

УДК 616.37/Д48

О.В.Ткачук,**М.А.Повар,****С.С.Ткачук,****А.А.Галагдина,****В.Ф.Мислицький**

Вищий державний навчальний заклад України "Буковинський державний медичний університет", м. Чернівці

**МІКРОБНА ЕКОЛОГІЯ СЛИЗОВИХ
ОБОЛОНОК ТРАВНОГО ТРАКТУ ЩУРІВ
ІЗ ВІДСТРОЧЕНИМИ НАСЛІДКАМИ
ДВОБІЧНОГО ПОРУШЕННЯ КРОВООБІГУ
В БАСЕЙНІ СОННИХ АРТЕРІЙ
(ПОВІДОМЛЕННЯ ПЕРШЕ - ЯКІСНИЙ
СКЛАД МІКРОФЛОРИ)****Ключові слова:** каротидна ішемія-реперфузія, травний тракт, порожнина та мукозна мікрофлора, дисбактеріоз.**Резюме.** Досліджено вплив каротидної ішемії-реперфузії на мікробну екологію слизової оболонки ротової порожнини, тонкої та товстої кишки щурів. Встановлено, що на 12-ту добу ішемічно-реперфузійного періоду в загальному препараті всіх відділів слизової формується дисбактеріоз (дисбіоз) з елімінацією та вираженим дефіцитом автохтонних облигатних фізіологічно корисних мікроорганізмів та контамінацією автохтонними патогенними та умовно патогенними бактеріями і дріжджоподібними грибами роду *Candida*, які досягають високого популяційного рівня.**Вступ**

Травний тракт має найбільшу поверхню слизової оболонки і є основним місцем багатогранних взаємодій між імунною системою останньої і компонентами кишкової мікрофлори [5]. Відомо, що нормальна мікрофлора слизових оболонок бере активну участь у формуванні адаптивного імунітету [3, 5]. З іншого боку, мікрофлора кишечника сьогодні розглядається як центральний регулятор багатьох нейрофізіологічних функцій через свою здатність впливати на нейрохімію завдяки секреції нейроактивних молекул і модуляції імунних і запальних реакцій [6, 7, 8, 10, 11].

Продемонстрована роль мікрофлори кишечника в перебігу ішемічних інсультів [9, 13, 14]. Показана можливість транспорту Т-клітин кишечника до мозкових оболонок. Відомим фактом є здатність транслокації Т-клітин кишечника до позакишкових лімфатичних вузлів і селезінки, але дані останніх років свідчать, що після інсульту ці клітини можуть переважно накопичуватися в оболонках мозку [4]. Крім того, мікробіота травного тракту регулює проникність гематоенцефалічного бар'єру, яка порушується при інсультах [12]. Таким чином, дані про вплив мікробіоти травного тракту на перебіг інсультів незаперечні, але зворотні ефекти порушення церебрального кровообігу на стан мікробіоти травного тракту досліджений недостатньо.

Мета дослідження

Здійснити якісний аналіз стану мікробіоти приєпітеліальної біоплівки ротової порожнини, тон-

кого та товстого кишечника на 12-ту добу після двобічної каротидної ішемії-реперфузії.

Матеріал і методи

Контрольні дослідження та моделювання порушення кровообігу в басейні сонних артерій виконано на самцях білих лабораторних щурів віком шість міс. Ішемію мозку відтворювали шляхом припинення кровотоку по загальних сонних артеріях упродовж 20 хв. У щурів контрольної групи виконували всі втручання до етапу оклюзії сонних артерій. Експеримент та евтаназію здійснювали під каліпсоловим наркозом (70 мг/кг маси тіла) враховуючи міжнародні принципи Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985), ухвалу Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2000). Тварин виводили з експерименту на 12-ту добу постішемічного періоду з урахуванням часу, необхідного для формування дисбіозу та автоімунної патології.

Показники мікрофлори визначали шляхом бактеріологічного та мікологічного дослідження з подальшим розрахунком індексу постійності, частоти зустрічання, коефіцієнта кількісного домінування та значущості кожного виду (родини) мікроорганізму в мікробіоценозі загального препарату порожнини рота, тонкої та товстої кишки [1, 2].

Статистичну значимість відмінностей оцінювали за t-критерієм Стьюдента для незалежних виборок. Дані представлені у вигляді середніх арифметичних та стандартного відхилення.

© О.В.Ткачук, М.А.Повар, С.С.Ткачук, А.А.Галагдина, В.Ф.Мислицький, 2016

Обговорення результатів дослідження

Результати вивчення якісного складу мікробіоти приєпітеліальної біологічної плівки слизової оболонки ротової порожнини після каротидної ішемії-реперфузії наведені в табл. 1. За кількістю виділених штамів, індексом постійності та частотою зустрічання константними мікроорганізмами, що персистують на слизовій оболонці ротової порожнини щурів після даного втручання залишилися аеробні транзиторні стрептобацили,

коагулазонегативні стафілококи, сарцини. Стали константними дріжджоподібні гриби роду *Candida*; часто зустрічаються лактобактерії і коагулазопозитивні стафілококи.

Через 12 діб після моделювання каротидної ішемії-реперфузії відбувається елімінація зі слизової оболонки ротової порожнини пропіоновокисних бактерій, лактобактерій (у 2 із 5 тварин), сарцин (у 2 із 5 тварин), коагулазонегативних стафілококів.

Таблиця 1

Видовий склад мікрофлори слизової оболонки ротової порожнини щурів після каротидної ішемії-реперфузії

Мікроорганізми	Каротидна ішемія (n=5)			Контроль (n=5)			p
	Виділено штамів	Індекс постійності	Частота зустрічання	Виділено штамів	Індекс постійності	Частота зустрічання	
1. Облігатні анаеробні бактерії							
Лактобактерії	3	60,0	0,13	4	80,0	0,19	<0,05
Пропіоновокисні бактерії	0	-	-	2	40,0	0,10	
2. Факультативні анаеробні та аеробні бактерії							
Сарцини	4	80,0	0,17	5	100,0	0,24	<0,05
Коагулазонегативні стафілококи	5	100,0	0,21	5	100,0	0,24	-
Коагулазопозитивні стафілококи	3	60,0	0,13	0	-	-	-
Стрептобацили	4	80,0	0,17	4	80,0	0,19	-
Ешерихії	3	60,0	0,13	0	-	-	-
Дріжджоподібні гриби роду <i>Candida</i>	2	40,0	0,08	0	-	-	-

Примітки: p – достовірність змін у групах порівняння

тивних стафілококів (у 1 із 5 тварин) та настає її контамінація умовно патогенними коагулазопозитивними стафілококами, дріжджоподібними грибами роду *Candida* та ешерихіями.

Результати вивчення видового складу мікробіоти загального препарату тонкої кишки в щурів із відстроченими наслідками каротидної ішемії-реперфузії наведені в табл. 2. За даними індексу постійності та частоти зустрічання константними мікроорганізмами, що персистують у тонкій кишці (мікроорганізми порожнини та слизової оболонки приєпітеліальної біологічної плівки) щурів даної групи стають автохтонні облігатні лактобактерії, біфідобактерії; бактероїди, кишкова паличка, а також факультативні патогенні (ентеротоксичні ешерихії) та умовно патогенні (клебсіели, протей, ентеробактер) ентеробактерії, бактерії роду *Clostridium*, стафілококи, пептокок. Нечасто в цьому біотопі зустрічаються дріжджоподібні гриби роду *Candida*.

Ці зміни супроводжуються елімінацією автох-

тонних облігатних біфідобактерій (у двох із п'яти тварин), еубактерій, пептострептококів, ентерококів, аеробних стрептобацил, що проявляють антагоністичну активність щодо патогенних та умовно патогенних мікроорганізмів, унаслідок чого настає контамінація тонкої кишки невластивими для цього біотопу патогенними ентеробактеріями (клебсієлами, протейями, ентеробактером), пептококом, бактеріями роду *Clostridium*, стафілококами та дріжджоподібними грибами роду *Candida*, що свідчить про дисбаланс видового складу мікрофлори тонкої кишки.

Що стосується товстої кишки, то на 12-ту добу ішемічно-реперфузійного періоду у всіх експериментальних тварин настає елімінація з приєпітеліальної біологічної плівки біфідобактерій, еубактерій, пептострептококів, у більшості (у трьох із п'яти) тварин елімінують також лактобактерії (табл. 3).

На тлі елімінації фізіологічно корисних бактерій вільне місце на слизовій оболонці товстої

Таблиця 2

Видовий склад мікрофлори загального препарату тонкої кишки тварин із відстроченими наслідками ішемії-реперфузії головного мозку

Мікроорганізми	Ішемія-реперфузія мозку (n=5)			Контроль (n=10)			P
	Виділено штамів	Індекс постійності	Частота зустрічання	Виділено штамів	Індекс постійності	Частота зустрічання	
1. Облігатні анаеробні бактерії							
Біфідобактерії	3	60,0	0,07	10	100,0	0,18	0,05
Лактобактерії	5	100,0	0,11	10	100,0	0,18	0,05
Еубактерії	0	-	-	2	20,0	0,04	-
Бактероїди	5	100,0	0,11	10	100,0	0,18	0,05
Пептокок	3	60,0	0,07	0	-	-	-
Пептострептококи	0	-	-	4	40,0	0,07	-
Бактерії роду Clostridium	5	100,0	0,11	0	-	-	-
2. Факультативні анаеробні та аеробні бактерії							
Кишкова паличка	5	100,0	0,11	7	70,0	0,13	>0,05
E. coli Hly ⁺	5	100,0	0,11	0	-	-	-
Клебсієли	3	60,0	0,07	0	-	-	-
Ентеробактер	2	40,0	0,04	0	-	-	-
Протеї	3	60,0	0,07	0	-	-	-
Ентерококи	0	-	-	7	70,0	0,13	-
Стрептобацили	0	-	-	8	80,0	0,14	-
Стафілококи	5	100,0	0,11	2	20,0	0,04	<0,05
Дріжджоподібні гриби роду Candida	1	20,0	0,02	0	-	-	-

Примітки: p – достовірність змін у групах порівняння

Таблиця 3

Видовий склад мікрофлори слизової оболонки товстої кишки у щурів на 12-ту добу ішемічно-реперфузійного пошкодження головного мозку

Мікроорганізми	Основна група (n=5)			Контроль (n=10)			P
	Виділено штамів	Індекс постійності	Частота зустрічання	Виділено штамів	Індекс постійності	Частота зустрічання	
1. Анаеробні бактерії							
Біфідобактерії	0	-	-	9	90,0	0,22	
Лактобактерії	2	40,0	0,05	10	100,0	0,24	p<0,05
Еубактерії	0	-	-	2	20,0	0,05	
Бактероїди	5	100,0	0,13	6	60,0	0,15	p<0,05
Пептокок	2	40,0	0,05	0	-	-	-
Пептострептококи	0	-	-	3	30,0	0,07	
Бактерії роду Clostridium	5	100,0	0,13	1	10	0,02	p<0,05
2. Аеробні та факультативно анаеробні мікроорганізми							
Кишкова паличка	5	100,0	0,13	10	100,0	0,24	
E. Coli Hly ⁺	5	100,0	0,13	0	-	-	-
Клебсієли	3	60,0	0,08	0	-	-	-
Ентеробактерії	2	40,0	0,05	0	-	-	-
Протеї	3	60,0	0,08	0	-	-	-
Стафілококи	5	100,0	0,13	0	-	-	-
Дріжджоподібні гриби роду Candida	2	40,0	0,05	0	-	-	-

Примітки: p – достовірність змін у групах порівняння

кишки займають патогенні (ентеротоксичний ешерихій) та умовно патогенні (клебсієли, протеї, ентеробактерії) бактерії, стафілококи, пептокок, клостридії, бактероїди та дріжджоподібні гриби роду *Candida*, що свідчить про глибокі порушення якісного стану мікробіоти приєпітеліальної біологічної плівки даного біотопу.

Висновки

На 12-ту добу після моделювання каротидної ішемії-реперфузії в загальному препараті всіх досліджених відділів травного тракту формується дисбактеріоз (дисбіоз) з елімінацією та вираженим дефіцитом автохтонних облигатних фізіологічно корисних мікроорганізмів та контамінацією автохтонними патогенними та умовно патогенними бактеріями і дріжджоподібними грибами роду *Candida*.

Перспективи подальших досліджень

Планується вивчення впливу пробіотиків на перебіг ішемічно-реперфузійного пошкодження головного мозку.

Література. 1.Лабораторные тесты. Микробиологическая и вирусологическая диагностика / под. Ред. Турьянова М.Х. - Ч.1. - М.: Каппа, 1995. - 144 с. 2.Основные методы лабораторных исследований в клинической бактериологии / Руководство ВОЗ.- Женева, 1994. - 132 с. 3. Commensal bacteria (normal microflora), mucosal immunity and chronic inflammatory and autoimmune diseases / H. Tlaskalova-Hogenova, R. Stepankova, T. Hudcovic [et al.] / Immunol. Lett. - 2004. - Vol.93, №2-3. - P. 97-108. 4. Commensal microbiota affects ischemic stroke outcome by regulating intestinal $\gamma\delta$ T cells / C. Benakis, D. Brea, S. Caballero [et al.] // Nat. Med. - 2016. - Vol.22, №5. - P. 516-523. 5. Feng T. Adaptive immunity in the host-microbiota dialog / T. Feng, C.O. Elson // Mucosal Immunol. - 2011. - Vol.4, №1. - P. 15-21. 6. Gut, bugs, and brain: role of commensal bacteria in the control of central nervous system disease / J. Ochoa-Repáraz, D.W. Mielcarz, S. Begum-Haque, L.H. Kasper // Ann. Neurol. - 2011 - Vol.69, №2. - P.240-247. 7. Host microbiota constantly control maturation and function of microglia in the CNS / D. Erny, A. Lena, H. de Angelis [et al.] // Nat. Neurosci. - 2015. - Vol.18, №7. - P. 965-977. 8. Modulatory Effects of Gut Microbiota on the Central Nervous System: How Gut Could Play a Role in Neuropsychiatric Health and Diseases / S. S. Yarandi, D. A. Peterson, G. J. Treisman [et al.] // Neurogastroenterol. Motil. - 2016. - Vol.22, №2. - P. 201-212. 9. Mu C. Gut Microbiota: The Brain Peacekeeper / C. Mu, Y. Yang, W. Zhu // Front Microbiol. - 2016. - Vol.7. - P. 345. 10. Normal gut microbiota modulates brain development and behavior / R.D. Heijtz, S. Wang, F. Anuar [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. - 2011. - Vol.108, №7. - P. 3047-3052. 11. Reduced anxiety-like behavior and central neurochemical change in germ-free mice / K.M. Neufeld, N. Kang, J. Bienenstock, J.A. Foster // Neurogastroenterol. Motil. - 2011. - Vol.23, №3. - P. 255-264. 12. The gut microbiota influences blood-brain barrier permeability in mice /

V. Braniste, M. Al-Asmakh, C. Kowal [et al.] // Sci. Transl. Med. - 2014. - Vol. 6, Iss. 263. - P. 158-263. 13. The role of microbiome in central nervous system disorders / Y. Wang, L. H. Kasper // Brain Behav. Immun. - 2014. - Vol.38. - P. 1-12. 14. Winek K. Gut microbiota impact on stroke outcome: Fad or fact? / K. Winek, A. Meisel, U. Dirnagl // J. Cereb. Blood Flow Metab. - 2016. - Vol.36, №5. - P. 891-898.

МИКРОБНАЯ ЭКОЛОГИЯ СЛИЗИСТЫХ ОБОЛОЧЕК РАЗЛИЧНЫХ ОТДЕЛОВ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА КРЫС С ОТСРОЧЕННЫМИ ПОСЛЕДСТВИЯМИ ДВУСТОРОННЕГО НАРУШЕНИЯ КРОВООБРАЩЕНИЯ В БАСЕЙНЕ СОННЫХ АРТЕРИЙ (СООБЩЕНИЕ ПЕРВОЕ - КАЧЕСТВЕННЫЙ СОСТАВ МИКРОФЛОРЫ)

*А.В. Ткачук, М.А.Повар, С.С.Ткачук, А.А.Галагдина,
В.Ф.Мыслицкий*

Резюме. Исследовано влияние каротидной ишемии-реперфузии на микробную экологию слизистой оболочки полости рта, тонкой и толстой кишки. Показано, что на 12-е сутки ишемически-реперфузионного периода в общем препарате всех отделов формируется дисбактериоз (дисбиоз) с элиминацией и выраженным дефицитом аутохтонных облигатных физиологически полезных бактерий и контаминацией аутохтонными патогенными бактериями и дрожжеподобными грибами рода *Candida*, которые достигают высокого популяционного уровня.

Ключевые слова: каротидная ишемия-реперфузия, пищеварительный тракт, полостная и мукозная микрофлора, дисбактериоз.

MICROBE ECOLOGY OF THE MUCOUSE MICROFLORA OF THE DIFFERENT PARTS OF DIGESTIVE TRACT IN RATS WITH LONG-TERM EFFECTS OF CIRCULATORY DISORDERS IN BASIN CAROTID ARTERIES (FIRST MESSAGE - THE QUALITATIVE COMPOSITION OF MICROFLORA)

*O.V. Tkachuk, M.A. Povar, S.S. Tkachuk, A.A. Galagdina,
V.F. Myslytskyi*

Abstract. The effect of carotid ischemia-reperfusion on the microbial ecology of the oral mucosa, small intestine and colon has been studied. It was shown that on the 12th day after carotid ischemia-reperfusion in the general specimen of the all parts of digestive tract there formed dysbacteriosis (dysbiosis) with elimination and significant deficit of autochthonous obligate physiologically most useful bacteria, contamination by autochthonous pathogenic and conditionally pathogenic bacteria and yeasts of *Candida* genus, which rich a high population level.

Key words: carotid ischemia-reperfusion, digestive tract, cavitary and mucous microflora, dysbacteriosis.

Higher State Educational Establishment of Ukraine "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi

Clin. and experim. pathol. - 2016. - Vol.15, №2(56).p.1. - P.167-170.

Надійшла до редакції 10.04.2016

Рецензент – проф. І.Й. Сидорчук

*© О.В.Ткачук, М.А.Повар, С.С.Ткачук, А.А.Галагдина,
В.Ф.Мыслицкий, 2016*