

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2022

Червинец В.М.¹, Червинец Ю.В.¹, Чичановская Л.В.¹, Ганзя Д.В.¹, Григорьянц Э.О.¹, Беляев В.С.¹, Миронов А.Ю.^{2,3}

СПЕКТР ГАЗОВЫХ СИГНАЛЬНЫХ МОЛЕКУЛ КИШЕЧНЫХ ЛАКТОБАЦИЛЛ У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ

¹ФГБОУ ВО Тверской государственный университет Минздрава РФ, 170100, Тверь, Россия;

²ФБУН Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, 125212, Москва, Россия;

³ФГБУ Академия постдипломного образования ФНКЦ ФМБА России, 115682, Москва, Россия

*Представлена характеристика кишечной микробиоты лиц с ишемическим инсультом (ИИ), включающая в себя спектр, частоту встречаемости и количество микроорганизмов, спектр и количество газовых сигнальных молекул, выделяемых лактобациллами. Установлено, что у больных с ИИ в 2-3 раза снижается высеваемость основных представителей нормальной микрофлоры – бифидобактерий, лактобацилл, кишечной палочки, в 2-3 раза увеличивается выделяемость клостридий, бацилл, пептострептококков, клебсиелл, в 25% изолируется *S. albicans*. Лактобациллы, выделенные из кишечной микробиоты больных ИИ, представлены широким разнообразием видов *L. rhamnosus*, *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. pentosus*, *L. curvatus*, *L. salivarius*. Они в большинстве случаев не продуцируют NO, в 2 раза меньше выделяют CO по сравнению со здоровыми людьми. Наиболее активные продуценты NO – *L. plantarum*, CO – *L. rhamnosus*.*

Ключевые слова: газовые сигнальные молекулы; ишемический инсульт; кишечная микробиота.

Для цитирования: Червинец В.М., Червинец Ю.В., Чичановская Л.В., Ганзя Д.В., Григорьянц Э.О., Беляев В.С., Миронов А.Ю. Спектр газовых сигнальных молекул кишечных лактобацилл у больных ишемическим инсультом. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2022; 67 (3): 163-169. DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-3-163-169>

Для корреспонденции: Червинец Вячеслав Михайлович, д-р мед. наук, проф., зав. каф. микробиологии и вирусологии с курсом иммунологии; e-mail: chervinets@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 10.12.2021

Принята к печати 25.12.2021

Опубликовано 25.03.2022

Chervinets V.M.¹, Chervinets Yu.V.¹, Chichanovskaja L.V.¹, Ganzja D.V.¹, Grigoryants E.O.¹, Belyaev V.S.¹, Mironov A.Yu.^{2,3}

THE SPECTRUM OF GAS SIGNALING MOLECULES OF INTESTINAL LACTOBACILLI IN PATIENTS WITH ISCHEMIC STROKE

¹Tver State Medical University, 170100, Tver, Russia;

²G.N. Gabrichevskogo Moscow research institute for epidemiology and microbiology, 125212, Moscow, Russia;

³Russian academy of post-graduate education Federal Research and Clinical Center of Specialized Medical Care and Medical Technologies FMBA of Russia, 115682, Moscow, Russia

The work characterizes the intestinal microbiota of patients with ischemic stroke, including the spectrum, frequency and number of microorganisms, as well as the spectrum and amount of gas signaling molecules secreted by lactobacilli. It was found that in patients with ischemic stroke, the frequency of the main representatives of normal microflora, Bifidobacterium spp., Lactobacillus spp., Escherichia coli, decreased in 2-3 times, and the same time the prevalence of Clostridia spp., Bacillus spp., Peptostreptococcus spp., Klebsiella spp. increased in 2-3 times; yeast like fungi C. albicans was isolated in 25% of cases. Lactobacilli isolated from the intestinal microbiota of patients with ischemic stroke were represented by a wide variety of species: L. rhamnosus, L. fermentum, L. plantarum, L. brevis, L. pentosus, L. curvatus, L. salivarius. In most cases, they did not produce NO, they released CO 2 times less compared to healthy people. The most active NO producers – L. plantarum, CO – L. rhamnosus.

Key words: gas signaling molecule; ischemic stroke; intestinal microbiota.

For citation: Chervinets V.M., Chervinets Yu.V., Chichanovskaja L.V., Ganzja D.V., Grigoryants E.O., Belyaev V.S., Mironov A.Yu. The microbiome of oral cavity patients with periodontitis, adhesive and biofilm forming properties. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2022; 67 (3): 163-169 (in Russ.). DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-3-163-169>

For correspondence: Chervinets V. M., Doctor of Medical Sciences, professor, head of the department of microbiology and virology with course of immunology; e-mail: chervinets@mail.ru

Information about authors:

Chervinets V.M., <https://orcid.org/0000-0001-6549-0010>;
Chervinets Yu.V., <https://orcid.org/0000-0001-9209-7839>;
Chichanovskaja L.V., <https://orcid.org/0000-0002-3808-4866>;
Ganzja D.V., <https://orcid.org/0000-0002-3376-6585>;
Grigoryants E.O., <https://orcid.org/0000-00036-4712-3043>;
Belyaev V.S., <https://orcid.org/0000-0002-7165-5077>;
Mironov A. Yu., <https://orcid.org/0000-0003-4148-0752>.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 10.12.2021

Accepted 25.12.2021

Published 25.03.2022

Введение. Желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) – самый густо заселённый микроорганизмами биотоп организма человека. ЖКТ содержит от 100 тыс. до 100 млн микроорганизмов, суммарно включает более 600 родов [1,2]. Наиболее часто в ЖКТ встречаются представители типа *Firmicutes* (79.4%), *Bacteroidetes* (16.9%), *Actinobacteria* (2.5%), *Proteobacteria* (1%) [3]. Согласно современным представлениям, число клеток микроорганизмов в микробиоте человека в 100 раз превышает количество его соматических клеток. Продукты их метаболизма могут влиять на различные стороны жизнедеятельности организма [4,5].

Среди регуляторов внутри- и межклеточной коммуникации в организме млекопитающих [6], помимо известных сигнальных молекул (аминокислот, биогенных аминов, пептидов, катехоламинов, эндорфинов, гормонов и т. д.), особая роль принадлежит простым по химической структуре газообразным соединениям эндотелиального и микробного происхождения: оксиду азота – NO, оксиду углерода – CO, сероводороду – H₂S, водороду – H₂, метану – CH₄, аммиаку – NH₃ и др. Газовые молекулы (ГМ) могут проявлять свою биологическую активность в месте своего образования, в соседних клетках, системно, вдали от места своего синтеза. После образования ГМ не накапливаются, а быстро проникают через цитоплазматические мембраны в различные клетки и взаимодействуют в них с внутриклеточными ферментами и ионными каналами сердечно-сосудистой, нервной, иммунной, дыхательной и других систем организма, что свидетельствует об универсальном значении ГМ для жизнедеятельности всех живых организмов [7–9].

Биологически активные соединения (аутоиндукторы – АУ), связанные с метаболической активностью пробиотических микроорганизмов, потенциально способны участвовать в любых физиологических функциях, метаболических, сигнальных, поведенческих реакциях, внутри- и межклеточном обмене информации. Механизмы их воздействия могут быть различны у симбиотических и пробиотических микроорганизмов. АУ позволяют симбиотическим микроорганизмам распознавать окружающую среду, взаимодействовать между собой и с клетками организма хозяина. АУ запускают каскад процессов в прокариотических и эукариотических клетках, когда их количество достигает определённого уровня («quorum sensing» – QS). АУ взаимодействуют с рецепторами клеток, с распознающими их регуляторными белками и, в конечном счёте, активируют экспрессию соответствующих генов в ДНК микроорганизмов, митохондрий и эукариотических клеток хозяина. Благодаря АУ, микроорганизмы и клетки организма обмениваются информацией и координируют свою деятельность. Сигнальные молекулы рассматривают в научной литературе как «слова» в информационном молекулярном «языке». Пробиотические микроорганизмы синтезируют и распознают широкий спектр АУ различной химической природы. Наиболее изученными являются летучие и другие органические кислоты, лактоны, пептидные феромоны, фураноны и другие АУ, участвующие в реализации QS; белки, АТФ и другие соединения, продуцируемые при стрессовых воздействиях; белки, пептиды и аминокислоты, простейшие метаболиты микроорганизмов (CH₄, H₂S, NO, CO, H₂, H₂O₂ и т. д.); нуклеиновые кислоты, нуклеотиды, нуклеозиды, витамины, амины, полиамины, гормоноподобные субстанции, нейротранс-

миттеры, полисахариды, олигосахариды, пептидогликаны, липотейхоевые кислоты, гликопептиды, липополисахариды, антимикробные соединения различной химической структуры, лектины, биосурфактаны, пигменты и т. д. [10 – 14,29].

Ряд метаболитов микробиоты имеют связь с развитием инсульта. Например, триметиламин-N-оксид (ТМАО), уровень которого в сыворотке крови выше у пациентов с ишемическим инсультом (ИИ) [15]; короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК), низкий уровень которых в кале коррелирует со степенью тяжести инсульта [16]. Особый интерес среди метаболитов микробиоты представляют ГМ: NO, CO, H₂S, H₂, CH₄, NH₃ и др., регулирующие метаболизм организма хозяина [17–19].

Цель работы – определение видового спектра и количества микробиоты толстой кишки у больных с ИИ и выявление продукции ГМ у лактобацилл в сравнении со здоровыми людьми.

Материал и методы. В исследование включена контрольная группа здоровых – 25 человек (5 мужчин и 20 женщин) в возрасте от 19 до 20 лет, проживающих в городе Твери и не имеющих в анамнезе перенесенного инсульта, и не предъявляющих жалоб на состояние здоровья.

В основную группу больных вошли 132 человека с ИИ в возрасте от 38 до 86 лет (средний возраст 60,8±10,2 лет), среди них 72 мужчины и 60 женщин, находившихся на лечении в специализированных отделениях для лечения острой недостаточности мозгового кровообращения (ОНМК), и в реабилитационном центре г. Твери. Все обследованные пациенты характеризовались не грубым неврологическим дефицитом (медиана составила 2 балла по шкале NIHSS).

Согласие на обработку персональных данных и взятие биоматериала для микробиологических исследований проводили согласно разрешению Этического комитета ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России.

На момент развития ИИ 47% больных курили, гипертоническая болезнь отмечалась у 87% обследованных, ишемическая болезнь сердца – у 27% больных, фибрилляция предсердий – у 12% пациентов, хроническая сердечная недостаточность – у 16% больных, сахарный диабет 2 типа – у 18% обследованных. 82% больных перенесли первый ИИ, а 18% – повторный ИИ.

Для микробиологического исследования брали кал у лиц контрольной здоровой и основной групп. Материал брали утром и в течение 2-х часов доставляли в бактериологическую лабораторию. Осуществлялось стандартное бактериологическое исследование материала для определения спектра и распространённости кишечной микробиоты, и их количественных показателей.

Использованы питательные среды: Эндо для энтеробактерий, маннит-солевой агар (M118) для стафилококков, агар Бёрда-Паркера для выявления лецитиназной активности, M 304-стрептококковый агар и Колумбийский кровяной агар для стрептококков и энтерококков, МРС-лактоагар для лактобактерий, для грибов рода *Candida* – Сабуро декстроза агар и хромогенные среды (HiMedia, Индия). Для культивирования анаэробов использован бифидоагар и кровяной агар Шедлера. Анаэробные условия созданы в анаэрогатах при помощи газогенераторных пакетов BBL®. Культивирование проводили при температуре 37° С в течение 24–48 ч. Количество колоний выражали в lg КОЕ/г или lg КОЕ/мл. идентификацию осу-

шествовали по биохимической активности с применением API тест-систем (bioMérieux, Франция). Идентификацию энтеробактерий осуществляли с помощью идентификационных систем EnterotubeII и Oxi/FermTube (BBL®). Определение вида анаэробов проводили на API тест-системах bioMérieux (API 20 A), стрептококков – (API 20 Strep), стафилококков – (API 20 Staph), грибов – API AUX. В работе использован программно-аппаратный комплекс Диаморф Цито® (ДиаМорф, Россия).

Производство сигнальных ГМ (H_2 , O_2 , N_2 , CO , CH_4 , CO_2 , NO , H_2S) определяли методом газовой хроматографии на приборе Хроматэк-Кристалл 5000.2, оснащённым детектором по теплопроводности (ДТП), пламенно-ионизационным детектором (ПИД), электрозахватным детектором (ЭЗД), подключенными последовательно, что обеспечивает одновременный анализ горючих и негорючих компонентов [28,29]. ПИД использован для детекции углеродсодержащих газов (CO , CO_2 , CH_4), ЭЗД для определения NO , H_2S , H_2O ; ДТП – для H_2 , O_2 , N_2 [28,29]. Анализ проводился в режиме программирования температуры в течение от 6 до 15 минут. Количество выделенных газов измеряли в ppm (от англ. parts per million, – «частей на миллион»), млн⁻¹ или мд. 1 mg/mL=1000 ppm, 1 ppm=0.001 mg/mL с учётом контроля газов над незасеянной питательной средой [12].

Данные исследований обработаны с помощью прикладной программы «STATISTICA» (StatSoftRussia) и BIOSTAT.

Результаты. Из фекалий контрольной здоровой группы обследуемых лиц в большинстве случаев выделены бактерии рода *Bifidobacterium* spp., в 88% – *Escherichia coli*, в 84% – *Enterococcus* spp., в 56% – *Lactobacterium* spp., в 48% – *Staphylococcus* spp., в 32% – *Bacteroides* spp., в 28% – *Bacillus* spp., в 24% – *Streptococcus* spp., в 16% – *Clostridium* spp., *Proteus mirabilis* и *Peptostreptococcus* spp., менее чем в 10% – *Staphylococcus aureus*, *Candida tropicalis*, *Micrococcus* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Peptococcus* spp., *Proteus vulgaris*, *Veillonella* spp., *Enterobacteriaceae* и *Corynebacterium* spp. Количество выделенных микроорганизмов варьировало от 4,34 lg КОЕ/мл у *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus* spp. до 7,66 lg КОЕ/мл у *Peptococcus* spp., *Bifidobacterium* spp.

Из фекалий основной группы лиц с ИИ в 78% случаев выделены бактерии рода *Enterococcus* spp., в 50% – *Clostridium* spp., в 44,44% – *Bacillus* spp., в 42% – *Peptostreptococcus* spp., в 39% – *Enterobacteriaceae* spp. и *Bifidobacterium* spp., в 36% – *Escherichia coli*, в 33% – *Staphylococcus* spp. и *Klebsiella pneumoniae*, в 28% – *Bacteroides* spp., *Lactobacillus* spp., в 25% встречалась *Candida albicans*, которая не выделялась от здоровых людей, в 19% случаев выделен *Proteus vulgaris*, *Streptococcus* spp. Менее чем в 10% случаев выделены – *Micrococcus* spp., *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium* spp., *Actinomyces* spp., *Veillonella* spp., *Peptococcus* spp. Количество выделенных микроорганизмов варьировало 5-6 lg КОЕ/мл у *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus* spp. *Streptobacillus* spp., *Peptococcus* spp., *Klebsiella* spp., *C. albicans*, 6-7 lg КОЕ/мл у *Enterococcus* spp., *Lactobacterium* spp., *Bacteroides* spp., *Clostridium* spp., *Bacillus* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Enterobacteriaceae*, *Proteus* spp., *Streptococcus* spp., *Corynebacterium* spp. В количестве 7,4-7,8 lg КОЕ/мл выделены *Bifidobacterium* spp., *Veillonella* spp., *Actinomyces* spp.

Кишечная микробиота здоровых лиц содержала лактобациллы видов: *L. rhamnosus* (6), *L. fermentum* (4),

L. plantarum (2), *L. paracasei* (1), *L. casei* (1). Кишечная микробиота больных ИИ включала большее количество видов лактобацилл: *L. rhamnosus* (5), *L. fermentum* (1), *L. plantarum* (7), *L. brevis* (1), *L. pentosus* (1), *L. curvatus* (1), *L. salivarius* (1).

Определена продукция сигнальных ГМ лактобациллами нормофлоры, выделенными от здоровых лиц и от пациентов с ИИ. Лактобациллы кишечника больных ИИ по сравнению с лактобациллами здоровых лиц имеют следующие показатели продукции сигнальных ГМ. Оксид азота (NO) лактобациллы в основном потребляли и только два штамма выделяли небольшое его количество (*Lactobacillus fermentum* – 144 ppm, *Lactobacillus plantarum* – 327 ppm). У здоровых людей NO выделялся в гораздо большем количестве, в среднем 15544,1 ppm. Продукция CO лактобациллами, выделенными от больных с ИИ, в среднем на 30 ppm меньше (87,8 ppm у здоровых лиц и 57,2 ppm у пациентов с ИИ). В 2 раза меньше выделяют CO_2 лактобациллы, выделенные от больных с ИИ (148658,9 ppm у здоровых лиц и 76395,9 ppm у пациентов с ИИ). Потребление азота (N_2) лактобациллами, выделенными у здоровых людей, в 6 раз больше, чем у больных (-31,852 ppm у здоровых лиц и -7,686 ppm у пациентов с ИИ). В небольших количествах отмечено потребление кислорода (O_2) лактобациллами обеих групп (-8,26 ppm у здоровых лиц и -5,039 ppm у пациентов с ИИ). (табл. 1 и 2), (рис. 1).

Обе группы характеризуются выделением H_2S в небольших количествах. Лактобациллы пациентов с ИИ выделяют больше H_2S , в среднем 3,5 ppm, практически не выделяют H_2 и CH_4 .

Проанализирована продукция основных газовых сигнальных молекул (NO и CO), выделяемых лактобациллами разных видов от здоровых лиц и пациентов с ИИ (рис. 2).

При сравнении количества продукции оксида азота кишечными лактобациллами двух групп, выявлено, что NO выделяют в основном лактобациллы у здоровых лиц, причём наибольшая продукция характерна для *L. plantarum* (45710,785 ppm), а наименьшая для *L. rhamnosus* (4594,039 ppm). У пациентов с ИИ оксид азота синтезируют в небольшом количестве только два штамма лактобацилл: *Lactobacillus plantarum* – 327 ppm и *L. fermentum* – 144,043 ppm. Остальные штаммы – потребляют NO .

При сравнении количества продукции CO кишечными лактобациллами двух групп, выявлено, что выделение CO характерно для всех кишечных лактобацилл обеих групп. В группе здоровых лиц наибольший синтез CO выявлен у *L. rhamnosus* (89,5 ppm), минимальный – у *L. plantarum* (11,1 ppm). У лиц с ИИ максимальные показатели CO зарегистрированы у *L. plantarum* (76,5 ppm), минимальные – у *L. fermentum* (52,2 ppm).

Различий в продукции других сигнальных ГМ (CH_4 , H_2 , H_2S), выделяемых лактобациллами разных видов от здоровых лиц и пациентов с ИИ не выявлено.

Обсуждение. Среди регуляторов внутри- и межклеточной коммуникации в организме млекопитающих особая роль принадлежит простым по химической структуре ГМ эндотелиального и микробного происхождения: NO , CO , H_2S , H_2 , CH_4 , NH_3 и др. ГМ проявляют биологическую активность в месте своего образования, в соседних клетках, системно. ГМ проникают через мембраны в различные клетки и взаимодействуют в них с

Таблица 1

Продукция газовых сигнальных молекул лактобациллами у здоровых лиц

Проба	O ₂ , %	N ₂ , %	H ₂ , ppm	NO ppm мг/мл	H ₂ S ppm	CH ₄ ppm	CO ₂ ppm	CO ppm
<i>L.rhamnosus</i> 24	-6,78	-16,907	0,475	5565,861	-	0,561	27484,072	80,118
<i>L.rhamnosus</i> 7	-6,697	-15,921	1,732	4852,255	-	0,871	29787,664	58,925
<i>L.fermentum</i> 11	-9,466	-24,454	0,971	19759,856	-	-0,597	220029,74	10,675
<i>L.fermentum</i> 2	-16,652	-57,135	1,067	19336,578	1,158	-1,052	222828,516	-16,724
<i>L.fermentum</i> 279	-15,013	-47,578	-	3569,541	0,710	-0,665	255600,967	73,744
<i>L.fermentum</i> 11	-17,016	-54,155	0,817	26494,468	-	-1,13	252486,74	-17,312
<i>L. paracasei</i> 237	16,081	-49,624	0,403	25194,88	0,803	-0,884	256080,976	-25,076
<i>L.rhamnosus</i> 32	-7,079	-18,218	-	9120,103	-	0,128	67300,383	45,184
<i>L.rhamnosus</i> 38	-2,42	-6,454	-	736,949	-	0,087	520,874	196,256
<i>L.rhamnosus</i> 381	-14,896	-49,132	-	4912,396	3,016	-0,644	253548,358	94,297
<i>L.rhamnosus</i> 263	-14,618	-47,151	-	2376,667	2,773	-0,678	236102,685	62,237
<i>L. plantarum</i> 46	-7,466	-19,238	2,357	6127,288	-	1,241	34674,331	-0,795
<i>L. casei</i> 17	-9,748	-30,277	0,686	4276,058	-	0,135	14661,246	45,531
<i>L. plantarum</i> 357	-3,9	-9,687	-	85294,282	-	-0,478	210118,07	22,944
Среднее	-8,26	-31,852	1,0635	15544,084	1,692	-0,22	148658,90	87,857

Таблица 2

Газовые сигнальные молекулы лактобацилл больных ишемическим инсультом

Проба	O ₂ , %	N ₂ , %	NO ppm	H ₂ S ppm	CH ₄ ppm	CO ₂ ppm	CO ppm
<i>Lactobacillus brevis</i> 25	-14,342	-46,477	-15,327	0,920	-1,302	257075,248	1,511
<i>Lactobacillus pentosus</i> 10	-4,6	-1,018	-7,434	8,334	-1,228	244149,779	8,071
<i>Lactobacillus curvatus</i> 18	-2,628	-2,516	-5,94	-	-0,003	4802,078	23,633
<i>Lactobacillus salivarius</i> 1	-7,54	-2,1	-7,308	-	-0,278	685,393	86,828
<i>Lactobacillus plantarum</i> 5	-4,739	-7,249	-1,342	1,954	0,72	39279,577	13,663
<i>Lactobacillus plantarum</i> 37	-3,422	-7,908	-12,765	-	0,076	36689,42	125,969
<i>Lactobacillus plantarum</i> 2	-4,222	-6,778	-0,117	11,157	0,236	22151,255	49,595
<i>Lactobacillus plantarum</i> 27	-4,516	-8,462	0,531	11,175	0,826	45411,565	26,269
<i>Lactobacillus plantarum</i> 7	-6,653	-3,177	1,669	-	0,669	18557,738	193,755
<i>Lactobacillus plantarum</i> 38	-2,041	-6,142	327,02	-	-1,007	247459,48	13,445
<i>Lactobacillus plantarum</i> 29	-3,22	-6,596	6,736	-	-0,203	31766,088	106,117
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> 27	-4,279	-8,16	-7,104	18,563	1,079	42711,201	34,109
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> 26	-5,915	-6,011	-6,62	4,033	0,082	5537,2	55,173
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> 35	-5,773	-3,858	-1,157	0,785	-0,527	1367,345	64,507
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> 25	-4,041	-5,566	-4,698	2,660	1,181	30195,167	100,872
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> 26	-4,717	-4,027	-3,288	-	1,237	28544,256	18,14
<i>Lactobacillus fermentum</i> 19	-3,021	-4,612	144,043	-	-0,947	242345,358	52,154
Среднее	-5,039	-7,686	23,968	3,5	-0,003	76395,773	57,283

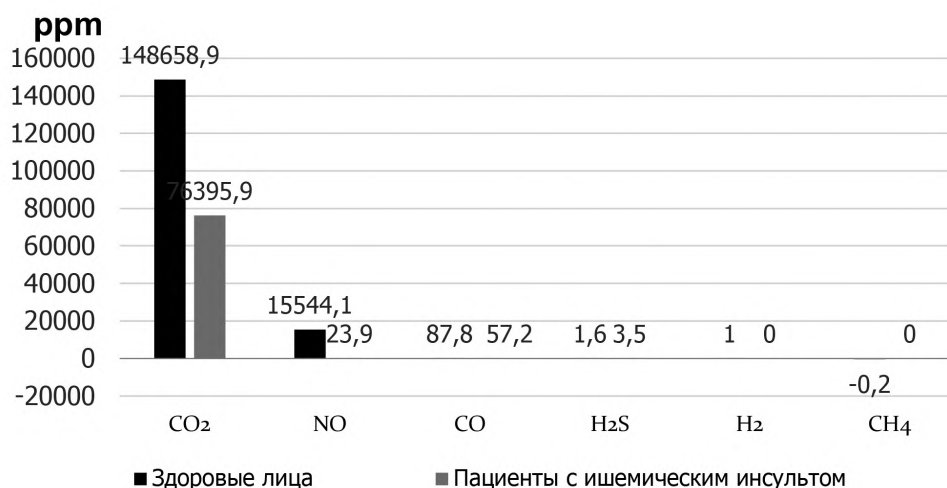


Рис. 1. Газовая метаболическая активность кишечных лактобацилл здоровых лиц и больных с ишемическим инсультом.

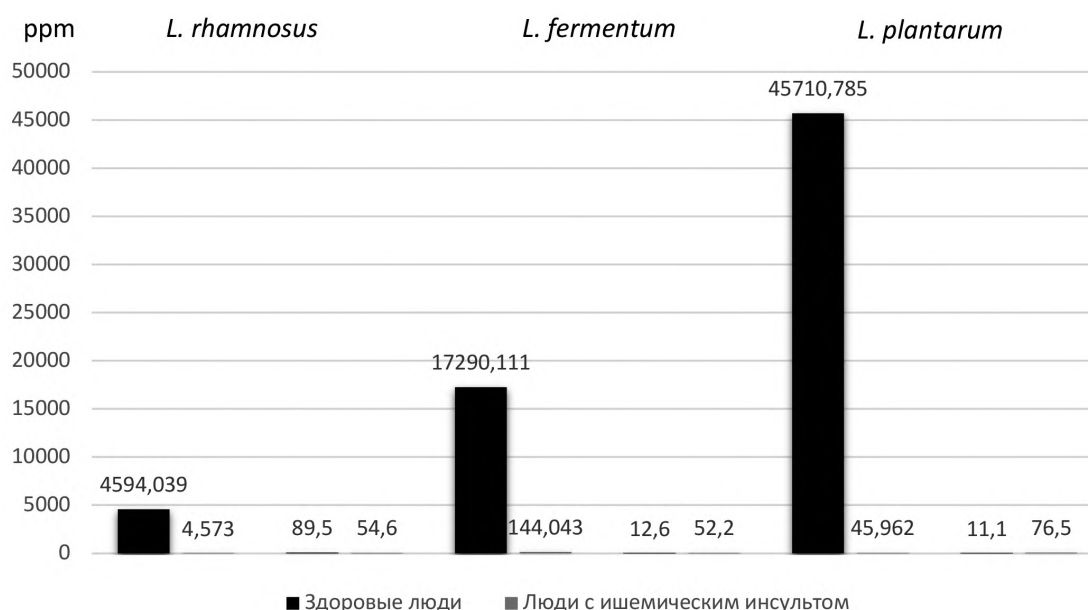


Рис. 2. Продукция NO и CO кишечными лактобациллами у здоровых лиц и больных с ишемическим инсультом.

внутриклеточными ферментами и ионными каналами сердечно-сосудистой, нервной, иммунной, дыхательной и других систем организма [7–9].

Ряд метаболитов микробиоты взаимосвязаны с развитием инсульта. Особый интерес среди метаболитов микробиоты представляют ГМ: NO, CO, H₂S, H₂, CH₄, NH₃ и др., регулирующие метаболизм хозяина [17–19]. Особую роль среди них играет NO, являющийся вазодилататором, его синтез в организме опосредуют 3 изоформы фермента NO-синтазы: нейрональная NOS (nNOS или NOS-1), цитокин-индуцибельная NOS (iNOS или NOS-2), эндотелиальная NOS (eNOS или NOS-3). Основной механизм действия NO заключается в стимуляции растворимого фермента гуанилатциклазы в клетках гладких мышц сосудов, чтобы вызвать образование цГМФ. Циклический ГМФ активирует протеинкиназу G, способствующую обратному захвату цитозольного кальция в саркоплазматический ретикулум, изгнанию кальция из клетки и открытию активируемых кальцием калиевых каналов. Внутриклеточная концентрация кальция снижается и КЛЦМ больше не может фосфорилировать миозин, при этом наступает расслабление гладкомышечных клеток [20]. Содержание NO в плазме крови у здоровых лиц выше 15,3 мкмоль/л, чем у пациентов с ИИ на 1-й и 2-й дни (<10 мкмоль/л). На 7-й день содержание NO в крови пациентов с ИИ приблизилось к значениям здоровой группы [21].

Особое внимание следует обратить на NO бактериального происхождения, как на потенциальный предиктор ИИ. NO образуется в результате ферментации нитратов оральной и кишечной микробиотой. Данный путь метаболизма называется энтеросаливарный или путь нитрат-нитрит-NO. Нитраты продуктов при попадании в полость рта подвергаются ферментативному восстановлению до нитрита нитратредуктазами бактерий. Нитрит заглатывается и может метаболизироваться двумя путями: 1) протонирование до HNO₂ в желудке; 2) дальнейшее восстановление нитритредуктазами кишечных бактерий до NO. Далее NO в виде нитрожир-

ных кислот попадает в кровоток [22, 23]. Представители микробиоты полости рта, способные восстанавливать нитраты до нитритов локализируются на криптах языка. К ним относят *P. melaninogenica*, *V. dispar*, *H. parainfluenzae*, *N. subflava*, *V. parvula*, *F. nucleatum*, *C. concisus*, *L. buccalis*, *P. intermedia*, представители родов *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Actinomyces*. При дисбиозе полости рта, обусловленном, в частности, пародонтизом, пародонтопатогенные микроорганизмы, такие как *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia*, *T. denticola* вызывают в тканях пародонта выброс цитокинов IL-1b, 6, 8 и TNF-а, ингибирующих выработку NO в системном кровотоке [24]. В кишечнике наиболее активными продуцентами NO считаются представители родов *Lactobacillus* (*L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *L. acidophilus*), *Streptomyces* и *Bifidobacterium* (*B. longum infantis*). Нитрат может восстанавливаться в нитрит *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *L. acidophilus* прямо в кишечнике. Однако, для этого необходимы два условия: как можно более высокая концентрация нитратов и 0-2% содержание кислорода в среде. То же самое касается восстановления нитрата до NO. При введении различного количества нитритов в среду продукция лактобациллами NO обратно пропорциональна повышению pH среды (чем среда щелочнее, тем ниже продукция NO) [25].

Низкое содержание лактобацилл и бифидобактерий ведёт к недостатку выработки ими ГМ (NO, CO, H₂S, H₂), являющихся плейотропными медиаторами, имеющими свои мишени в различных тканях и органах, прежде всего, в нервной и сердечно-сосудистой системах. CO способен проявлять антиоксидантные свойства. Проявляя антиапоптотические и антипролиферативные свойства, CO способен защищать ткани от гипоксии и реперфузионных повреждений. NO является нейромедиатором и может участвовать в восстановлении нейронов ЦНС после локальных повреждений при ИИ, участвует в процессах долговременной синаптической потенциации, связанной с образованием памяти [26]. Эндогенно образующийся NO проявляет выраженные антигипер-

тензивные свойства, тормозит агрегацию тромбоцитов в сосудах, оказывает цитопротективное действие в условиях ишемии, снижает выраженность окислительного стресса. Недостаток в крови NO может явиться критерием риска развития артериальной гипертензии [27].

При комплексном лечении ИИ необходимо восстановить уровень нормальной микрофлоры ЖКТ путём применения пробиотиков на основе лактобацилл, продуцирующих сигнальные ГМ (прежде всего NO, CO), оказывающих нейромодулирующее, кардиостимулирующее, иммуномодулирующее и другие полезные воздействия на организм. Для этого необходима разработка пробиотиков и кисломолочных продуктов на основе штаммов лактобацилл, образующих в физиологических концентрациях NO, CO, участвующих в восстановлении нейронов ЦНС.

Заключение. У больных с ИИ в 2-3 раза снижена высеваемость основных представителей нормальной кишечной микрофлоры – бифидобактерий, лактобацилл, *E. coli* и в 2-3 раза увеличена выделяемость клостридий, бацилл, пептострептококков, клебсиелл и других энтеробактерий, в 25% изолировались *C. albicans*.

Лактобациллы кишечной микрофлоры больных ИИ, представлены *L. rhamnosus*, *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. pentosus*, *L. curvatus*, *L. salivarius*. Они в большинстве случаев не продуцируют, а потребляют NO, в 2 раза меньше выделяют CO по сравнению со здоровыми людьми. У пациентов с ИИ наиболее активными продуцентами сигнальных ГМ являются *L. plantarum* (по синтезу NO) и *L. rhamnosus* (по синтезу CO).

При комплексном лечении ИИ возникает необходимость восстановить уровень нормальной микрофлоры ЖКТ путём применения пробиотиков на основе штаммов лактобацилл, продуцирующих сигнальные ГМ (прежде всего NO, CO), оказывающих нейромодулирующее, кардиостимулирующее, иммуномодулирующее и другие полезные воздействия на организм.

Необходима разработка пробиотиков и кисломолочных продуктов на основе штаммов лактобацилл, образующихся в физиологических концентрациях NO, CO, участвующих в восстановлении нейронов ЦНС.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1, 3, 5, 7–10, 14–17, 19–25 см. REFERENCES)

2. Чаплин А.В., Ребриков Д.В., Болдырева М.Н. Микробиом человека. *Вестник российского государственного медицинского университета*. 2017; 2: 5-13.
4. Шендеров Б.А. Функциональное и персональное питание. Современное состояние и перспективы. *Гастроэнтерология Санкт-Петербурга*. 2010; 2-3: 2-5.
6. Шендеров. Б.А. Роль эндогенных и микробных газовых молекул в физиологии и патофизиологии нервной, сердечно-сосудистой системы. *Вестник восстановительной медицины*. 2015; 5: 58-65.
11. Червинец Ю.В., Червинец В.М., Миронов А.Ю. Симбиотические взаимоотношения лактобацилл и микроорганизмов желудочно-кишечного тракта. Тверь: Издательство РИЦ ТГМА; 2016.
12. Червинец Ю.В., Червинец В.М., Беляева Е.А. и др. Способ диагностики газового состава метаболитов микрофлоры человека. Патент РФ № 2683949; 2019.
13. Шендеров Б.А. Микробная экология человека и её роль в поддержании здоровья. *Метаморфозы*. 2014; 5: 72-80.
18. Ситдикова Г.Ф., Зефирова А.Л. Сероводород: от канализации Парижа к сигнальной молекуле. *Природа*. 2010; 9: 29-37.

26. Кузнецова В.Л., Соловьёва А.Г. Оксид азота: свойства, биологическая роль, механизмы действия. *Современные проблемы науки и образования*. 2015; 4: 927-34.
27. Умнягина И.А., Блинова Т.В., Страхова Л.А., Иванова Ю.В., Трошин В.В., Колесов С.А., Фомина Ю.Н. Эндотелин-1 и метаболиты оксида азота в диагностике риска артериальной гипертензии у лиц молодого и среднего возраста, работающих во вредных условиях труда. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66 (9): 525-32.
28. Миронов А.Ю. Газовая хроматография и масс-спектрометрия в диагностике анаэробов. *Альманах клинической медицины*. 2012; 26: 45-51.
29. Миронов А.Ю., Зур Н. В. Молекулярные маркёры патогенов. М.: ООО «Тираж»; 2013.

REFERENCES

1. Dang A.T., Marsland B.J. Microbes, metabolites, and the gut-lung axis. *Mucosal immunology* 2019; 12: 843-50. DOI: 10.1038/s41385-019-0160-6
2. Chaplin A.V., Rebrikov D.V., Boldyreva M.N. Human mikrobiom. *Vestnik Rossiyskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*. 2017; 2: 5-13. (in Russian)
3. Bingula R., Filaire M, Radosevic-Robin N., Bey M., Berthon J.Y., Bernalier-Donadille A et al. «Desired Turbulence? Gut-Lung Axis, Immunity, and Lung Cancer» *Journal of oncology*. 2017 (2017): 5035371. DOI:10.1155/2017/5035371.
4. Shenderov B.A. Functional and personal nutrition. Modern condition and perspectives. *Gastroenterologiya Sankt-Peterburga*. 2010; 2-3: 2-5. (in Russian)
5. Pflughoeft K.J., Versalovic J. Human Microbiome in Health and Disease. *Ann. Rev. Pathol. Mech. Dis* 2012; 7: 99-122.
6. Shenderov. B.A. The role of endogenous and microbial gas molecules in physiology and pathophysiology of nervous and cardiovascular system. *Vestnik vosstanovitel'noy meditsiny*. 2015; 5: 58-65. (in Russian)
7. Althaus M. Gasotransmitters: novel regulators of epithelial Na(+) transport? *Frontiers in Physiology*. 2012; 3:83. DOI:10.3389/fphys.2012.00083.
8. Althaus M, Clauss WG. Gasotransmitters: novel regulators of ion channels and transporters. *Frontiers in Physiology*. 2013; 4: 27. DOI:10.3389/fphys.2013.00027.
9. Hezel M.P., Weitzberg E. The oral microbiome and nitric oxide homeostasis. *Oral Diseases*. 2015; 21(1): 7-16. DOI:10.1111/odi.12157.
10. Shenderov B.A., Sinita A.V., Zakharchenko M.M., Christine Lang. Metabiotics. Present state, challenges and perspectives. *Springer Nature Switzerland AG*. 2020, (eBook). DOI:10.1007/978-3-030-34167-1.
11. Chervinets Yu.V., Chervinets V.M., Mironov A.Yu. Symbiotic relationship between lactobacilli and microorganisms of the gastrointestinal tract. Tver': Tverskaya gosudarstvennaya meditsinskaya akademiya; 2016. (in Russian)
12. Chervinets Yu.V., Chervinets V.M., Beljaeva E.A., Chervinets L.F., Chervinets A.V., Lebedev S.N. Method for diagnosing the gas composition of human microbiota metabolites. Patent RF № 2683949; 2019. (in Russian)
13. Shenderov B.A. The human microecology and its role in supporting of the human health. *Metamorfozy*. 2014; 5: 72-80. (in Russian)
14. Shenderov B.A. Probiotic (symbiotic) bacterial languages. *Anaerobe*. 2011; 17: 490-5.
15. Rexidamu M, Li H, Jin H, Huang J. Serum levels of Trimethylamine-N-oxide in patients with ischemic stroke. *Bioscience reports*. 2019; 39(6):BSR20190515. DOI:10.1042/BSR20190515.
16. Tan C., Wu Q., Wang H, Gao X., Xu R., Cui Z. et al. Dysbiosis of Gut Microbiota and Short-Chain Fatty Acids in Acute Ischemic Stroke and the Subsequent Risk for Poor Functional Outcomes. *Journal of parenteral and enteral nutrition*. 2021; 45(3):518-29. DOI:10.1002/jpen.1861.

17. Tinajero-Trejo M., Jesse H.E., Poole R.K. Gasotransmitters, poisons, and antimicrobials: it's a gas, gas, gas! *F1000Prime Report*. 2013; 5:28. DOI:10.12703/P5-28.
18. Sitdikova G.F., Zefirov A.L. Hydrogen sulfide: from the sewers of Paris to the signaling molecule. *Priroda*. 2010; 9: 29-37. (in Russian)
19. Kim-Shapiro D.B., Gladwin M.T. Mechanisms of nitrite bioactivation. *Nitric oxide: biology and chemistry*. 2014. 38:58-68 DOI:10.1016/j.niox.2013.11.002.
20. Yingzi Zhao, Paul M. Vanhoutte, Susan W.S. Leung, Vascular nitric oxide: Beyond eNOS. *Journal of Pharmacological Sciences* 2015; 129(2): 83-94. <https://doi.org/10.1016/j.jphs.2015.09.002>.
21. Serrano-Ponz M., Rodrigo-Gasqué C., Siles E., Martínez-Lara E., Ochoa-Callejero L., Martínez A. Temporal profiles of blood pressure, circulating nitric oxide, and adrenomedullin as predictors of clinical outcome in acute ischemic stroke patients. *Molecular medicine reports* 2016; 13(5):3724-34. DOI:10.3892/mmr.2016.5001.
22. Koch C.D., Gladwin M.T., Freeman B.A., Lundberg J.O., Weitzberg E., Morris A. Enterosalivary nitrate metabolism and the microbiome: Intersection of microbial metabolism, nitric oxide and diet in cardiac and pulmonary vascular health. *Free radical biology & medicine* 2017; 105:48-67. DOI:10.1016/j.freeradbiomed.
23. DeMartino A.W., Kim-Shapiro D.B., Patel R.P., Gladwin M.T. Nitrite and nitrate chemical biology and signalling. *British journal of pharmacology* 2019; 176(2):228-45. DOI:10.1111/bph.14484.
24. Pignatelli P., Fabietti G., Ricci A., Piattelli A., Curia M.C. How Periodontal Disease and Presence of Nitric Oxide Reducing Oral Bacteria Can Affect Blood Pressure. *International journal of molecular sciences*.2020; 21(20):7538. DOI:10.3390/ijms21207538.
25. Tiso M, Schechter AN. Nitrate reduction to nitrite, nitric oxide and ammonia by gut bacteria under physiological conditions. *PLoS One*. 2015; 10 (3):e0119712. Published 2015 Mar 24. DOI:10.1371/journal.pone.0119712.
26. Kuznetsova V.L., Solov'eva A.G. Nitrogen oxide: properties, biological role, mechanisms of action. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya* 2015; 4: 927-34. (in Russian)
27. Umnyagina I.A., Blinova T.V., Strakhova L.A., Ivanova Yu.V., Troshin V.V., Kolesov S.A., Fomina Yu.N. Endothelin-1 and nitrogen oxide metabolites in risk diagnostics of arterial hypertension in persons of young and middle ages occupied in harmful working conditions. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika* 2021; 66 (9): 525-32. DOI:10.51620/0869-2084-2021-66-9-525-532. (in Russian)
28. Mironov A. Yu. Gas chromatography and mass spectrometry in the diagnosis of anaerobes. *Al'manakh klinicheskoy meditsiny*. 2012; 26: 45-51. (in Russian)
29. Mironov A. Yu., Zur N. V. Molecular markers of pathogens *Molekulyarnye markyory patogenov*]. Moscow: Tirazh; 2013. (in Russian)