

3
НОМЕР

БОНЦ

ISSN 2304-9081

ЭЛЕКТРОННЫЙ ЖУРНАЛ
On-line версия журнала на сайте
<http://www.elmag.uran.ru>

БЮЛЛЕТЕНЬ

ОРЕНБУРГСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА УРО РАН

Lycaena thersamon (Esper, 1784)
Червонец блестящий
Шовкун Д.Ф.



2019

УЧРЕДИТЕЛЬ
ОРЕНБУРГСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР УРО РАН

© Коллектив авторов, 2019

УДК 618.215-008.87

С.Ю. Досова, И.И. Стольникова, В.М. Червинец, Ю.В. Червинец

ВАГИНАЛЬНЫЙ МИКРОБИОМ ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН

Тверской государственной медицинской академии, Тверь

Данная статья посвящена анализу микробиома влагалища здоровых женщин, проживающих в Тверском регионе, а также спектра выделяемых лактобациллами газовых сигнальных молекул, играющих важную роль в поддержании здоровой жизнедеятельности организма.

Ключевые слова: вагинальный микробиом, газовые сигнальные молекулы, лактобациллы.

S.Yu. Dosova, I.I. Stolnikova, V.M. Chervinets, Yu.V. Chervinets

VAGINAL WOMEN MICROBIOME

Tver State Medical University, Tver, Russia

This article is devoted to the study of vaginal microbiome of healthy women in Tver region, as well as to the study of the spectrum of gas signal molecules released by them, which play important role in maintaining a healthy body.

Key words: vaginal microbiome, gas signaling molecules, lactobacilli.

Введение

Вагинальный микробиом женщины, который содержит примерно 10% женской микробиоты, играет исключительную роль в поддержании в физиологической норме мочеполовой тракт, предупреждая развитие в нем патологических изменений.

Вагинальный микробиом, содержащий не менее 50 видов микроорганизмов, находится в тесной симбиотической связи со структурными компонентами влагалища и другими биотопами микробной экологической системы, а также с функциональной активностью всей мочеполовой системы, особенно ее иммунной и эндокринной деятельностью.

Эстрогенные гормоны способствуют насыщению эпителия гликогеном, который используют в качестве основного питательного субстрата микроор-

ганизмы, способные к его метаболизму [1, 3, 4]. Это одна из причин доминирующего положения в составе вагинального микробиома здоровой женщины репродуктивного возраста штаммов лактобацилл, для которых гликоген является оптимальным субстратом для обеспечения жизнедеятельности.

Дополнительными факторами селективных преимуществ вагинальных лактобацилл по сравнению с другими микроорганизмами является их высокая скорость размножения во влажной слизи, адгезия к поверхности эпителиоцитов с формированием биопленки, синтез перекиси водорода, лизоцима, бактериоцинов, стимуляция местного иммунитета [6]. Благодаря этим свойствам лактобациллы в процессе эволюции оказались наиболее приспособлены к колонизации влагалища и конкурентному вытеснению из него других микроорганизмов. Об этом свидетельствует высокая концентрация лактобацилл в вагинальном секрете (до 10^9 КОЕ/см³).

Помимо лактобацилл, в составе вагинального микробиома всегда присутствуют факультативные микроорганизмы. Их популяционный уровень в норме не превышает 3-4%, однако видовой состав достаточно разнообразен [1, 2]. Все эти микроорганизмы являются условно-патогенными, и при снижении активности и популяционного уровня нормальной микробиоты они могут вызывать различные заболевания.

При нормальном состоянии микробиома эти микроорганизмы непродолжительно персистируют в вагинальном биотопе, не увеличивая уровень своих популяций выше 10^4 КОЕ/см³ и не вызывая патологических изменений.

Коммуникации между микроорганизмами реализуются посредством регуляторной системы, получившей название quorum sensing, в которой механизм авторегуляции развития микробных популяций осуществляется при достижении развивающейся культурой определенной плотности популяции [2]. Микроорганизмы в биопленке непрерывно обмениваются между собой сигнальными молекулами, активирующими или приостанавливающими развитие сообщества.

Целью данной работы являлся анализ состава и функциональной активности микробиома влагалища здоровых женщин Тверского региона с выявлением продукции лактобациллами простых сигнальных молекул.

Материал и методы

Для исследования брали мазки из влагалища у 33 здоровых женщин в возрасте 20-22 лет. Забор материала делали утром до мочеиспускания сте-

рильным тампоном на полистироловой палочке с площади 1 см^2 и в течение 2 часов доставляли в бактериологическую лабораторию.

Для выделения факультативно анаэробных и аэробных бактерий использовали следующие среды: Эндо агар для энтеробактерий; маннит-солевой агар (M118) для стафилококков, микрококков; для выявления лецитиназной активности – агар Бэрда-Паркера; M 304 – стрептококковый агар; МРС – лактоагар; Сабуро декстроза агар – для дрожжевых грибов; Колумбия кровяной агар – для энтерококков, бацилл, а также хромогенные среды фирмы «HiMedia»; для культивирования анаэробов использовали среды бифидоагар и кровяной Шедлер агар. Анаэробные условия создавались в анаэростатах при помощи газогенераторных пакетов BBL. Культивирование проводили при температуре 37°C в течение 24-48 часов. Количество колоний выражали в Ig КОЕ/мл. Идентификация осуществлялась по биохимической активности с применением API систем (bioMereux). В работе был использован программно-аппаратный комплекс Диаморф Цито (Диаморф, Россия).

Продукцию газовых сигнальных молекул (H_2 , O_2 , N_2 , CO , CH_4 , CO_2 , NO , H_2S) определяли с помощью метода газовой хроматографии на приборе Хроматэк-кристалл 5000.2, оснащенного детектором по теплопроводности (ДТП), пламенно-ионизационным детектором (ПИД) и электрозахватным детектором (ЭЗД), подключенными последовательно, что обеспечивает одновременный анализ горючих и негорючих компонентов. ПИД используется для детекции углеродсодержащих газов (CO , CO_2 , CH_4), ЭЗД для определения NO , H_2S , H_2O , а ДТП – для H_2 , O_2 , N_2 . Разделение газовой смеси проводилось на трехметровой надосадочной и капиллярной хроматографической колонках, заполненной полимером MN270, фракции 100-125 мкм. В качестве эталона для калибровочных кривых использовались чистые газы (CO , CH_4 , CO_2 , N_2 , H_2S , Ar , H_2 , N_2 , NO) с объемной долей компонентов (ООО «Мониторинг», Санкт-Петербург). 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 мг. $1 \text{ mg/mL} = 1000 \text{ ppm}$, $1 \text{ ppm} = 0.001 \text{ mg/mL}$.

Результаты и обсуждение

В материале из влагалища 33 здоровых женщин (рис. 1) чаще выделялись лактобациллы (63,6% случаев), энтерококки (57,6%), бифидобактерии (48,5%). Реже выделялись эпидермальные стафилококки, пептококки (36,4%),

пептострептококки (33,3%), бациллы (27,3%), грибы рода *Candida* (21,2%), бактериоды (18,2%) и менее 10% проходило на золотистый стафилококк, стрептококки, микрококки, вейлонеллы, гарднереллы, актиномицеты.

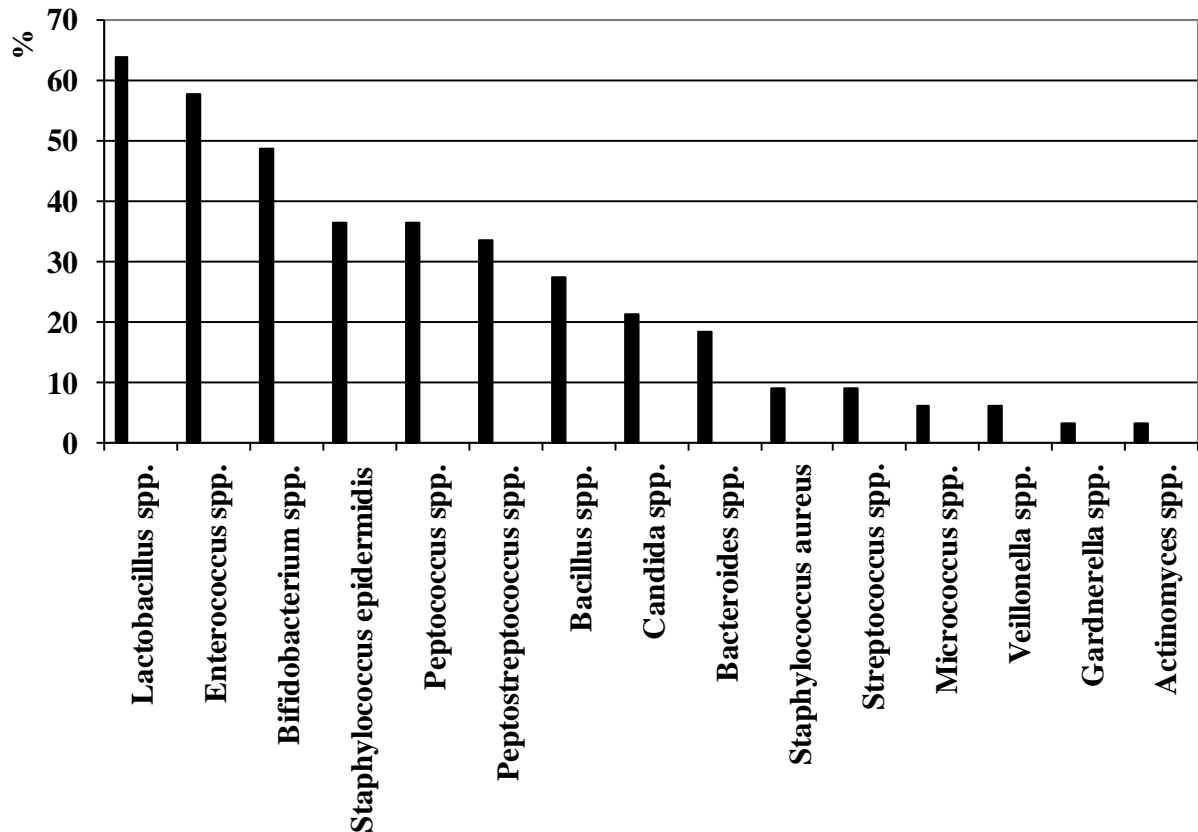


Рис. 1. Спектр и частота встречаемости микроорганизмов влагалища у здоровых девушек.

Количество микроорганизмов варьировало (рис. 2) от 2,2 lg КОЕ/см² у золотистого стафилококка до 6,8 lg КОЕ/см² у гарднерелл. Количество лактобацилл в среднем составляло 3,8 lg КОЕ/см², количество энтерококков, бифидобактерий, пептококков, пептострептококков, бактериодов, микрококков, вейлонелл – более 4 lg КОЕ/см².

Микроорганизмы выделялись в ассоциации от 2 до 6, чаще лактобациллы, энтерококки, пептококки, пептострептококки, бифидобактерии и бактериоды.

Из исследуемого материала выделено 30 штаммов лактобацилл. С помощью API систем идентифицированы различные их виды: *L. rhamnosus*, *L. salivarius*, *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. buchneri*, *L. paracasei spp. paracasei*.

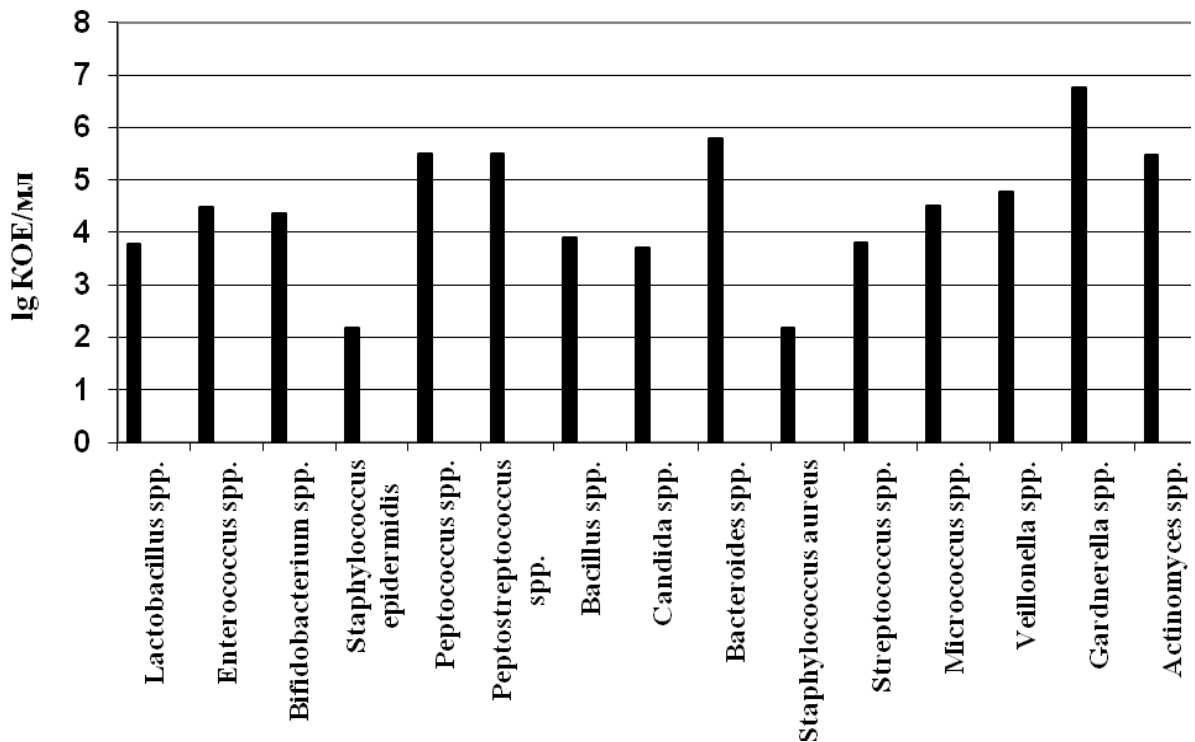


Рис. 2. Количество микроорганизмов влагалища у здоровых девушек.

В процессе своей жизнедеятельности лактобациллы вырабатывают разнообразные газовые сигнальные молекулы, но наиболее значимыми были результаты по трем газам: CO_2 , CO и NO . Все выделенные штаммы лактобацилл выделяли большую концентрацию CO_2 (117425,7 ppm), и активно потребляли O_2 (-7 ppm) и N_2 (-18 ppm).

Продукция CO была зарегистрирована у 23 штаммов лактобацилл (76,7%), в среднем составляя 431,37 ppm. У 7 штаммов (23,3%) обнаружены отрицательные результаты, то есть они потребляли этот газ.

Оксид азота вырабатывали 27 штаммов лактобацилл в разных концентрациях, в основном относящимся к видам *Lactobacillus fermentum* и *L. plantarum*. У 9 штаммов (30%) концентрация NO колебалась от 100 до 23752 ppm, в среднем составляя 11803,09 ppm. У 18 штаммов бактерий (60%) концентрация окиси азота варьировала от 10 до 100 ppm (в среднем 45,3 ppm), и 3 штамма этот газ не выделяли.

Продукция других газов (H_2 , CH_4 , H_2S) была очень низкой, составляя не более 3 ppm.

За последние годы проведены многочисленные исследования, показывающие чрезвычайно важную роль данных газообразных веществ в организ-

ме человека.

Так, окись азота способствует поддержанию гомеостаза сосудов, вызывая расслабление гладких мышц стенок сосудов и угнетая их рост и утолщение интимы сосудов (гипертензивное ремоделирование сосудов), а также ингибируя адгезию и агрегацию тромбоцитов, адгезию лейкоцитов к эндотелию сосудов. Кроме того, данный газ секретируется фагоцитами в процессе иммунного ответа в качестве одного из свободных радикалов и является высокотоксичным для бактерий и внутриклеточных паразитов; повышение его эндогенного синтеза является маркером воспаления. Эндогенный угарный газ (CO) – также одна из важных эндогенных сигнальных молекул, модулирует функции ЦНС и сердечно-сосудистой системы, ингибирует агрегацию тромбоцитов и их адгезию к стенкам сосудов. Углекислый газ является одним из важнейших медиаторов ауторегуляции кровотока. Он, являясь мощным вазодилататором, оказывает положительное хроно- и инотропное действие на миокард, а также влияет на деятельность иммунной системы, повышает сопротивляемость организма к бактериальным и вирусным инфекциям, участвует в обмене биологически активных веществ, влияет на проницаемость клеточных мембран и активность ферментов; CO₂ регулирует возбудимость нервных клеток, стабилизирует интенсивность продукции гормонов и степень их эффективности, участвует в процессе связывания белками ионов кальция и железа [5-9].

Заключение

Таким образом, установлено, что спектр основного микробиома влагалища здоровых женщин в возрасте 20-22 года представлен бактериями нормальной микробиоты родов *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bifidobacterium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Bacillus*, *Staphylococcus* (эпидермальные штаммы). Условно-патогенные бактериоиды, золотистый стафилококк, стрептококки, микрококки, вейлонеллы, гарднереллы и актиномицеты, а также грибы рода *Candida* выделялись в редких случаях. Различные штаммы лактобацилл выделялись у 91% здоровых женщин. Среди газовых молекул, продуцируемых лактобациллами, преобладают CO₂, CO и NO.

Учитывая важную роль, которые играют данные газообразные вещества в организме, в том числе оказывают влияние на деятельность ЦНС и работу иммунной системы, данный вопрос требует дальнейшего изучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анкирская А.С. Бактериальный вагиноз. *Акушерство и гинекология*. 2005. № 3: 10-13.
2. Гинцбург А.Л., Ильина Т.С., Романова Ю.М. "Quorum sensing" или социальная жизнь бактерий. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2003. № 5: 86-93.
3. Кира Е.Ф., Берлев И.В., Молчанов О.Л. Особенности течения беременности, родов и послеродового периода у женщин с дисбиотическими нарушениями влагалища. *Журнал акушерства и женских болезней*. 1999. Вып. 2. Т. XLVII: 8-11.
4. Янковский Д.С., Дымент Г.С. Улучшение репродуктивного здоровья женщины путем оптимизации микроэкологии пищеварительного и урогенитального тракта. *Репродукт. здоровье женщины*. 2007. № 3: 148-154.
5. Aleshkin V.A., Voropaeva E.A., Shenderov B.A. Vaginal microbiota in healthy women and patients with bacterial vaginosis and nonspecific vaginitis *Microbial Ecology in Health and Disease*. 2006. 18: 71-74.
6. Rui Wang. Gasotransmitters: growing pains and joys . *Trends Biochem Sci*. 2014. Т. 39, № 5: 227-232.
7. Червинец Ю.В., Червинец В.М., Миронов А.Ю. Симбиотические взаимоотношения лактобацилл и микроорганизмов желудочно-кишечного тракта. Тверь: Центр Твер. гос. мед. ун-та, 2016. 214с.
8. Chervinets Yu., Chervinets V., Shenderov B., Belyaeva E., Troshin A., Lebedev S., Danilenko V. Adaptation and probiotic potential of lactobacilli, isolated from the oral cavity and intestines of healthy people. *Probiotics and antimicrobial proteins*. 2017 (URL: <https://doi.org/10.1007/s12602-017-9348-9>. 2017).
9. Червинец В.М., Червинец Ю.В., Беляева Е.А., Петрова О.А., Ганина Е.Б. Метаболическая активность высокоантагонистических штаммов лактобацилл здорового человека. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2018. № 4: 11-17.

Поступила 22 августа 2019 г.

(Контактная информация: Досова С.Ю. – аспирант кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Тверской государственной медицинской университет» Минздрава России; адрес: 170100, г. Тверь, ул. Советская, 4; тел. +7 (4822) 34-55-98; e-mail: snegarul@mail.ru)

LITERATURE

1. Ankirskaya A.S. Bacterial vaginosis. *Obstetrics and gynecology*. 2005. № 3: 10-13.
2. Ginzburg A.L. Ilyina T.S., Romanova Yu.M. "Quorum sensing" or social life of bacteria . *Journal of Microbiology, epidemiology and Immunobiology*. 2003. № 5: 86-93.
3. Kira, E. F. Berlev I. V., Molchanov O. L. features of the course of pregnancy, childbirth and the postpartum period in women with vaginal dysbiotic disorders. *Journal of obstetrics and women's diseases*. 1999. Issue 2. Т. XLVII: 8-11.
4. Yankovsky D.S., Dyment G.S. Improving the reproductive health of women by optimizing the microecology of the digestive and urogenital tract. *Reproduction. women's health*. 2007. № 3: 148-154.
5. Aleshkin V.A., Voropaeva E.A., Shenderov B.A. Vaginal microbiota in healthy women and patients with bacterial vaginosis and nonspecific vaginitis. *Microbial Ecology in Health and Disease*. 2006. № 18: 71-74.
6. Rui Wang. Gasotransmitters: growing pains and joys. *Trends Biochem Sci*. 2014. Vol. 39, № 5: 227-232.
7. Chervinets Yu.V., Chervinets V.M., Mironov A.Yu. Symbiotic relationship of lactobacilli and microorganisms of gastrointestinal tract. *Monograph Tver: Center of Tver. State Medical Un., 2016. 214 p.*

8. Chervinets Yu., Chervinets V., Shenderov B., Belyaeva E., Troshin A., Lebedev S., Danilenko V. Adaptation and probiotic potential of lactobacilli, isolated from the oral cavity and intestines of healthy people. Probiotics and antimicrobial proteins. 2017 (URL: <https://doi.org/10.1007/s12602-017-9348-9>. 2017).
9. Chervinets V.M., Chervinets Yu.V., Belyaeva E.A., Petrova O.A., Ganina E. B. Metabolic activity of high-antagonistic strains of healthy lactobacilli. Journal of Microbiology, epidemiology and Immunobiology. 2018. № 4: 11-17.

Образец ссылки на статью:

Досова С.Ю., Стольникова И.И., Червинец В.М., Червинец Ю.В. Вагинальный микробиом здоровых женщин. Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2019. №3. 7с. [Электр. ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2019-3/Articles/SYuD-2019-3.pdf>). DOI: 10.24411/2304-9081-2019-13011.