

УДК 616.37/Д48

О.В.Ткачук,

М.А.Повар

Буковинський державний медичний  
університет, м. Чернівці**ПОРОЖНИННА ТА МУКОЗНА  
МІКРОБІОТА ТОВСТОЇ КИШКИ В ЩУРІВ  
ІЗ НАСЛІДКАМИ ІШЕМІЇ-РЕПЕРФУЗІЇ  
ГОЛОВНОГО МОЗКУ**

**Ключові слова:** ішемія-реперфузія  
головного мозку, товста кишка,  
порожнинна та мукозна  
мікрофлора, дизбактеріоз.

**Резюме.** Вивчено якісний та кількісний склад мікрофлори загального препарату товстої кишки в щурів із відстроченими наслідками ішемії-реперфузії головного мозку. Встановлено, що на 12-ту добу ішемічно-реперфузійного періоду в загальному препараті товстої кишки щурів формується дисбактеріоз (дисбіоз) з елімінацією фізіологічно корисних автохтонних облигатних біфідобактерій, лактобактерій, еубактерій, пептострептококів і контамінацією патогенними та умовно патогенними ентеробактеріями, стафілококами, бактеріями роду *Clostridium*, пептококом та дріжджоподібними грибами роду *Candida*.

**Вступ**

Синантропні мікроорганізми кишечника беруть активну участь в індукції імунної толерантності до організму носіїв, координуючи нормальні імунні реакції. Порушення нормального діалогу між організмом господаря і мікробіотою кишечника може призвести до розвитку автоімунних захворювань [5, 8]. Останнім часом у науковій літературі з'являється все більше фактів, які підтверджують наявність двобічної нейрогуморальної системи зв'язку між мікробіотою кишечника та морфофункціональним станом головного мозку, відомою як "вісь мікробіота кишечку-мозок" [8, 10, 13]. Встановлено основні механізми даних взаємозв'язків, які можуть опосередковуватися через вегетативну нервову систему, активацію місцевих нейронів в кишечних сплетеннях та через імунну систему, зокрема, прозапальні цитокіни [8, 9, 11, 12]. Дисбіотичні зміни в дистальному відділі кишечника причетні до багатьох психоемоційних розладів та виникнення автоімунних уражень мозку [4-7]. Враховуючи наявність автоімунного компонента в перебігу ішемічно-реперфузійного ушкодження головного мозку, логічно очікувати на постішемічні зміни мікробної екології кишечника. Якщо для тонкої кишки наявність дисбіотичних порушень за умов ішемії-реперфузії головного мозку - доведений факт [3], то мікробна екологія порожнинної та мукозної мікробіоти товстої кишки за цих умов залишається недослідженою.

**Мета роботи**

Вивчити видовий і популяційний склад порожнинної та мукозної мікрофлори товстої кишки в

щурів із відстроченими наслідками неповної глобальної ішемії-реперфузії головного мозку.

**Матеріал і методи**

Неповну глобальну ішемію мозку моделювали шляхом припинення кровотоку по загальних сонних артеріях протягом 20 хв. із наступною реперфузією. Тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під каліпсоловим наркозом на 12-ту добу постішемічного періоду.

Усі втручання та евтаназію здійснювали під каліпсоловим наркозом (70 мг/кг маси тіла) із дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985), ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2000).

Видовий і популяційний склад мікрофлори визначали бактеріологічними та мікологічними дослідженнями з розрахунком індексу постійності, частоти зустрічання, коефіцієнта кількісного домінування та значущості кожного виду (родини) мікроорганізму в мікробіоценозі загального препарату товстої кишки [1, 2].

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

**Обговорення результатів дослідження**

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. 1).

На тлі елімінації фізіологічно корисних бактерій вільне місце на слизовій оболонці товстої кишки займають патогенні (ентеротоксичний ешерихій) та умовно патогенні (клебсієли, протеї, ентеробактерії) бактерії, стафілококи, пептокок, клостридії, бактероїди та дріжджоподібні гриби роду *Candida*.

Таким чином, на 12-ту добу після ішемії-реперфузії головного мозку у тварин настає елімінація зі слизової оболонки товстої кишки автохтонних облигатних мікроорганізмів (біфідобактерії, лактобактерії), еубактерій та пептострептококів. На цьому фоні відбувається контамінація слизової оболонки товстої кишки патогенними (ентеротоксичними ешерихіями) та умовно патогенними (протейями, клебсієлами, ентеробактером) ентеробактеріями, стафілококом, клостридіями, пептококом, бактероїдами та дріжджоподібними грибами роду *Candida*, що свідчить про глибокі порушення якісного стану мікробіоти приєпітеліальної біологічної плівки даного біотопу.

Для встановлення ступеня дисбактеріозу висо-

ку інформативність мають кількісні зміни мікрофлори слизової оболонки товстої кишки (табл. 2).

За популяційним рівнем, коефіцієнтом кількісного домінування та коефіцієнтом значущості доміантними мікроорганізмами, що формують мікробіоту приєпітеліальної біологічної плівки (мукозну мікрофлору слизової оболонки товстої кишки) тварин 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 2, відіграють мінімальну роль. Перераховане вище свідчить про глибокі порушення кількісних взаємовідношень автохтонних облигатних та факультативних бактерій, що персистують на слизовій оболонці товстої кишки. Крім того, у цьому біотопі з'являються алохтонні для даного біотопу патогенні та умовно патогенні ентеробактерії, стафілококи, клостридії, пептокок та дріжджоподібні гриби роду *Candida*, які досягають високого та помірного популяційного рівня.

**Таблиця 1**  
**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	
<b>1. Анаеробні бактерії</b>							
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 <i>Clostridium</i>	5	100,0	0,13	1	10	0,02	p<0,05
<b>2. Аеробні та факультативно анаеробні мікроорганізми</b>							
Кишкова паличка	5	100,0	0,13	10	100,0	0,24	
<i>E. Coli</i> Hly <sup>+</sup>	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 <i>Candida</i>	2	40,0	0,05	0	-	-	-

Примітки: p – достовірність змін у групах порівняння

Таблиця 2

**В**Популяційний рівень ( $M \pm m$ ) 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
	Популяційний рівень	ККД	КЗ	Популяційний рівень	ККД	КЗ	
<b>1. Анаеробні бактерії</b>							
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
<b>2. Аеробні та факультативно анаеробні мікроорганізми</b>							
Кишкова паличка	4,12±0,06	109,6	0,14	2,84±0,07	69,3	0,17	p<0,05
E. Coli Hly <sup>+</sup>	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	-	-	-

Примітки: ККД – коефіцієнт кількісного домінування; КЗ – коефіцієнт значущості; p – достовірність змін у групах порівняння

### Висновок

Під впливом ішемії-реперфузії головного мозку порушується колонізаційна резистентність слизової оболонки товстої кишки за рахунок елімінації фізіологічно корисних автохтонних: облигатних біфідобактерій, вираженого дефіциту автохтонних облигатних лактобактерій, що сприяє також елімінації із приєпітеліальної біологічної плівки слизової оболонки товстої кишки еубактерій, пептострептококів. На фоні порушення колонізаційної резистентності слизової оболонки товстої кишки остання контамінується патогенними та умовно патогенними ентеробактеріями, стафілококами, клостридіями, пептококом та дріжджоподібними грибами роду Candida.

### Перспективи подальших досліджень

Планується вивчення мікробіоти загального препарату товстої кишки в щурів із ускладненням цукрового діабету ішемією-реперфузією 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.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 медицини та біології. - 2011. - Т. III, № 1. - С. 105-109. 4.Ingestion of Lactobacillus strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve / J.A. Bravo, P. Forsythe, M.V. Chew [et al.] / Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. - 2011. - Vol.108, №38. - P.16050-16055. 5.Beneficial psychological effects of a probiotic formulation (Lactobacillus helveticus R0052 and Bifidobacterium longum R0175) in healthy human volunteers / M. Messaoudi, N. Violle, J.F. Bisson [et al.] // Gut Microbes. - 2011. - Vol.2, №4. - P. 256-261. 6.Chronic gastrointestinal inflammation induces anxiety-like behavior and alters central nervous system biochemistry in mice / P. Bercik, E.F. Verdu, J.A. Foster [et al.] // Gastroenterology. - 2010. - Vol.139, №6.- P. 2102-2112. 7. Effects of intestinal microbiota on anxiety-like behavior / K.A. Neufeld, N. Kang, J. Bienenstock, J.A. Foster // Commun Integr Biol. - 2011. - Vol. 4, №4. - P. 492-494. 8.Foster J.A. Gut-brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression / J.A. Foster, K.A. McVey Neufeld // Trends Neurosci. - 2013. - Vol.36, №5.- P. 305-312. 9.Furness J.B. The enteric nervous system and neurogastroenterology / J.B. Furness // Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol. - 2012. - Vol.9, №5. - P. 286-294. 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 anxiolytic effect of Bifidobacterium longum NCC3001 involves vagal pathways for gut-brain communication / P. Bercik, A.J. Park, D. Sinclair [et al.] // Neurogastroenterol. Motil. - 2011.- Vol.23, №12. - P. 1132-1139. 13.The intestinal microbiota affect

central levels of brain-derived neurotropic factor and behavior in mice / P. Bercik, E. Denou, J. Collins [et al.] // *Gastroenterology*. - 2011. - Vol.141, №2. - P. 599-609.

**ПОЛОСТНАЯ И МУКОЗНАЯ МИКРОБИОТА  
ТОЛСТОЙ КИШКИ У КРЫС С ПОСЛЕДСТВИЯМИ  
ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА**

*А.В. Ткачук, М.А. Повар*

**Резюме.** Изучено качественный и количественный состав микрофлоры общего препарата толстой кишки у крыс с отсроченными последствиями ишемии-реперфузии головного мозга. Установлено, что на 12-е сутки ишемически-реперфузионного периода в общем препарате толстой кишки крыс формируется дисбактериоз (дисбиоз) с элиминацией физиологически полезных автохтонных облигатных бифидобактерий, лактобактерий, эубактерий, пептострептококков и контаминацией патогенными и условно патогенными энтеробактериями, стафилококками, бактериями рода *Clostridium*, пептококком и дрожжеподобными грибами рода *Candida*.

**Ключевые слова:** ишемия-реперфузия головного мозга, толстая кишка, полостная и мукозная микрофлора, дисбактериоз.

**CAVITARY AND MUCOUS MICROFLORA OF THE  
COLON IN RATS WITH EFFECTS OF BRAIN  
ISCHEMIA-REPERFUSION**

*O.V. Tkachuk, M.A. Povar*

**Abstract.** The qualitative and quantitative composition of microflora of the general specimen of the colon in rats with long-term effects of ischemia-reperfusion of the brain has been studied. It was shown that on the 12th day after brain ischemia-reperfusion in the general specimen of the colon there formed dysbacteriosis (dysbiosis) with elimination of physiologically useful autochthonous obligate Bifidobacteria, Lactobacteria, Eubacteria, Peptostreptococci and contamination of the colon pathogenic and conditionally pathogenic enterobacteria, Staphylococci, Clostridia, Peptococcus, and yeasts of *Candida* genus.

**Key words:** brain ischemia-reperfusion, colon, cavitary and mucous microflora, dysbacteriosis.

**Bukovina State Medical University (Chernivtsi)**

*Clin. and experim. pathol.* - 2014. - Vol.13, №3 (49). - P.180-183.

*Надійшла до редакції 01.08.2014*

*Рецензент – проф. І.Й. Сидорчук*

© *О.В. Ткачук, М.А. Повар, 2014*