

МІКРОБІОЛОГІЯ

© Литвиненко О. А.

УДК 576. 524:612. 335-056. 257

Литвиненко О. А.

АДГЕЗИВНІ ВЛАСТИВОСТІ МІКРОФЛОРИ, ВИДІЛЕНОЇ З КИШКІВНИКА У ОСІБ З ОЖИРІННЯМ

Державна установа «Інститут мікробіології та імунології

ім. І. І. Мечникова НАМН України»

(м. Харків)

Робота виконана в рамках планової НДР лабораторії біохімії мікроорганізмів та поживних середовищ ДУ «Інститут мікробіології і імунології ім. І. І. Мечникова Національної академії медичних наук України» «Дослідження ролі мікрофлори дистальних відділів кишкового тракту в підтримці оксидатного гомеостазу» НАМН 113/2013, № держ. реєстрації 0113U001519.

Вступ. За даними епідеміологічних досліджень в Україні більше половини дорослого населення страждає від надмірної ваги [1]. На основі останніх наукових даних ожиріння є лідируючим фактором ризику розвитку артеріальної гіпертензії, ішемічної хвороби серця, цереброваскулярної патології. У хворих з надмірною вагою зростає ризик розвитку цукрового діабету 2 типу, дисліпідемії, синдрому апное у ві сні, шлунково – стравохідного рефлексу, жовчно – кам'яної хвороби, репродуктивної дисфункції, деформуючого остеоартрозу, хронічної венозної недостатності нижніх кінцівок, деяких форм раку [2]. Протягом останнього десятиліття проведено декілька наукових досліджень спрямованих на вивчення ролі мікрофлори в процесах метаболізму макроорганізму. В 2007р. P. D. Cani з співав. висунув гіпотезу, згідно якій грамнегативні бактерії діють як тригери хронічного запалення низького ступеню активності і сприяють розвитку метаболічного синдрому на фоні багатой жириями дієти [5]. Більшість бактерій, що колонізують кишківник, відносяться до категорії умовно – патогенної мікрофлори. Але поняття «умовна» і «безумовна» патогенність в більшості утилітарні, і грань між ними не завжди переконлива. В зв'язку з цим вивчення біологічних властивостей мікрофлори може допомогти в розв'язанні питань патогенності. «Колонізація» означає закріплення (адгезію) та подальше розмноження мікроорганізмів, її вивчення має велику значення на розумінні взаємодії бактерій з рецепторами епітеліоцитів [3].

Мета дослідження – вивчити адгезивні властивості мікрофлори кишківника у осіб з різними ступенями ожиріння.

Об'єкт і методи дослідження. Об'єктом дослідження були 227 штамів мікроорганізмів, вилучених від осіб з різними ступенями ожиріння: E. Colli – 46 штамів, Enterobacter spp. – 27 штамів, Bifidobacterium

spp. – 54 штамів, Lactobacillus spp. – 48 штамів, Enterococcus spp. – 40 штамів, Candida spp. – 22 штамів. Також досліджено 63 штамів від контрольної групи з нормальною вагою: E. Colli – 12 штамів, Enterobacter spp. – 9 штамів, Bifidobacterium spp. – 12 штамів, Lactobacillus spp. – 10 штамів, Enterococcus spp. – 16 штамів, Candida spp. – 4 штамів. Адгезивні властивості мікроорганізмів вивчали за двома методами: на формалінованих еритроцитах людини 0 (I) Rh (+) групи крові за розгорнутим методом В. І. Бріліс із спів. та на букальних епітеліоцитах за методом Goldmana D., Goetzl E. у модифікації Маянського А. Н. [4]. Адгезивні властивості оцінювали за такими критеріями: середній показник адгезії (СПА), тобто середня кількість мікроорганізмів, що прикріпились до одного еритроцита, при підрахунку 50 еритроцитів або 50 клітин букального епітелію; коефіцієнт участі еритроцитів/букальних клітин (КУЕ/КУБК) – відсоток еритроцитів (букальних клітин), які мають на поверхні адгезовані мікроорганізми. Визначали ці показники на п'ятдесяти еритроцитах (букальних епітеліоцитах), продивляючись все предметне скло. ІАМ (індекс адгезивності мікроорганізмів) – це середня кількість мікробних клітин, адгезованих на одному еритроциті або клітині букального епітелію, що бере участь в адгезивному процесі. Розрахунок показника проводили за формулою $ІАМ = СПА * 100 / КУЕ$. При ІАМ менше 1,75 мікроорганізми вважають неадгезивними; при ІАМ від 1,76 до 2,49 – низько адгезивними, при 2,51 – 4,0 – середньо адгезивними, при ІАМ більше 4,0 – високо адгезивними.

Отримані результати підлягали статистичній обробці загальноприйнятними методами статистики з використанням значень середнього арифметичного (M), помилки середнього арифметичного (m). Формування бази даних і їх статистичний аналіз проведено з використанням спеціалізованої комп'ютерної програми Statistika 10.0 та MS Excel 2007.

Результати досліджень та їх обговорення. В ході проведених досліджень було встановлено, що адгезивні властивості мікроорганізмів, виділених від людей з надмірною вагою та адгезивні властивості мікроорганізмів, виділених від людей з нормальною

Адгезивні властивості мікрофлори кишківника

Мікроорганізми	Адгезія мікроорганізмів виділених від осіб з ожирінням на формалізованих еритроцитах			Адгезія мікроорганізмів виділених від осіб з ожирінням на клітинах букального епітелію			Адгезія мікроорганізмів виділених від контрольної групи на формалізованих еритроцитах			p
	СПА	КУЕ	IAM	СПА	КУБК	IAM	СПА	КУЕ	IAM	
Enterococcus spp.	1,87±0,68	82,05±1,13	2,21±0,54	4,55±1,80	96,35±5,97	4,65±1,69	2,26±0,46	86,38±7,84	2,60±0,34	≥0.05
Lactobacillus spp.	3,66±1,19	96,0±0,81	3,84±1,15	4,24±1,79	94,75±9,18	4,37±1,07	2,31±0,33	93,40±2,99	2,43±0,32	≥0.01
Bifidobacterium spp.	1,87±0,53	87,04±0,62	2,13±0,49	2,33±0,77	90,15±7,08	2,55±0,65	2,34±0,32	91,50±6,04	2,56±0,4	≥0.01
E. coli	2,91±1,17	90,96±0,52	3,15±1,11	3,73±1,52	95,09±5,49	3,87±1,42	2,15±0,38	92,83±4,39	2,31±0,32	≥0.05
Enterobacter spp.	4,15±1,03	97,54±0,35	4,25±0,96	4,86±1,89	98,82±1,89	4,91±1,15	2,38±0,48	94,04±3,43	2,51±0,43	≥0.001
Candida spp.	-	-	-	1,32±0,53	76,50±0,13	1,67±0,43	1,67±0,49	84,0±10,58	1,95±0,32	≤0.05

Примітка: Candida spp. адгезивні властивості визначались на букальному епітелію.

вагою мають відмінності. Так IAM ентерококів, виділених від пацієнтів з ожирінням, склав 2,21±0,54, а IAM ентерококів, виділених від контрольної групи, склав 2,60±0,34. IAM лактобактерій, виділених від осіб з надмірною вагою був дещо вищий, ніж у осіб з нормальною вагою, відповідно 3,84±1,15 проти 2,43±0,32. Біфідобактерії, які виділені з кишківника осіб з ожирінням мали більш низький IAM – 2,13±0,49, в порівнянні з контрольною групою -2,56±0,4. Відмічається підвищення адгезивних властивостей E. coli та Enterobacter spp. відповідно 3,15±1,11 і 4,25±0,96 в порівнянні з контрольною групою, де IAM E. coli складав 2,31±0,32 та IAM Enterobacter spp. складав 2,51±0,43. Простежувався зворотній кореляційний зв'язок між кількістю і адгезивними властивостями лакто- і біфідобактерій. Так коефіцієнти кореляції склали відповідно -0,75 і -0,73, що можна пояснити реакцією пристосування нормальної мікрофлори кишківника в умовах міжвидової боротьби за існування. Наприклад, у лактобактерій, виділених від осіб з ожирінням, відмічається збільшення IAM на фоні зменшення їх загальної кількості. У грамнегативної мікрофлори та ентерококів достовірний кореляційний зв'язок кількості і адгезії був відсутній (табл.).

В результаті ряду проведених експериментів було виявлено, що IAM до букального епітелію був дещо вищий, ніж до еритроцитів. Так, наприклад, IAM ентерококів до еритроцитів склав 2,21±0,54, що відносить їх до середньо адгезивних штамів, а IAM до букального епітелію склав 4,65±1,69, що свідчить про високу адгезивність дослідних штамів. При цьому слід відмітити високу ступінь кореляційного зв'язку між адгезією на клітинах букального епітелію та адгезією на еритроцитах. Так у лактобактерій, біфідобактерій та ешеріхій, коефіцієнти лінійної кореляції склали

відповідно 0,82, 0,73 та 0,84, а у ентеробактера та ентерокока цей коефіцієнт склав 0,64 і 0,52, що свідчить про середню ступінь зв'язку (табл.).

Висновки.

1. Характер харчування людини має вплив на формування адгезивних властивостей мікроорганізмів, що колонізують кишківник.

2. У осіб з ожирінням відмічається збільшення здатності до адгезивного процесу грамнегативних мікроорганізмів кишківника, що свідчить на користь ствердження про участь грамнегативної мікрофлори в формуванні хронічного запалення низького ступеню активності у людей з надмірною вагою.

3. Мікрофлора кишківника проявляє більш виражені адгезивні властивості до букального епітелію, ніж до еритроцитів, що в свою чергу свідчить про пріоритет дослідження адгезивних властивостей, відповідно, на букальному епітелії. Більш висока адгезія на букальних епітеліюцитах пояснюється великими розмірами клітин в порівнянні з еритроцитами. Тобто у одного букального епітеліюцита більша площа для адгезії мікроорганізмів. Також не слід нехтувати спорідненістю букального і кишкового епітелію, як природних умов існування доліджуваної мікрофлори. Слід відмітити, що букальний епітелій більш доступний для дослідження ніж еритроцити.

Перспективи подальших досліджень. В наш час відомості про вплив мікрофлори на формування ожиріння досить обмежені. Тим більш роль грамнегативної мікрофлори в формуванні хронічного запалення низького ступеню активності мало вивчена й має вигляд гіпотези, що потребує подальшого дослідження. В цьому плані має значення вивчення інших факторів патогенності мікроорганізмів в зв'язку з проявами запальних реакцій організму у осіб з надмірною вагою.

Література

1. Горбась І. М. Фактори ризику серцево-судинних захворювань: поширеність і контроль / І. М. Горбась // Здоров'я України. – 2007. -№ 21/1 (додатковий). – С. 62-63.
2. Ковалева О. Н. Проблема ожирения с позиции кардиологии / О. Н. Ковалева // Здоров'я України. – 2006. – № 22/1. – Код доступа <http://health-ua.com/articles/1485.html>.

3. Маянский А. Н. Микробиология для врачей / А. Н. Маянский. – Нижний Новгород : НГМА, 1999. – 393 с.
4. Осолодченко Т. П. Адгезивні властивості мікроорганізмів та методи їх визначення. Методичні рекомендації / Т. П. Осолодченко, О. В. Порт, І. В. Кучма [та ін.]. – Київ : Знання України, 2009. – 19 с.
5. Cani P. D. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance / P. D. Cani, J. Amar, M. A. Iglesias [et al.] // *Diabetes*. – 2007. – Vol. 56 (7). – P. 1761–1772.

УДК 576. 524:612. 335-056. 257

АДГЕЗИВНІ ВЛАСТИВОСТІ МІКРОФЛОРИ, ВИДІЛЕНОЇ З КИШКІВНИКА У ОСІБ З ОЖИРІННЯМ

Литвиненко О. А.

Резюме. В роботі представлені результати дослідження адгезивних властивостей мікрофлори, виділеної з кишківника осіб з ожирінням. Встановлено, що грамнегативна мікрофлора кишківника у цієї категорії населення характеризується середньо і високо адгезивними властивостями. В свою чергу, отримані дані можуть свідчити на користь участі грамнегативної мікрофлора кишківника в формуванні запалення низького ступеню активності у осіб з надмірною вагою. Представлено аналіз порівняння адгезивної здатності мікрофлори на буккальному епітелії та адгезії на еритроцитах. Адгезія мікроорганізмів до буккального епітелію була вища ніж до еритроцитів.

Ключові слова: адгезивні властивості, мікрофлора кишківника, ожиріння.

УДК 576. 524:612. 335-056. 257

АДГЕЗИВНЫЕ СВОЙСТВА МИКРОФЛОРЫ, ВЫДЕЛЕННОЙ ИЗ КИШЕЧНИКА У ЛИЦ С ОЖИРЕНИЕМ

Литвиненко О. А.

Резюме. В работе представлены результаты исследования адгезивных свойств микрофлоры, выделенной из кишечника лиц с ожирением. Установлено, что грамотрицательная микрофлора кишечника у этой категории населения характеризуется средне и высоко адгезивными свойствами. В свою очередь, полученные данные могут свидетельствовать в пользу участия грамотрицательной микрофлоры кишечника в формировании воспаления низкой степени активности у лиц с избыточным весом. Представлен анализ сравнения адгезивной способности микрофлоры на буккальном эпителии и адгезии на эритроцитах. Адгезия микроорганизмов к буккальному эпителию была выше чем к эритроцитам.

Ключевые слова: адгезивные свойства, микрофлора кишечника, ожирение.

UDC 576. 524:612. 335-056. 257

Adhesive Properties of the Microflora of the Intestine of Obese People

Litvinenko O. A.

Abstract. According to the latest scientific data, obesity is a leading risk factor for hypertension, ischemic heart disease, cerebrovascular disease. In 2007 P. D. Cani et al. suggested a hypothesis, according to which Gram-negative bacteria act as triggers of chronic inflammation of low level activity and aid the development of metabolic syndrome on the background of the ketogenic diet. In this regard, the study of the biological properties of the microorganisms, particularly such as adhesion, can help to solve the issues of pathogenicity.

The aim of the research is to study the adhesive properties of the intestinal microflora in patients with different degrees of obesity.

The object and methods of the research. 227 strains of microorganisms from patients with various degrees of obesity were the object of the research: *E. Colli* – 46 strains, *Enterobacterspp.* – 27 strains, *Bifidobacterium spp.* – 54 strains, *Lactobacillus spp.* – 48 strains, *Enterococcus spp.* – 40 strains, *Candida spp.* – 22 strains. Also, the 63 strains from the control group with normal weight were studied: *E. Colli* – 12 strains, *Enterobacterspp.* – 9 strains, *Bifidobacterium spp.* – 12 strains, *Lactobacillus spp.* – 10 strains, *Enterococcus spp.* – 16 strains, *Candida spp.* – 4 strains. Adhesive properties of microorganisms were studied by two methods: on formalinized human erythrocytes O (I) Rh (+) blood group according to the detailed method by V. I. Brilis et al. and on the buccal epitheliocytes according to the method of Goldman D., Goetz I. E. modified by A. N. Mayansky.

Results and discussion. IAM of enterococci from patients with obesity was 2.21 ± 0.54 , and IAM of enterococci from the control group was 2.60 ± 0.34 . IAM of lactobacilli from people with overweight was slightly higher than from those with normal weight, respectively 3.84 ± 1.15 vs 2.43 ± 0.32 . Bifidobacteria from the intestine of people with obesity had lower IAM – 2.13 ± 0.49 , in comparison with the control group -2.56 ± 0.4 . There is an increase in adhesive properties of *E. coli* and *Enterobacterspp.* 3.15 ± 1.11 and 4.25 ± 0.96 respectively, in comparison with the control group, where IAM of *E. coli* was 2.31 ± 0.32 and IAM of *Enterobacterspp.* was 2.51 ± 0.43 . An inverse correlation between the number and adhesive properties of lakt- and bifidobacteria is traced. Correlation coefficients were -0.75 and -0.73 respectively, which can be explained by reaction of adaptation of normal intestinal microflora under the conditions of interspecies competition for existence. Gram-negative microflora and enterococci didn't have trusted correlation relationship of quantity and adhesion.

As a result of a number of experiments, it was found that IAM to the buccal epithelium was slightly higher than to the erythrocytes. For example, IAM of enterococci to erythrocytes was 2.21 ± 0.54 , which relates them to the middle

adhesive strains and IAM to the buccal epithelium was 4.65 ± 1.69 , which indicates a high adhesiveness of experimental strains. The high degree of correlation relationship between adhesion to buccal epithelium cells and adhesion to erythrocytes should be noted. Linear correlation coefficients of lactobacilli, bifidobacteria and Escherichia were 0.82, 0.73 and 0.84 respectively, while the coefficient of Enterobacter and enterococci was 0.64 and 0.52, which indicates the average degree of relationship.

Conclusions. The nature of human nutrition affects the formation of the adhesive properties of microorganisms that colonize the intestine. There is an increase in the adhesive process of gram-negative intestinal microorganisms in people with obesity, which says for the statement that gram-negative microorganisms are involved in the formation of chronic inflammation of low degree of activity in overweight people. The intestinal microflora reveals more pronounced adhesive properties to the buccal epithelium than to erythrocytes, which in turn indicates the priority of the study of adhesive properties on buccal epithelium.

Keywords: adhesive properties, microflora, obesity.

Рецензент – проф. Лобань Г. А.
Стаття надійшла 10. 09. 2014 р.