактериоза время пребывания пищи в желудке и тонком кишечнике возрастает при трехразовом кормлении, уменьшается в толстом кишечнике; при одноразовом кормлении – увеличивается во всех отделах ЖКТ; при восьмиразовом кормлении – укорачивается в тонком и толстом кишечнике. При этом:

а) установлено снижение эффективности мембранного процесса пищеварения при увеличении частоты приема пищи, особенно в случае развития и моделирования дисбактериоза;

б) отклонение от стандартной периодичности приема пищи, особенно на фоне дисбактериоза, приводит к отклонениям в биохимических показателях крови у экспериментальных животных.

3. Разработан метод экспресс-диагностики патологии кишечной микрофлоры.

### **Список опубликованных работ по теме диссертации**

1. Мохаммад Валид Зиб. Роль и значение микрофлоры кишечника в качестве не специфического барьера организма человека /Мохаммад Валид Зиб //Здравоохранение Кыргызстана. – 2009. – № 3. – С. 8-10.
2. Мохаммад Валид Зиб. Роль мембранного и полостного пищеварения при различных режимах питания /Мохаммад Валид Зиб, Тухватшин Р.Р. //Современные проблемы теории и практики физической культуры и спорта: Матер. III Межд. конф. «Современные проблемы теории и практики физической культуры и спорта». – Бишкек, 2010. – С. 100-102.
3. Мохаммад Валид Зиб. Влияние модифицированного коровьего молозива на иммунологические и биохимические показатели ротовой жидкости у лиц с заболеваниями тканей пародонта /Мохаммад Валид

- Зиб, Атаканова З. А., Амираев У. А. //Здравоохранение Кыргызстана. – 2010. – № 3. – С. 68-72.
4. Мохаммад Валид Зиб. К вопросу о механизмах развития дисбактериоза /Мохаммад Валид Зиб, Матюшков П.И., Дворник М.И., Жылкычиева Ч.С. // Известия вузов. – Бишкек, 2010. – № 3. – С. 36-40
  5. Мохаммад Валид Зиб. Роль сбалансированного питания при оценке мембранного и полостного пищеварения в различных режимах питания /Мохаммад Валид Зиб, Тухватшин Р.Р., Джумаев Р. //Медицина Кыргызстана. – 2010. – № 5. – С. 98-102.
  6. Мохаммад Валид Зиб. Качественные и количественные изменения микрофлоры кишечника при различной кратности приема пищи /Мохаммад Валид Зиб //Вестник КРСУ. – 2011. – т. 11. – № 1. – С. 160-162.
  7. Мохаммад Валид Зиб. Экспресс метод диагностики состояния кишечной микрофлоры по уробилиногену /Мохаммад Валид Зиб //Вестник Кыргызской государственной медицинской академии им. И.К. Ахунбаева. – 2011. – № 1. – С. 7-9.