

МИКРОБИОТА РТА И ТОЛСТОЙ КИШКИ ЗДОРОВЫХ СТУДЕНТОВ И С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

Кравчук Э.С., Червинец Ю.В., Червинец В.М.

ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России,
кафедра микробиологии и вирусологии с курсом иммунологии, г. Тверь

Ключевые слова: микробиота, полость рта, кишечник, артериальная гипертензия

Резюме: изучена взаимосвязь артериальной гипертензии (АГ) с микробиотой полости рта и толстой кишки. Показано, что у студентов с АГ в фекалиях в сравнении со здоровыми происходило уменьшение представителей нормобиоты – лактобацилл и увеличение бацилл, нейссерий, актиномицетов, пептострептококков. В ротовой жидкости аналогично увеличивалась частота высеваемости условно-патогенных микроорганизмов – бацилл, клостридий, золотистого стафилококка и уменьшалась частота облигатных – лактобацилл, бифидобактерий и пептококков.

Resume: the relationship of arterial hypertension (AH) with the microbiota of the oral cavity and colon was studied. It was shown that students with hypertension in feces, compared with healthy, there was a decrease in the normobiota - *Lactobacillus* spp. and an increase in *Bacillus* spp., *Neisseria*, *Actinomyces*, *Peptostreptococcus* spp. In the oral fluid, the frequency of inoculation of opportunistic microorganisms — *Bacillus* spp., *Clostridium* spp., *S. aureus* — increased in a similar manner compared with healthy ones, and the frequency of obligate — *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp. and *Peptococcus* spp. — decreased.

Актуальность. В последнее время внимание ученых привлекает роль кишечного микробиома в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний [5]. Накопленные данные подтверждают, что метаболиты кишечных бактерий принимают участие в развитии атеросклероза, ожирения, сахарного диабета, артериальной гипертензии, сердечной недостаточности и др.[1-4].

Так, в 2017 г. Li и соавт. было проведено исследование микробиоты у людей, страдающих артериальной гипертензией (АГ), выявилось видовое обеднение представителей филоципов *Bacteroidetes*, *Bifidobacterium*, *Roseburia* и других продуцентов КЦЖК с преобладанием бактерий филоципа *Prevotella*. Причем при исследовании генетического профиля микробиома и метаболического профиля респондентов, определили, что существуют отличия представителей каждой группы по преобладанию определенных генов и метаболитов. Ученые полагают, что в дальнейшем возможно открытие молекулярных биомаркеров АГ на основе микробиома кишечника [6].

Поэтому актуальным является дальнейшее исследование особенностей микробиоценоза рта и толстой кишки и его связь с причинами развития АГ.

Цель: изучение микробиома полости рта и толстой кишки у здоровых студентов и имеющих артериальную гипертензию.

Задачи: 1. Анализ микробиоты толстой кишки у здоровых студентов и студентов с АГ; 2. Анализ микробиоты полости рта у здоровых студентов и студентов с АГ.

Материал и методы. Для решения сформулированных задач была изучена микробиота полости рта и толстого кишечника 34 человека: 17 практически здоровых юношей, и 17 студентов с АГ, в возрасте от 18 до 22 лет.

Все респонденты лица проходили анкетирование и на момент обследования были клинически здоровы. Забор биологического материала (ротовой жидкости и фекалий) осуществлялся утром до еды в стерильные одноразовые пластиковые контейнеры. От момента взятия материала до момента доставки в лабораторию проходило не более 2 часов. Количественный и качественный состав оральной и кишечной микробиоты изучался в соответствии с классическими бактериологическими методами. Посевы проводились на следующие питательные среды: Columbia Agar с кровью – для накопления, для выращивания облигатных анаэробов: хромогенный селективный агар, бифидоагар, Shaedler Agar с кровью, для выращивания факультативных анаэробов – маннит-солевой агар (M118), МРС-лактоагар, HiCrome Bacillus Agar, HiCrome Enterococcus faecium Agar, хромогенный агар для грибов рода *Candida* (HiMedia). Культивирование проводилось при температуре 37°C в течение 24-48 ч в аэробных, микроаэрофильных и анаэробных условиях с использованием микроанаэроостатов (BBL) и газогенераторных пакетов GasPak EZ Anaerobe Pouch System (США). Для идентификации анаэробных бактерий до вида использовали биохимические тест-системы API-20 А (Франция).

Обработка полученных результатов проводилась с помощью пакета прикладных программ STATISTICA (StatSoft Russia), различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Анализ результатов микробиологических исследований показал, что микробиота проксимального и дистального отделов пищеварительного тракта студентов с различными хроническими заболеваниями имеет свои особенности.

При микробиологическом исследовании фекалий 34 студентов были выделены 19 родов микроорганизмов (рисунок 1).

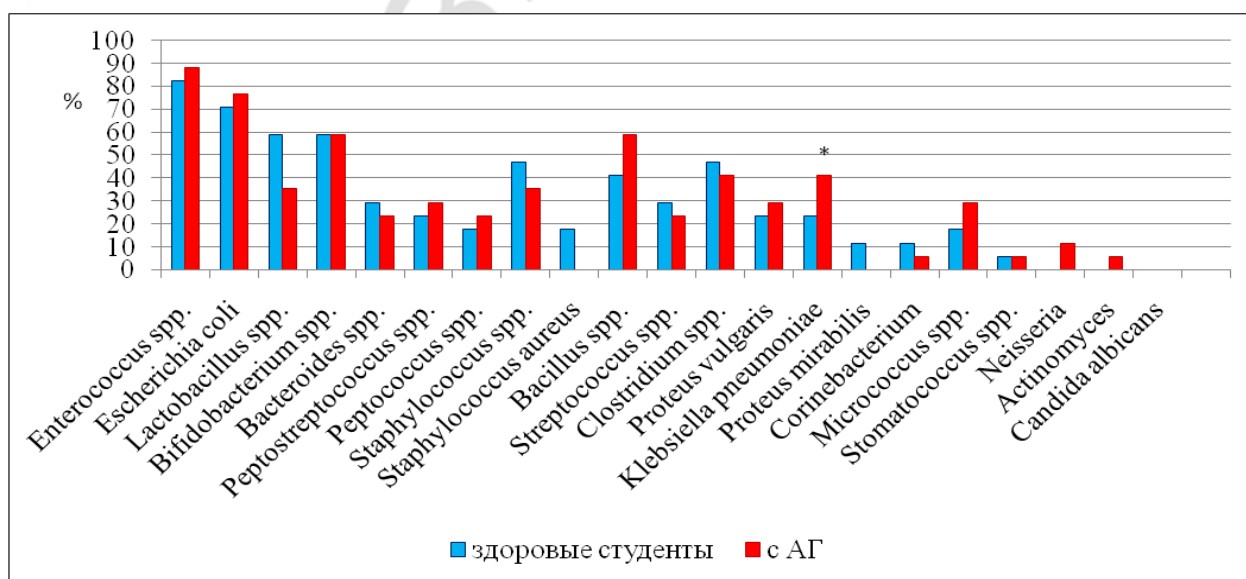


Рис. 1 - Сравнительные данные спектра и частоты встречаемости микроорганизмов в фекалиях здоровых студентов и имеющих АГ; * - значения $p \leq 0,05$

В фекалиях здоровых студентов преобладали бактерии: в 82% случаев - *Enterococcus spp.* и в 71% - *E. coli.*, в 59% - *Lactobacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.*, в 47% - *Staphylococcus spp.* и *Clostridium spp.*, в 41% - *Bacillus spp.* Реже выделялись в 29% - *Bacteroides spp.* и *Streptococcus spp.*, в 24% - *Peptostreptococcus spp.*, *Proteus vulgaris* и *Klebsiella pneumoniae*, в 18% - *Peptococcus spp.*, *S. aureus* и *Micrococcus spp.*, а менее чем в 12% случаев - *Proteus mirabilis*, *Corynebacterium* и *Stomatococcus spp.* Количество микроорганизмов изменялось от $7,15 \pm 0,65$ lgКОЕ/г для *Klebsiella pneumoniae* до $4,0 \pm 0,5$ lgКОЕ/г для *Stomatococcus spp.* Преобладали в количественном отношении бактерии: *Clostridium spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Peptococcus spp.* и *Peptostreptococcus spp.*

Нормальный микробиоценоз кишечника выявлен у 18% студентов, у 53% - дисбактериоз I степени, у 29% - II степени.

При исследовании микробиоценоза толстой кишки студентов с АГ чаще высевались в 88% - *Enterococcus spp.*, в 77% - *E. coli.*, в 59% - *Bifidobacterium spp.* и *Bacillus spp.*, в 41% - *Clostridium spp.* и *Klebsiella pneumoniae*, в 35% - *Lactobacillus spp.* и *Staphylococcus spp.* Реже встречались в 29% - *Peptostreptococcus spp.*, *Proteus vulgaris* и *Micrococcus spp.*, в 24% - *Bacteroides spp.*, *Peptococcus spp.* и *Streptococcus spp.*, в 12% - *Neisseria*, в 6% - *Corynebacterium*, *Stomatococcus spp.* и *Actinomyces*. Количество выделенной микробиоты варьировало от $7,1 \pm 0,8$ lgКОЕ/г для *Peptostreptococcus spp.* до $3,0 \pm 0,1$ lgКОЕ/г для *Stomatococcus spp.* В большем количестве встречались *Clostridium spp.*, *Actinomyces*, *Peptococcus spp.* и *Enterococcus spp.*

У всех обследованных юношей с АГ выявлены дисбиотические нарушения: у 18% - дисбактериоз I степени, у 35% - II степени, у 47% - III степени.

При бактериологическом анализе ротовой жидкости у 34 студентов были выявлены микроорганизмы 13 родов (рисунок 2).



Рис. 2 - Сравнительные данные спектра и частоты встречаемости микроорганизмов в ротовой жидкости здоровых студентов и имеющих АГ; * - значения $p \leq 0,05$

В ротовой жидкости у здоровых студентов в 82% случаев выделялись *Streptococcus spp.*, в 77% - *Peptostreptococcus spp.*, в 47% - *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.* и *Staphylococcus spp.* В меньшем числе, в 24% случаев изолировались *Peptococcus spp.* и *S.aureus*, в 18% - *Enterococcus spp.*, в 12% - *Bacteroides spp.* и *Bacillus subtilis*. Распространение других видов микроорганизмов составило менее 6%. Количество выделенной микробиоты варьировало от $7,62 \pm 1,75$ lg КОЕ/мл для *Peptostreptococcus spp.* до $4,15 \pm 0,21$ lgКОЕ/мл для *Bacillus subtilis*. В большем количестве встречались *Peptococcus spp.*, *Enterococcus spp.*, *Clostridium spp.* и *Streptococcus spp.*

При исследовании микробиоценоза рта больных АГ (рис. 1) в 82% случаев выявлялись *Streptococcus spp.*, в 65% - *Bifidobacterium spp.* и *Peptostreptococcus spp.*, в 47% - *Lactobacillus spp.* и *S. aureus*, в 35% - *Staphylococcus spp.*, в 29% - *Peptococcus spp.*, *Enterococcus spp.* и *Bacillus subtilis*, в 18% - *Clostridium spp.*, в 12% - *Bacteroides spp.*, менее чем в 6% - *Micrococcus spp.*, *Klebsiella pneumoniae* и *Candida albicans*. Количество изолированных микроорганизмов варьировало от $6,69 \pm 0,1$ lgКОЕ/мл у *Micrococcus spp.* до $4,64 \pm 0,95$ lgКОЕ/мл у *Lactobacillus spp.* Преобладали в количественном отношении *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus spp.*, *Peptostreptococcus spp.* и *Clostridium spp.*

В микробиоте рта представители условно-патогенных микроорганизмов: *Bacillus subtilis*, *Clostridium spp.*, *S. aureus* - выделялись в достоверно большем количестве у студентов с АГ. А облигатные представители - *Streptococcus spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Peptococcus spp.* - определялись в достоверно меньшем количестве у этих студентов.

Количество представителей облигатных микроорганизмов в микробиоте толстой кишки практически не изменилось сравнении со здоровой группой, а условно-патогенных (*Bacillus subtilis*, *Neisseria*, *Actinomyces*, *Peptostreptococcus spp.*) равномерно возросло на несколько порядков.

Выводы:

1. Микробиом толстой кишки студентов с АГ изменяется в сторону уменьшения встречаемости *Lactobacillus spp.* при одновременном увеличении выявляемости и количества *Neisseria*, *Actinomyces*, *Bacillus subtilis*, *Peptostreptococcus spp.*

2. Микробиота рта студентов с АГ характеризуется увеличением количества и частоты встречаемости *Clostridium spp.*, *S. aureus*, *Bacillus subtilis*, но понижением количества представителей родов: *Peptococcus spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*

Литература

1. Драпкина О.М., Ширококих О.Е. Роль кишечной микробиоты в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний и метаболического синдрома. Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии 2018;14(4):567-574. DOI: 10.20996/1819-6446-2018-14-4-567-574.

2. Червинец В.М., Червинец Ю.В., Кравчук Э.С., Ганина Е.Б. Динамика изменчивости микробиоты полости рта и толстого кишечника юношей при перемене условий жизни. Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64(8): 507-512. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-8-507-512>

3. Яковлева М.В., Червинец В.М., Червинец Ю.В., Смирнова Л.Е. Особенности микробиоты толстого кишечника у больных артериальной гипертензией с метаболическим синдромом. Проблемы медицинской микологии. 2019; 21(2): 155.

4. Darenskaya M.A., Rychkova L.V., Gavrilova O.A., Zhdanova V.L., Bimbaev A.B.-Zh, Grebenkina L.A., et al. Lipid peroxidation parameters in Mongoloid-patients with obesity and hepatosis. Free Rad Biol Med. 2018; 120(S1): S61. doi: 10.1016/j.freeradbiomed. 2018.04.201

5. GBD 2013 Mortality and Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990-2013: a systematic analysis for the global burden of disease study 2013. Lancet. 2015;385:117-71. doi: 10.1016/S0140-6736(14)61682-2.

6. Li J., Zhao F., Wang Y. et. al Gut microbiota dysbiosis contributes to the development of hypertension. Microbiome. 2017;5(1):14. doi: 10.1186/s40168-016-0222-x.

РЕПОЗИТОРИЙ БГМУ