

СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ МИКРОБИОТЫ ДЕТЕЙ РАЗНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП

MODERN ASPECTS OF THE MICROBIOTA OF CHILDREN OF DIFFERENT AGE GROUPS

V. Chervinets
Yu. Chervinets
E. Kozlova
E. Grigoryants
E. Stepanova
B. Urekeshov
Sh. Nasukhin
R. Zhanamanova
E. Zevalkina

Summary. 40 representatives of the genus *Lactobacillus* and 10 strains of *Staphylococcus aureus* were isolated from 100 children of different age groups. To study the gas composition of microbiota metabolites gas chromatography was used. As a result, it was determined that strains of the genus *Lactobacillus* isolated gas signaling molecules in higher concentrations than *Staphylococcus aureus*. *Lactobacilli* of healthy children of different age groups produced nitric oxide and carbon monoxide in high concentrations. The microbiota of newborns and children 8–12 years old showed more pronounced metabolic activity than in adolescents 16–18 years old, with the exception of high production of nitric oxide by *lactobacilli* of adolescents.

Keywords: metabolic activity, gas signaling molecules, *lactobacilli*.

Червинец Вячеслав Михайлович

Д.м.н., профессор, ФГБОУ ВО «Тверской
 Государственный медицинский университет»
 Минздрава России
 chervinets@mail.ru

Червинец Юлия Вячеславовна

Д.м.н., профессор, ФГБОУ ВО «Тверской
 Государственный медицинский университет»
 Минздрава России
 julia_chervinets@mail.ru

Козлова Екатерина Андреевна

К.б.н., доцент, ФГБОУ ВО «Тверской Государственный
 медицинский университет» Минздрава России
 eabelyaeva1@mail.ru

Григорьянц Элина Олеговна

Аспирант, ФГБОУ ВО «Тверской Государственный
 медицинский университет» Минздрава России
 lina.grigo@gmail.com

Степанова Эмма Валерьевна

Аспирант, ФГБОУ ВО «Тверской Государственный
 медицинский университет» Минздрава России
 s-emma@list.ru

Урекешов Бактыберген Садыкович

К.м.н., доцент, ЗКМУ им. М. Оспанова, Казахстан,
 Актобе
 bakhty64@mail.ru

Насухин Шадыман Бактыгереевич

К.м.н., ЗКМУ им. М. Оспанова, Казахстан, Актобе
 shada63@mail.ru

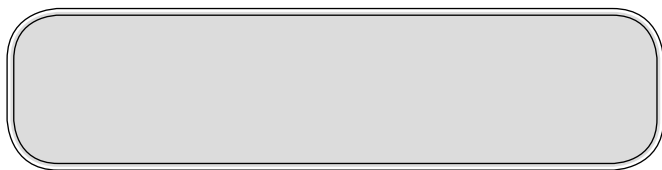
Жанаманова Раушан Нурболатовна

Старший преподаватель, ЗКМУ им. М. Оспанова,
 Казахстан, Актобе
 roza.new.west@mail.ru

Зевалкина Елена Викторовна

Преподаватель, ЗКМУ им. М. Оспанова, Казахстан,
 Актобе
 ezevalkina@list.ru

Аннотация. От 100 детей разных возрастных групп были выделены 40 представителей рода *Lactobacillus* и 10 штаммов *Staphylococcus aureus*. С помощью газовой хроматографии был изучен газовый состав метаболитов микробиоты. В результате определено, что штаммы рода *Lactobacillus* выделяли газовые сигнальные молекулы в больших концентрациях, чем *Staphylococcus aureus*. Лактобациллы здоровых детей разных возрастных групп в больших концентрациях выделяли оксид азота и окись углерода. Микробиота новорожденных и детей 8–12 лет показала более выраженную метаболическую активность, чем у подростков 16–18 лет, за исключением высокой продукции оксида азота лактобациллами подростков.



Актуальность

В современных условиях все большее внимание уделяется изучению микробиоты желудочно-кишечного тракта здорового человека, а также её влияния на поддержание и укрепление физиологических функций человека. В последние годы, на фоне ухудшения экологической обстановки, вопросы формирования и сохранения нормального микробиоценоза кишечника детей приобретают особую актуальность [1].

Для оценки микрофлоры желудочно-кишечного тракта важным аспектом является изучение метаболитов, которые выделяют микроорганизмы; среди них особая роль принадлежит сигнальным молекулам — простейшим по химической структуре газообразным соединениям эндотелиального и микробного происхождения (оксид азота-NO, оксид углерода-CO, сероводород- H₂S, водород -H₂, метан- CH₄, аммиак- NH₃ и другие) [2]. В результате микробной ферментации в просвете кишечника накапливаются множество низкомолекулярных биологически активных соединений, включая летучие разнообразные газообразные продукты [3, 4]. Суточный объем кишечных газов у взрослого человека может достигать 1200 мл. Среди них 20–90% приходится на азот; 3,9–10% — кислород; 20,9–50% — водород; 7,2–10% — метан; 9–30% — углекислый газ и 0,00028% — сероводород. H₂ и CH₄ являются уникальными кишечными газами для организма человека, поскольку они формируются в организме только за счет микробной ферментации. Кроме того, в пищеварительном тракте могут накапливаться также аммиак, CO, NO и другие газы. Доказано, что многие из них способны проявлять разнообразные физиологические эффекты практически в каждом органе человека, а в определенных условиях участвовать и в патофизиологии тех или иных заболеваний [5].

Цель настоящего исследования

Оценить газовые сигнальные молекулы, выделенные от резидентной кишечной микробиоты здоровых детей разных возрастных групп.

Материалы и методы

Материалом для исследования являлись фекалии здоровых детей разных возрастных групп. В качестве объектов исследования выступали 36 новорожден-

Ключевые слова: метаболическая активность, газовые сигнальные молекулы, лактобациллы.

ных в возрасте до 1 месяца, 33 ребенка 8–12 лет и 31 подросток 16–18 лет. С использованием классических бактериологических методов исследования от новорожденных выделяли штаммы *Staphylococcus aureus* и представителей рода *Lactobacillus*, от детей в возрасте 8–12 лет и от подростков 16–18 лет выделяли представителей рода *Lactobacillus*. Идентификацию микроорганизмов проводили согласно биохимическому анализу с использованием тест-систем API® «Bio Merieux, Франция». Для определения наличия газовых сигнальных молекул в метаболитах микробиоты детей культуры микроорганизмов выращивали в 5 мл питательного бульона (MRS бульона для лактобацилл, МПБ бульона для стафилококков). Газовый состав метаболитов микробиоты проводился с помощью газовой хроматографии с применением газового хроматографа «Хроматэк-Кристалл 5000.2», оснащенного детектором по теплопроводности (ДТП), пламенно-ионизационным детектором (ПИД) и электронозахватным детектором (ЭЗД) [6].

Результаты и обсуждение

От новорожденных было выделено 10 штаммов *Staphylococcus aureus*, 14 штаммов представителей рода *Lactobacillus*: *L.fermentum* — 8, *L.paracasei* — 3, *L.rhamnosus* — 3; от детей в возрасте 8–12 лет выделено 12 штаммов лактобацилл: *L.paracasei* — 4, *L.rhamnosus* — 4, *L.curvatus* — 2, *L.plantarum* — 2; от подростков 16–18 лет изолировано 14 штаммов лактобацилл: *L.fermentum* — 4, *L.paracasei* — 2, *L.rhamnosus* — 6, *L.plantarum* — 2.

В результате настоящего исследования было выявлено, что лактобациллы, выделенные из кишечника новорожденных, вырабатывали H₂S (99 ppm) и CO (124,4 ppm) в 100 раз больше, чем золотистый стафилококк (0 и 3,1 ppm соответственно) (рис. 1). Продукция H₂ и CH₄ была очень низкая и практически одинаковая у стафилококков и лактобацилл (не более 2,7 ppm).

При сравнении продукции газовых молекул у детей разных возрастных групп выявлено, что лактобациллы, выделенные от новорожденных и детей 8–12 лет, выделяли практически одинаковую концентрацию H₂S (99 и 94,2 ppm соответственно) и CO (124,4 и 182,9 ppm соответственно). Продукция H₂ и CH₄ была минимальной у обеих групп и не превышала 2 ppm. Лактобациллы, выделенные от подростков, показали минимальную кон-

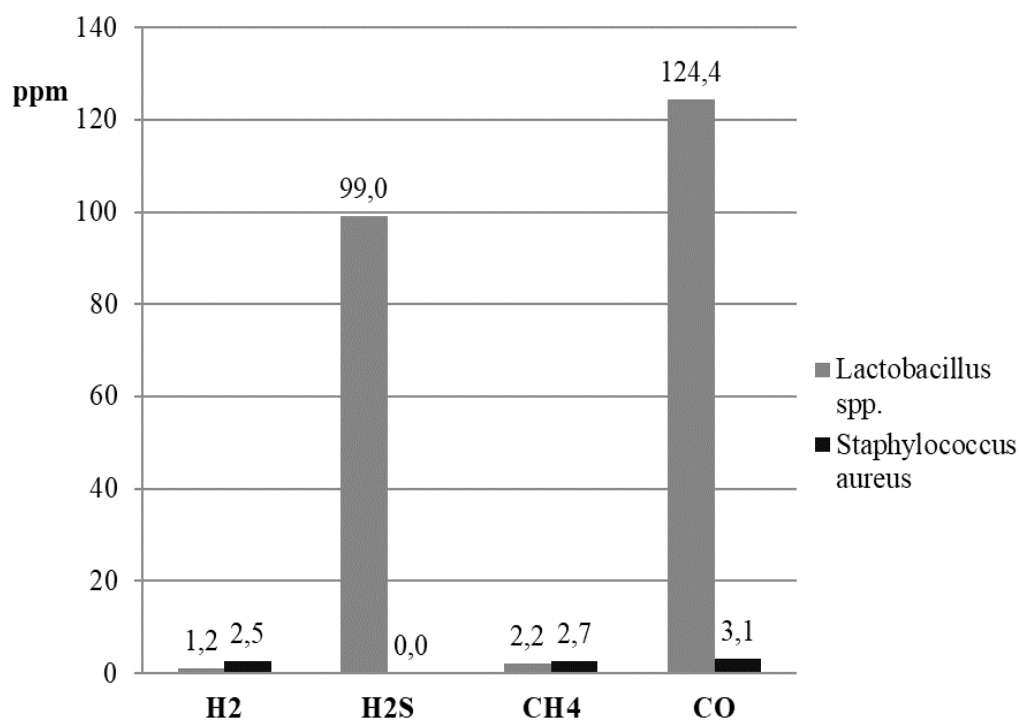


Рис. 1. Распределение газовых сигнальных молекул у микроорганизмов, выделенных у новорожденных.

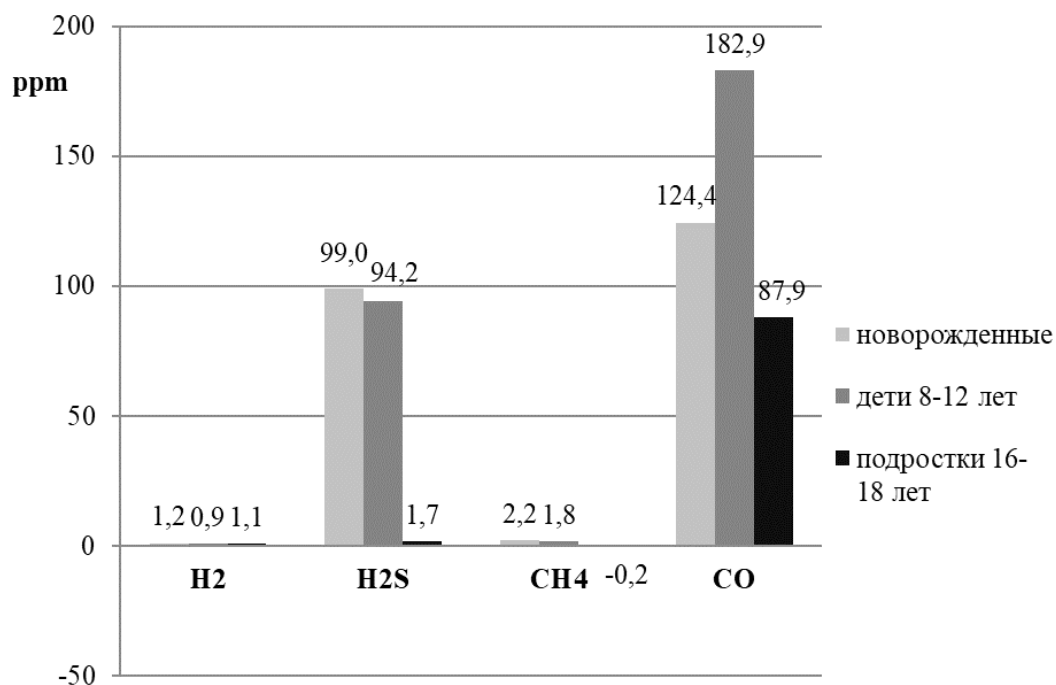


Рис. 2. Распределение газовых сигнальных молекул у лактобацилл в процессе их жизнедеятельности у детей разных возрастных групп.

Таблица 1. Распределение атмосферных газов, выделяемых и поглощаемых микроорганизмами детей разных возрастных групп

Поглощаемые и выделяемые атмосферные газы	Новорожденные		Дети 8–12 лет <i>Lactobacillus</i>	Подростки 16–18 лет <i>Lactobacillus</i>
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Lactobacillus</i>		
O ₂ (%)	-4,5	-12,1	-0,2	-8,3
N ₂ (%)	17,7	-30,7	4,9	-31,9
CO ₂ (ppm)	15699,5	145263,8	26196,5	148658,9

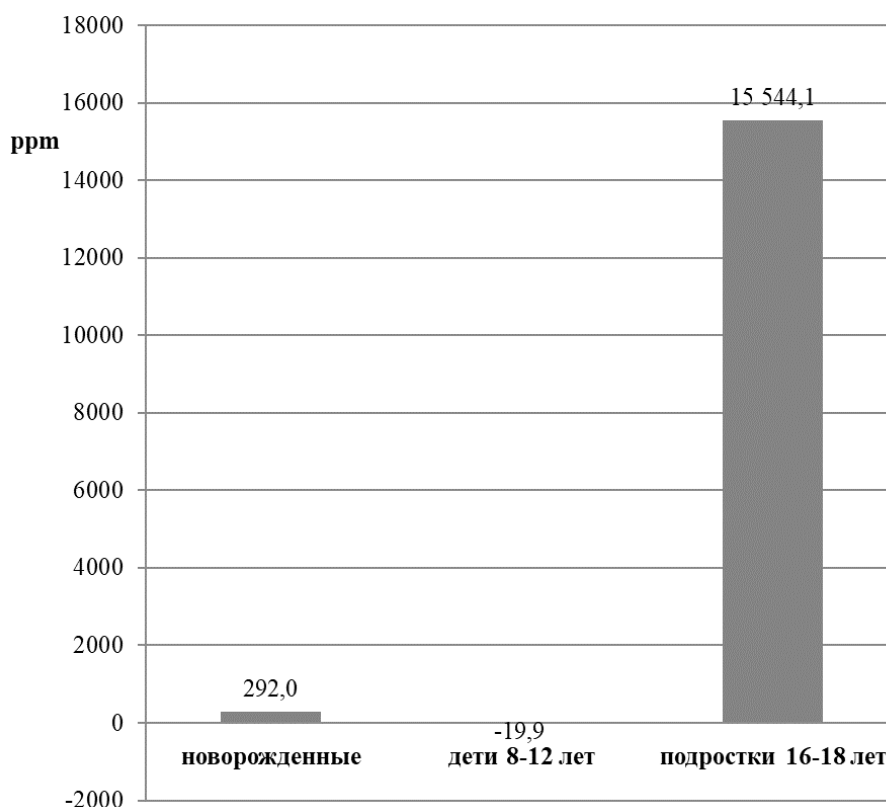


Рис. 3. Выделение NO у лактобацилл в процессе их жизнедеятельности у детей разных возрастных групп.

центрацию H₂S (1,7 ppm) и CO (87,9 ppm) и полное отсутствие продукции CH₄ (рис. 2).

Лактобациллы, выделенные от детей 8–12 лет, показали поглощение NO (–19,9 ppm), а от подростков 16–18 лет — активное продуцирование NO (15544,1 ppm), в 50 раз больше, чем у новорожденных (292 ppm) (рис. 3).

При изучении выделения и поглощения атмосферных газов микроорганизмами, показано, что лактобациллы новорожденных и подростков более активно поглощают кислород и азот и соответственно выделяют больше углекислого газа. Показатели атмосферных газов, выделенные от золотистого стафилококка новорожденных

и от лактобацилл детей 8–12 лет, были практически одинаковыми и не отличались большими особенностями (табл. 1).

Известно, что сероводород является цитопротектором нервной и сердечно-сосудистой систем, а угарный газ в физиологических концентрациях оказывает кардиопротективный и противовоспалительный эффект [7]. По данным литературы многие кишечные микроорганизмы (в том числе бактерии рода *Lactobacillus*) образуют H₂S в нижних отделах пищеварительного тракта за счет продукции широкого спектра ферментов [8]. H₂ является субстратом при образовании метана, сероводорода и ацетата и защищает клетки от окислительных

повреждений [9]. CH_4 — нервно-мышечный трансмисмиттер, способный снижать перистальтику кишечника [10]. В настоящее время установлено, что NO может выступать как нейротрансмисмиттер/нейромодулятор в мозге и в периферийной нервной системе [11].

Выводы

Таким образом, установлено, что бактерии рода *Lactobacillus*, как представители нормальной микрофлоры новорожденных, выделяли газовые сигнальные молекулы (NO, H_2S и CO) в больших концентрациях, чем *Staphylococcus aureus*. Среди газовых сигнальных мо-

лекул NO и CO выделялись в больших концентрациях лактобациллами здоровых детей разных возрастных групп. Микробиота новорожденных и детей 8–12 лет проявляет более выраженную метаболическую активность, чем у подростков 16–18 лет, за исключением высокой продукции NO лактобациллами подростков. Можно предположить, что за счет продукции лактобациллами газовых сигнальных молекул происходит регуляция многих физиологических процессов в клетках и тканях, в частности морфогенетических, метаболических, кардиопротективных, противовоспалительных, иммунорегулирующих, нейромодулирующих, репродуктивных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Червинец В. М., Червинец Ю. В., Михайлова Е. С., и др. Микробиоценоз кишечника и иммунный статус у детей младшего школьного возраста // Клиническая лабораторная диагностика. 2013. № 1. С. 49–51.
2. Althaus M., Clauss W. G. Gasotransmitters: novel regulators of ion channels and transporters // Front Physiol. 2013. № 4. 27 p.
3. Belizario J. E., Napolitano M. Human microbiomes and their roles in dysbiosis, common diseases, and novel therapeutic approaches // Front. Microbiol. 2015. № 6. 1050 p.
4. Shenderov V. A. Human Microbial Ecology and its Role in the Health // Metamorphoza. 2014. № 5. P. 72–80.
5. Червинец Ю. В., Червинец В. М., Миронов А. Ю. Симбиотические взаимоотношения лактобацилл и микроорганизмов желудочно-кишечного тракта: монография. Тверь: Центр Твер. гос. мед. ун-та, 2016. 214 с.
6. Способ диагностики газового состава метаболитов микробиоты человека: пат. 2683949 Российская Федерация, МПК G01N30/00 / В. М. Червинец, Ю. В. Червинец, Е. А. Беляева, Л. Ф. Червинец, А. В. Червинец, С. Н. Лебедев; ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России — № 2018112296; заявл. 05.04.18; опубл. 03.04.2019.
7. Farrugia G., Szurszewski J. H. Carbon monoxide, hydrogen sulfide, and nitric oxide as signaling molecules in the gastrointestinal tract // Gastroenterology. 2014. № 147(2). P. 303–313.
8. Shatalin K., Shatalina E., Mironov A., et al. H_2S : A universal defense against antibiotics in bacteria // Science. 2011. № 334. P. 986–990.
9. Ishibashi T., Sato B., Rikitake M., et al. Consumption of water containing a high concentration of molecular hydrogen reduces oxidative stress and disease activity in patients with rheumatoid arthritis: an open-label pilot study // Medical Gas Research. 2012. № 2. 27 p.
10. Sahakian A. B., Jee S. R., Pimentel M. Methane and the gastrointestinal tract // Dig Dis Sci. 2010. № 55. P. 2135–2143.
11. Lundberg J. O., Weitzberg E. Biology of nitrogen oxides in the gastrointestinal tract // Gut. 2013. № 62(4). P. 619–629.

© Червинец Вячеслав Михайлович (chervinets@mail.ru), Червинец Юлия Вячеславовна (julia_chervinets@mail.ru), Козлова Екатерина Андреевна (eabelyaeva1@mail.ru), Григорьянц Элина Олеговна (lina.grigo@gmail.com), Степанова Эмма Валерьевна (s-emma@list.ru), Урекешов Бактыберген Садыкович (bakhty64@mail.ru), Насухин Шадыман Бактыгереевич (shada63@mail.ru), Жанаманова Раушан Нурболатовна (roza.new.west@mail.ru), Зевалкина Елена Викторовна (ezevalkina@list.ru).

Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»