

УДК 616.37/Д48

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

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 друге - кількісний склад мікрофлори)

Ключові слова: каротидна ішемія-реперфузія, травний тракт, порожнинна та мукозна мікрофлора, дисбактеріоз.

Резюме. Вивчено кількісний склад мікрофлори загального препарату ротової порожнини, тонкої та товстої кишки щурів із відстроченими наслідками ішемії-реперфузії головного мозку. Встановлено, що на 12-ту добу ішемічно-реперфузійного пошкодження головного мозку виникає суттєвий дисбаланс між анаеробними, аеробними і факультативно анаеробними бактеріями; між автохтонними та алохтонними бактеріями та між автохтонними облігатними й факультативними мікроорганізмами, що персистують у загальному препараті слизової порожнини рота, тонкої та товстої кишки.

Вступ

У нашому попередньому повідомленні [1] були охарактеризовані відстрочені ефекти ішемії-реперфузії головного мозку на якісний склад мікрофлори ротової порожнини, тонкої та товстої кишки. Встановлені на 12-ту добу після моделювання каротидної ішемії-реперфузії ознаки дисбактеріозу (дисбіозу) в загальному препараті всіх досліджених відділів травного тракту обґрунтовують доцільність вивчення кількісних взаємовідносин складових мікробіоти вказаних біотопів.

Мета дослідження

Здійснити кількісний аналіз мікробіоти приепітеліальної біоплівки ротової порожнини, тонкого 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 [2]. 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 [3, 4].

Показники мікрофлори визначали шляхом бактеріологічного та мікологічного дослідження з подальшим розрахунком індексу постійності, частоти зустрічання, коефіцієнтів кількісного домінування (ККД) та значущості (КЗ) кожного виду (родини) мікроорганізму в мікробіоценозі загального препарату порожнини рота, тонкої та товстої кишки [5, 6].

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

Обговорення результатів дослідження

Кількісні показники мікрофлори приепітеліальної біологічної плівки слизової оболонки порожнини рота тварин із каротидною ішемією-реперфузією наведені в табл. 1. За популяційним рівнем, ККД та КЗ домінуючими мікроорганізмами приепітеліальної біоплівки ротової порожнини тварин цієї групи, як і в контролі, є аеробні стрептобацили та сарцини, коагулазонегативні стафілококи; статусу домінуючих набувають також умовно патогенні коагулазопозитивні стафілококи та дріжджоподібні гриби роду *Candida*.

За популяційним рівнем встановлено зниження автохтонних облігатних для цього біотопу лактобактерій, пропіоновокислих бактерій, сарцин, коагулазонегативних стафілококів та аеробних стрептобацил. На цьому фоні популяційний рівень мікроорганізмів, що контамінували слизову обо-

Таблиця 1

Популяційний рівень (в Іq КУО/г) мікрофлори слизової оболонки ротової порожнини щурів після каротидної ішемії-реперфузії (М+m)

Мікроорганізми	Каротидна ішемія (n=5)			Контроль (n=5)			Р
	Популяційний рівень	ККД	КЗ	Популяційний рівень	ККД	КЗ	
1. Анаеробні бактерії							
Лактобактерії	3,17+0,07	49,4	0,11	4,21+0,14	75,2	0,18	<0,01
Пропіоновокисні бактерії	0	-	-	3,37+0,04	30,1	0,08	-
2. Аеробні та факультативно анаеробні мікроорганізми							
Сарцини	4,01+0,06	83,3	0,18	4,89+0,09	109	0,26	<0,01
Коагулазонегативні стафілококи	3,94+0,06	102,3	0,21	4,92+0,02	110	0,26	<0,01
Коагулазопозитивні стафілококи	4,11+0,07	64,1	0,14	0	-	-	-
Стрептобацили	4,17+0,05	86,6	0,18	5,00+0,13	89,3	0,21	<0,01
Ешерихії	3,86+0,06	60,2	0,13	0	-	-	-
Дріжджоподібні гриби роду <i>Candida</i>	3,69+0,09	38,3	0,08	0	-	-	-

Примітки: р – достовірність змін порівняно з контролем; ККД – коефіцієнт кількісного домінування; КЗ – коефіцієнт значущості

лонку ротової порожнини, досяг помірного рівня, що демонструє її колонізацію. За популяційним рівнем і ККД коагулазопозитивний стафілокок та умовно патогенні алохтонні для цього біотопу ешерихії стають доміантними. Отже, погіршення кровопостачання слизової оболонки ротової порожнини призводить до змін не лише якісного, але й і кількісного складу мікробіоти в даному біотопі, що підтверджує факт порушення його колонізаційної резистентності.

Згідно даних табл. 2, у загальному препараті тонкої кишки щурів домінуючими бактеріями в контрольних тварин є автохтонні облигатні біфідобактерії, лактобактерії та автохтонні факультативні бактероїди, ентерокок, аеробні стрептобацили та кишкова паличка. У тварин з ішемією-реперфузією головного мозку домінуючими стають автохтонні факультативні бактероїди, кишкова паличка, бактерії роду *Clostridium*, патогенні (ентеротоксичні ешерихії) та умовно патогенні (клебсієли, ентеробактер, протеї) ентеробактерії, стафілококи, пептокок та автохтонні облигатні лактобактерії, що вказує на наявність значного дисбалансу не тільки якісного складу, як показано нами раніше [1], а й кількісних взаємовідносин мікробіоти тонкої кишки. Наведені результати демонструють виражений дефіцит автохтонних облигатних біфідобактерій (на три порядки), лактобактерій (більш, ніж на три порядки), елімінацію ентерококів, еубактерій та пептострептококів. Не виявлено в тонкій кишці тварин цієї групи тран-

зиторних стрептобацил, які мають високу антагоністичну активність стосовно патогенних та умовно патогенних ентеробактерій та ін. На цьому фоні зростає популяційний рівень автохтонних факультативних бактероїдів (на два порядки), кишкової палички (на три порядки) та стафілокока (на чотири порядки). Крім того, контамінують тонку кишку, досягаючи високого популяційного рівня, алохтонні для цього біотопу бактерії, а також патогенні (ентеротоксигенні ешерихії) та умовно патогенні (клебсієли, ентеробактер і протеї) ентеробактерії, бактерії роду *Clostridium* та пептокок.

Кількісні зміни мікрофлори слизової оболонки товстої кишки після ішемічно-реперфузійного ушкодження головного мозку представлено в табл. 3. За популяційним рівнем, ККД та КЗ доміантними мікроорганізмами цього біотопу на 12-ту добу ішемічно-реперфузійного ушкодження головного мозку є бактероїди, кишкова паличка, патогенні та умовно патогенні ентеробактерії, бактерії роду *Clostridium*, стафілококи.

Інші мікроорганізми, наведені в таблиці 3, відіграють мінімальну роль. Отже, ішемія-реперфузія головного мозку спричиняє глибокі порушення кількісних взаємовідносин автохтонних облигатних та факультативних бактерій, що персистують на слизовій оболонці товстої кишки. Крім того, у цьому біотопі з'являються алохтонні для нього патогенні та умовно патогенні ентеробактерії, стафілококи, клостридії, пептокок та

Таблиця 2

Популяційний рівень (в Iq КУО/г) мікрофлори загального препарату тонкої кишки в щурів із відстроченими наслідками ішемії-реперфузії головного мозку (M±m)

Мікроорганізми	Каротидна ішемія (n=5)			Контроль (n=10)			P
	Популяційний рівень	ККД	КЗ	Популяційний рівень	ККД	КЗ	
1. Облігатні анаеробні бактерії							
Біфідобактерії	4,18±0,11	38,6	0,05	7,97±0,21	134,2	0,24	<0,01
Лактобактерії	4,79±0,15	73,7	0,08	8,11±0,17	136,5	0,25	<0,01
Еубактерії	0	-	-	5,07±0,22	17,1	0,03	-
Бактероїди	8,85±0,08	136,2	0,15	6,29±0,18	105,9	0,19	<0,05
Пептокок	7,91±0,18	73,0	0,09	0	-	-	-
Пептострептококи	0	-	-	6,37±0,18	42,9	0,08	-
Бактерії роду Clostridium	7,04±0,06	108,3	0,12	0	-	-	-
2. Факультативні анаеробні та аеробні бактерії							
Кишкова паличка	7,79±0,15	119,8	0,13	4,88±0,27	57,5	0,11	<0,01
E. coli Nly ⁺	6,80±0,20	104,6	0,12	0	-	-	-
Клебсієли	7,61±0,29	70,2	0,08	0	-	-	-
Ентеробактер	7,93±0,15	48,8	0,05	0	-	-	-
Протеї	5,67±0,17	52,3	0,06	0	-	-	-
Ентерококи	0	-	-	6,58±0,27	77,5	0,14	-
Стрептобацили	0	-	-	6,57±0,23	88,5	0,15	-
Стафілококи	5,85±0,09	90,0	0,10	1,65±0,08	5,6	0,01	<0,001
Дріжджоподібні гриби роду Candida	3,60	11,1	0,01	0	-	-	-

Таблиця 3

Популяційний рівень (в Iq КУО/г) мікрофлори слизової оболонки товстої кишки у щурів на 12-ту добу ішемічно-реперфузійного пошкодження головного мозку (M±m)

Мікроорганізми	Каротидна ішемія (n=5)			Контроль (n=10)			P
	Популяційний рівень	ККД	КЗ	Популяційний рівень	ККД	КЗ	
1. Анаеробні бактерії							
Біфідобактерії	0	-	-	6,65±0,27	146,0	0,36	
Лактобактерії	3,81±0,08	40,5	0,05	6,83±0,14	166,6	0,40	p<0,05
Еубактерії	0	-	-	5,34±0,27	26,1	0,07	
Бактероїди	4,12±0,05	109,6	0,14	2,86±0,04	41,9	0,10	p<0,05
Пептокок	4,03±0,17	42,9	0,05	0	-	-	-
Пептострептококи	0	-	-	2,60±0,04	19,0	0,02	
Бактерії роду Clostridium	4,08±0,04	108,5	0,14	1,60±0,05	3,9	0,01	p<0,05
2. Аеробні та факультативно анаеробні мікроорганізми							
Кишкова паличка	4,12±0,06	109,6	0,14	2,84±0,07	69,3	0,17	p<0,05
E. Coli Nly ⁺	3,65±0,09	97,1	0,13	0	-	-	-
Клебсієли	3,94±0,17	62,9	0,08	0	-	-	-
Ентеробактерії	3,10±0,10	33,0	0,04	0	-	-	-
Протеї	3,67±0,07	58,6	0,08	0	-	-	-
Стафілококи	3,88±0,07	103,2	0,13	0	-	-	-
Дріжджоподібні гриби роду Candida	2,99±0,09	31,8	0,04	0	-	-	-

дріжджоподібні гриби роду Candida, які досягають високого та помірного популяційного рівня.

На 12-ту добу ішемічно-реперфузійного пошкодження головного мозку виникає суттєвий дисбаланс між анаеробними, аеробними і факультативно-анаеробними бактеріями.

Висновки

тативно анаеробними бактеріями; між автохтонними та алохтонними бактеріями та між автохтонними облигатними й факультативними мікроорганізмами, що персистують у загальному препараті слизової порожнини рота, тонкої та товстої кишки.

Перспективи подальших досліджень

Результати вказують на доцільність вивчення зворотного зв'язку між зміною мікробіоти шлунково-кишкового тракту (під впливом пробіотиків) та перебігом ішемічно-реперфузійного пошкодження головного мозку.

Література. 1. Мікробна екологія слизових оболонок травного тракту щурів із відстроченими наслідками двобічного порушення кровообігу в басейні сонних артерій (повідомлення перше - якісний склад мікрофлори) / О. В. Ткачук, М. А. Повар, С. С. Ткачук [та ін.] // Клін. та експерим. патол. - 2016. - Т. XV, №2(56), Ч.1. - С. 167-170. 2. Скибо Г.Н. Использование различных экспериментальных моделей для изучения клеточных механизмов ишемического поражения мозга / Г.Н. Скибо // Патология. - 2004. - Т.1, №1. - С. 22-30. 3. Ткачук О. В. Мікробна екологія загального препарату (порожнинної та мукозної мікробіоти) тонкої кишки в щурів із відстроченими наслідками ішемії-реперфузії головного мозку / О. В. Ткачук, І. Й. Сидорчук // Перспективи мед. та біол. - 2011. - Т. III, № 1. - С. 105-109. 4. Ткачук О. В. Циркулюючі імунні комплекси та окремі показники неспецифічної резистентності в щурів зі стрептозотиніндукованим цукровим діабетом, ускладненим ішемією-реперфузією головного / О. В. Ткачук // Перспективи мед. та біол. - 2011. - Т. III, № 2. - С. 77-81. 5. Лабораторные тесты. Микробиологическая и вирусологическая диагностика / под. Ред. Турьянова М.Х. - Ч.1. - М.: Каппа, 1995. - 144 с. 6. Основные методы лабораторных исследований в клинической бактериологии / Руководство ВОЗ.- Женева, 1994. - 132 с.

**МИКРОБНАЯ ЭКОЛОГИЯ СЛИЗИСТЫХ
ОБОЛОЧЕК ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА КРЫС
С ОТСРОЧЕННЫМИ ПОСЛЕДСТВИЯМИ
ДУВУСТОРОННЕГО НАРУШЕНИЯ
КРОВООБРАЩЕНИЯ В БАСЕЙНЕ СОННЫХ
АРТЕРИЙ (СООБЩЕНИЕ ВТОРОЕ -
КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ СОСТАВ МИКРОФЛОРЫ)**

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

Резюме. Изучено количественный состав микрофлоры общего препарата ротовой полости, тонкой и толстой кишки у крыс с отсроченными последствиями ишемии-реперфузии головного мозга. Установлено, что на 12-е сутки ишемически-реперфузионного повреждения головного мозга возникает существенный дисбаланс между анаэробными, аэробными и факультативно анаэробными бактериями, между автохтонными и аллохтонными бактериями и между автохтонными облигатными и факультативными микроорганизмами, персистирующими в общем препарате слизистой полости рта, тонкой и толстой кишки.

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

**MICROBE ECOLOGY OF THE MUCOUS
MICROFLORA OF THE DIFFERENT PARTS OF
DIGESTIVE TRACT IN RATS WITH LONG-TERM
EFFECTS OF CIRCULATORY DISORDERS IN BASIN
CAROTID ARTERIES (SECOND MESSAGE - THE
QUANTITATIVE COMPOSITION OF MICROFLORA)**

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

Abstract. The quantitative composition of microflora of the general specimen of the oral cavity, small intestine and colon in rats with late effects of ischemia-reperfusion of the brain has been studied. It was shown that on the 12th day after brain ischemia-reperfusion there is a significant imbalance between anaerobic, aerobic and facultative anaerobic bacteria; also, between autochthonous and allochthonous bacteria, and between autochthonous obligate and facultative microorganisms that persist in the general specimen of oral mucosa, small and large intestine.

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

**Higher State Educational Establishment of Ukraine
"Bukovina State Medical University" (Chernivtsi)**

Clin. and experim. pathol. - 2016. - Vol.15, №4 (58). - P.126-129.

Надійшла до редакції 1.12.2016

Рецензент – проф. І.Й.Сидорчук

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