

РОЛЬ ГАМК В КОРРЕКЦИИ ОТРИЦАТЕЛЬНЫХ ПОСЛЕДСТВИЙ ВЛИЯНИЯ ГИПОКИНЕТИЧЕСКОГО СТРЕССА НА СОСТОЯНИЕ МИКРОФЛОРЫ КИШЕЧНОГО БИОТОПА КРЫС

Шекоян В.А., Геворкян З.У., Абгарян К.Г., Мурадян Д.М., Манукян К.Г., Оганесян М.С., Элбакян А.В., Калачян Ж.Э., Саргсян Л.У., Погосян Г.М.*

ЕГМУ, Кафедра медицинской микробиологии

Получена: 12.10.2021, рецензирована: 22.11.2021, принята: 19.04.2022.

Ключевые слова: гипокинетический стресс, про-светная и пристеночная микрофлора кишечника, транслокация бактерий, гамма-аминомасляная кислота.

Состояние нормальной микрофлоры кишечного биотопа является важным звеном системы, поддерживающей постоянство гомеостаза, поскольку установлена ее роль в функционировании важнейших систем организма, в том числе и иммунной [3, 6, 18, 20].

Воздействие на организм различных факторов экзогенного и эндогенного происхождения, а также стресс, разновидностью которого является гипокинезия – ограничение двигательной активности, вызывают изменения в видовом и количественном составе кишечной микрофлоры [14, 16], что может способствовать возникновению различных патологических процессов.

Гипокинетический стресс различной длительности (острый и хронический) характеризуется многокомпонентностью патогенетического влияния на функционирование важнейших систем организма, в том числе иммунной системы, что проявляется отрицательным влиянием на факторы врожденного и приобретенного иммунитета, морфофункциональную активность макрофагов, Т-лимфоцитов, уровни IL-1, -2, -6, -10, TNF- [10, 13, 19, 22].

Нашими исследованиями [1, 2, 21] показано, что в условиях гипокинетического стресса длительностью 3, 7, 14 и 30 дней наблюдаются выраженные дисбиотические изменения в количественном и качественном составе фекальной и мукозной флоры кишечного тракта крыс, что вызывает нарушение колонизационной

резистентности кишечного барьера и способствует транслокации кишечных бактерий в паренхиматозные органы и мезентериальные лимфоузлы с возможным развитием в них тяжелых патологических процессов, что обуславливает необходимость изыскания методов коррекции отрицательных последствий влияния стресса.

В указанном аспекте перспективным является использование эндогенных биологически активных веществ нервной системы, в частности гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК), среди многочисленных проявлений метаболической активности которой обращают на себя внимание данные, свидетельствующие о ее иммуномодулирующем, антистрессорном и антиоксидантном действии.

В настоящее время установлено, что ГАМК оказывает выраженное иммуностимулирующее действие на факторы неспецифического и приобретенного иммунитета, функциональную активность макрофагов, Т- и В-лимфоцитов крови и органов иммуногенеза, синтезируемых ими цитокинов: IL-2, -10, TNF-, TGF- [8, 11, 12, 17].

В условиях гипокинетического стресса ГАМК-ергическая система нормализует подавленный первичный иммунный ответ, функциональную активность моноцитов, нейтрофилов и лимфоцитов крови, проявляет стимулирующее влияние на фагоцитоз, активность комплемента, гиперпластические процессы в тимусе и селезенке, повышает количество антителопродуцирующих клеток в селезенке и регулирует содержание TNF-, IL-2, пролактина в лимфоидных органах и крови [4, 5, 7, 9, 10].

Выявленные особенности иммуномодулирующего действия ГАМК служат основанием для изучения ее роли в коррекции отрицательных последствий гипокинезии на состояние кишечной микробиоты, что и является целью настоящего исследования.

* АДРЕС ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ

Г.М. Погосян

ЕГМУ, Кафедра медицинской микробиологии

Адрес: ул. Корюна 2, 0025, Ереван, Армения

Эл. почта: gayaner5@yandex.ru

Тел.: (+374) 93 63 39 10

Материал и методы

Исследования проведены на 58 белых беспородных крысах-самцах массой 150-170 г. Животные были разделены на 5 групп: одну контрольную (получавшую в/б физиологический раствор) и четыре подопытные, подвергнутые 3-, 7-, 14- и 30-дневной гипокинезии. Все животные содержались на стандартном рационе в условиях вивария.

Эксперименты проведены в соответствии с критериями доказательной медицины с соблюдением этических норм, получивших положительное заключение Комитета по биоэтике ЕГМУ им. М. Гераци. Декапитация крыс осуществлялась под нембуталовым наркозом (40 мг/кг, в/б).

Предварительно, до моделирования ограничения двигательной активности ГАМК (Sigma-Aldrich) вводилась подопытным животным в дозе по 10 мг/кг внутривенно (в/в) 2 раза ежедневно в течение 6 дней.

Гипокинетический стресс моделировали по ранее описанному нами методу [21]. В условиях гипокинезии животные находились ежедневно в течение 22 часов и только на 2 часа переносились в обычные клетки.

Изучение видового и количественного состава микрофлоры фекалий, слизистой 12-перстной, тонкой (проксимальный отдел) и толстой (дистальный отдел) кишок, паренхиматозных органов (поджелудочная железа, печень, селезенка, легкие), мезентериальных лимфоузлов и крови проводили бактериологическим методом по ранее описанной методике [2, 21]. Окончательную идентификацию проводили на основании тинкториальных, культуральных, биохимических свойств и с помощью тест системы API50 (bioMerieux, France).

Для изучения транслокации кишечных бактерий исследуемые биоптаты взвешивались в асептических условиях и помещались в стерильный физиологический раствор в соотношении 1 мг ткани на 100 мкл раствора на срок до 2 часов. Затем готовились разведения материала в концентрации 10^{-2} - 10^{-6} и по 0,1 мл из каждого разведения переносили на поверхность соответствующей питательной среды, инкубировали при 37 °С в аэробных и анаэробных условиях. Выделяли микроорганизмы наиболее типичные для кишечной микрофлоры человеческого организма: *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*, *E. coli*, *Enterococcus spp.*, *Clostridium spp.*, *Proteus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Candida spp.*

Определяли частоту обнаружения бактерий (%) и их среднюю концентрацию в lg КОЕ/г ткани. Концентрация микробов менее 10^2 КОЕ/г не учитывалась.

Распределение переменных было проверено на

нормальность с помощью тестов Колмогорова – Смирнова и Шапиро-Вилка. Для межгруппового сравнения результатов использовали непараметрический критерий Манна-Уитни. Все анализы выполнялись с использованием программного обеспечения SPSS, версия 16 (SPSSInc, Чикаго, Иллинойс, США). Уровень статистической значимости для всех тестов был $P \leq 0.05$.

Результаты и обсуждение

Нами [21] показано, что при ограничении двигательной активности крыс длительностью 3, 7, 14 и 30 дней происходит существенное уменьшение частоты обнаружения и средней концентрации доминантных бактерий в фекалиях (*Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*, *E. coli*, *Enterococcus spp.*) вплоть до полного их исчезновения в более поздние сроки стресса (14 и 30 дни), что сопровождается нарастанием высеваемости и количества редко встречающихся в полостной микрофлоре кишечника крыс *Clostridium spp.* и *Candida spp.*

При гипокинезии длительностью 3 и 7 дней бифидобактерии и лактобациллы обнаруживались в фекалиях на 40-60% реже, по сравнению с контролем с полным отсутствием на 14 и 30 дни исследования. Еще более выраженные изменения констатируются с *Enterococcus spp.*, которые, не выделяясь из фекалий на 3, 14 и 30 дни стресса, определялись у 26,6% животных только на 7 день, не достигая контрольных величин. Процент высеваемости *E. coli* уменьшился по сравнению с контролем на 3, 7 и 30 дни исследования на 13,4-35,7% при полном отсутствии на 14 день. *Clostridium spp.* и *Candida spp.* выделялись только на 14 день ограничения двигательной активности у 40 и 33,3% животных соответственно. Остальные изученные бактерии (*Staphylococcus spp.* и *Proteus spp.*) из исследованного биоптата не высевались.

В аналогичных условиях эксперимента наблюдается и изменение средней концентрации изученных микроорганизмов. Так, в просветной микрофлоре количество бифидобактерий и лактобацилл по сравнению с контрольной группой уменьшается в 1,7-5 раз в ранние сроки гипокинезии (3 и 7 день) с полным их исчезновением на 14 и 30 дни. Во всех подопытных группах животных на протяжении 3-30 дней отмечается практически полное отсутствие в фекалиях энтерококков, тогда как подобное изменение средних концентрации *E. coli* наблюдается только на 14 день стрессорного воздействия.

Достоверное нарастание средней концентрации *Clostridium spp.* и *Candida spp.* наблюдается на 14 день

Таблица 1

Частота обнаружения микроорганизмов (%) и средняя концентрация (lg КОЕ/г, (Mean ±SE)) в фекалиях в условиях гипокинетического стресса

Исследуемый материал	Фекалии				
	Контроль + физ р-р n=12	3-х дневная гипокинезия + ГАМК n=12	7-дневная гипо- кинезия + ГАМК n=12	14-дневная гипокинезия + ГАМК n=12	30-дневная гипокинезия + ГАМК n=10
<i>Bifidobacterium spp.</i>	83,3% 1,8 ±0,3	50% 1,2±0,4	100% 2,3±0,1	66,6% 1,5±0,3	70% 1,6±0,4
<i>Lactobacillus spp.</i>	75% 1,8 ±0,3	41,6% 1,0 ±0,4	83,3% 1,9 ±0,3	50% 1,1±0,3	60% 1,5±0,4
<i>E. coli</i>	66,6% 1,7±0,4	58,2% 1,3±0,4	75% 1,8 ±0,3	75% 1,6±0,3	60% 1,9±0,4
<i>Enterococcus spp.</i>	58,2% 1,4±0,4	33,3% 0,8±0,4	41,6% 0,9 ±0,3	41,6% 0,9 ±0,3	60% 1,5±0,4
<i>Staphylococcus spp.</i>	0	0	0	0	0
<i>Clostridium spp.</i>	0	0	0	0	0
<i>Proteus spp.</i>	0	0	0	0	0
<i>Candida spp.</i>	0	0	0	0	0

Примечание: разница в средней концентрации микробов контрольной и опытных групп животных недостоверна ($p>0,05$)

гипокинетического стресса.

Предварительное 6-дневное введение ГАМК животным, подвергнутым воздействию гипокинетического стресса в течение 3-30 дней значительно (на 33-100%) увеличивает частоту обнаружения в фекалиях бифидобактерий, лактобацилл, кишечной палочки и энтерококков, а также их среднюю концентрацию, которая достигает контрольных величин. Примечательно, что на 7 день гипокинезии эти показатели даже превышают контрольный уровень (табл. 1).

Необходимо отметить, что полное отсутствие представителей доминантных бактерий полостной микрофлоры в условиях стресса на 14 и 30 дни под влиянием ГАМК практически компенсируется как по частоте их обнаружения (увеличение на 41-70%), так и по средней концентрации в пределах 0,9-1,6 lgКОЕ/г ткани, тем более, что небольшая разница по сравнению с контролем была недостоверной. *Clostridium spp.* и *Candida spp.* в исследованном биоптате не обнаруживались.

Изучение микрофлоры слизистых 12-перстной, тонкой и толстой кишок показало, что гипокинетический стресс способствует значительным изменениям качественного и количественного состава мукозной микрофлоры кишечника, особенно на 7, 14 и 30 дни исследования [2].

Показано, что частота обнаружения бифидобактерий и лактобацилл в исследованных биоптатах

слизистой кишечника, начиная с 7 дня гипокинезии, значительно уменьшается и на 30 день исследования достигает нулевых величин. На 7-30 дни стресса *E. coli* с высокой частотой (53,3 и 66,7%), превышая контрольный уровень в 2,7-3,3 раза, выделялась из 12-перстной и тонкой кишок при средней концентрации 1,47-1,67 lg КОЕ/г, а из слизистой толстой кишки в 35,7-66,7% случаях- при средней концентрации 0,93-1,93 lg КОЕ/г.

Энтерококки и стафилококки в исследованных биоптатах не обнаруживались. *Proteus spp.* выделяли из слизистой толстой кишки только на 30 день исследования (1,07 lg КОЕ/г), а *Candida spp.* – из слизистой всех изученных биоптатов с частотой обнаружения 26,7-46,6% при средней концентрации микроба 0,8-1,47 КОЕ/г, которая была наиболее выражена в пристеночной микрофлоре толстой кишки.

При предварительном 6-дневном введении ГАМК у крыс, находящихся в условиях ограничения двигательной активности, бифидобактерии и лактобациллы выделялись из изученных биоптатов во все сроки исследования с частотой обнаружения в пределах 16,6-25% с очень незначительной их средней концентрацией 0,3-0,6 lg КОЕ/г, которая практически не отличалась от контроля и к тому же разница оказалась недостоверной. *E. coli* высевалась только из слизистой толстого кишечника на 7 и 14 дни гипокинезии с частотой 50 и 25% соответственно в средней концентрации

1,1 и 0,5 Ig КОЕ/г при отсутствии микроба в контроле.

В слизистых 12-перстной, тонкой и толстой кишок все остальные изученные доминантные и ассоциативные микроорганизмы не обнаружены.

Выявленные при гипокинетическом стрессе нарушения в качественном и количественном составе доминантных и ассоциативных бактерий фекальной и мукозной микрофлоры кишечника могут способствовать их транслокации во внутреннюю среду организма с развитием различных патологических процессов и заболеваний.

Эксперименты показали, что при 3 и 30 дневной гипокинезии, и в контроле в изученных биоптатах (поджелудочная железа, печень, селезенка, легкие, мезентериальные лимфоузлы) изученные микроорганизмы не выделялись, тогда как 7 и 14 дневная гипокинезия способствовала транслокации кишечной палочки и стафилококков во внутреннюю среду организма.

Частота выделения *E. coli* на 7 день исследования значительно повышалась в легких, лимфоузлах и селезенке соответственно на 66,7, 60 и 53,3%, при этом наиболее высокие концентрации определялись в легких (1,8 Ig КОЕ/г), а на 14 день исследования происходило значительное уменьшение высеваемости микроба – в 2,5 раза, и средней концентрации – в 3 раза, достоверно не изменяясь в остальных биоптатах.

В аналогичных условиях эксперимента выявлена менее выраженная по сравнению с кишечной палочкой транслокация стафилококка, которая наиболее проявлялась на 14 день гипокинезии. При этом процент высеваемости 46,6 и 40% и средняя концентрация 1,27 и 1,0 Ig КОЕ/г были высокими соответственно в поджелудочной железе и легких.

Предварительное 6 дневное введение ГАМК животным, находящимся в условиях 3, 7, 14 и 30 дневной гипокинезии предотвращает транслокацию стафилококков и кишечной палочки в паренхиматозные органы и мезентериальные лимфоузлы.

Необходимо отметить, что транзитная бактеремия не выявлялась как у контрольных, так и подопытных крыс, находящихся в условиях ограничения двигательной активности в течение 22 часов ежедневно на протяжении 3-30 дней, что, возможно, является следствием элиминации бактерий из крови в результате воздействия гуморальных и клеточных эффекторов врожденного и адаптивного иммунитета.

Таким образом, результаты проведенных экспериментов свидетельствуют, что предварительное введение животным сравнительно низких доз ГАМК на

модели продолжительного гипокинетического стресса оказывает выраженное корректирующее действие на значительные отрицательные изменения в популяционном составе микробиоценоза кишечного тракта. Выявление корректирующего действия ГАМК не только расширяет существующие представления о плеiotропности эффектов ГАМК экстранейронального происхождения, ГАМК-бензодиазепиновых рецепторных комплексов периферического типа в особенностях функционирования микробиоценоза кишечного тракта, но и является основанием для рекомендации применения ГАМК-ергических препаратов ноотропного действия в условиях гипокинезии и изыскания новых селективных агонистов из числа производных и циклических форм ГАМК.

В указанном аспекте значительный интерес представляют данные, свидетельствующие о синтезе ГАМК представителями микрофлоры, выделенными из молочных продуктов и организма человека, в частности, различными штаммами лактобацилл и бифидобактерий [15, 23]. Предполагается, что ГАМК вовлечена в механизмы взаимодействия микроорганизмов кишечника и способность их синтезировать ГАМК может быть важным свойством в селекции штаммов бактерий – психобиотиков.

Показано также, что супернатант, полученный из синтезируемых ГАМК *Lactobacillus brevis*, оказывает выраженное иммунорегулирующее действие на лимфоидные клетки мезентериальных лимфоузлов *in vitro* [11]. Эти данные открывают перспективы для получения из ГАМК – синтезирующих бактерий кишечной микрофлоры пробиотиков для коррекции отрицательных последствий влияния гипокинезии на состояние кишечного микробиоценоза.

Закключение

Таким образом, данные экспериментов свидетельствуют, что предварительное введение животным ГАМК в дозе 10 мг/кг в/б в условиях гипокинетического стресса длительностью 3-30 дней корректирует выраженные нарушения в видовом и количественном составе доминантных и ассоциативных микроорганизмов кишечного микробиоценоза, предотвращает их транслокацию во внутреннюю среду организма и последующее возможное развитие тяжелых патологических состояний и осложнений различных заболеваний, особенно при длительном ограничении двигательной активности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Շեկոյան Վ.Ա., Պողոսյան Գ.Ս., Մուրադյան Դ.Ս. և ուրիշներ: Աղիքային բիոտոպի միկրոֆլորայի վիճակը հիպոկինետիկ սթրեսի պայմաններում: Բժշկություն, գիտություն և կրթություն, 2018;26:62-66.
2. Շեկոյան Վ.Ա., Գևորգյան Զ.Յ., Չալինյան Ս.Յու. և ուրիշներ: Առնետների աղիքային բիոտոպի լորձային միկրոֆլորայի վիճակը տարբեր տևողության շարժողական ակտիվության սահմանափակման պայմաններում: Բժշկություն, գիտություն և կրթություն, 2020;30:6-12.
3. Бухарин О.В., Чайникова И.Н. и соавт. Иммунорегуляторный профиль микросимбионтов кишечного биотопа человека. Журн. микробиол. 2018;4:42-51.
4. Погосян Г.М. Особенности иммуномодулирующего действия ГАМК при гипокинетическом стрессе. Вопросы теоретической и клинической медицины. 2014;5(92):31-38
5. Погосян Г.М., Шекоян В.А. Гипокинетический стресс: иммунонейроэндокринные расстройства и модуляторная роль ГАМК-ергической системы. Медицина, наука и образование. 2015;19:15-21
6. Подопригора Г.И., Кафарская и соавт. Бактериальная транслокация из кишечника: микробиологические, иммунологические и патофизиологические аспекты. Актуальные вопросы инфекционных болезней. 2015;70(6):640-650. Doi:10.15690/vramn564
7. Шекоян В.А. Значение взаимодействия ГАМК и лимфоцитов в регуляции защитных реакций организма в норме и при патологии. Мед. наука Армении. 2000;3:59-62
8. Шекоян В.А., Мурадян Д.М. Иммуномодуляторная активность малых доз ГАМК. Мед. наука Армении. 2003;43(2):37-40
9. Шекоян В.А., Залинян С.Ю. и соавт. Роль ГАМК в коррекции отрицательных последствий влияния гипокинезии на иммунный ответ. Материалы международной конференции посвященной 75-летию ЕГМУ им. М. Гераци, 2005;400-401
10. Abgaryan K., Zalinyan S., Poghosyan G. et al. Shifts in contents of TNF- , IL-2 and prolactin in blood serum and organs of immunogenesis under conditions of long-term hypokinesia. NAMJ. 2010;4(1):7-8
11. Baji S.S., oki J., Dini M. et al. GABA potentiate the immunoregulatory effects of Lactobacillus brevis BGZLS10-17 via ATG5-dependent autophagy in vitro. Sci. Rep., 2020 Jan 28;10(1):1347. doi: 10.1038/s41598-020-58177-2
12. Bhandage A.K., Jin Z., Korol S.V. GABA regulates release of inflammatory cytokines from peripheral blood mononuclear cells and cd4 + t cells and is immunosuppressive in type 1 diabetes. EBioMedicine. 2018;30:283-294. doi: 10.1016/j.ebiom.2018.03.019
13. Chuina O.M., Temur'iants N.A., Makhonina M.M. et al. Effect of hypokinetic stress and low intensity electromagnetic field of extremely high frequency on changes of cytokine concentration in rat blood. FiziolZh. 2005;51:70-78
14. Foster J.A., Rinaman L., Cryan J.F. Stress and the gut-brain axis: Regulation by the microbiome. Neurobiol. Stress. 2017;19(7):124-136
15. Franciosi E., Carafa I., Nardin T. et al. Biodiversity and -Aminobutyric Acid Production by Lactic Acid Bacteria Isolated from Traditional Alpine Raw Cow's Milk Cheeses. BioMed Research International, 2015; Article ID 625740, 11 pages http://dx.doi.org/10.1155/2015/625740
16. Galley J.D., Nelson M.C. et al. Exposure to a social stressor disrupts the community structure of the colonic mucosa-associated microbiota. BMC Microbiol., 2014;14:189
17. Jin Z., Mendu S.K., Birnir B. GABA is an effective immunomodulatory molecule. Amino Acids, 2013;45:87-94
18. Kamada N., Seo S.U., Chen G. et al. Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease. Nat. Rev. Immunol., 2013;13(5):321-35. doi: 10.1038/nri3430
19. Kim H.R., Moon S., Lee H. et al. Immune dysregulation in chronic stress: a quantitative and functional assessment of regulatory T cells. Neuroimmunomodulation, 2012;19(3):187-94. doi: 10.1159/000331586
20. Pagliary D., Gambassi G., Piccirillo C.A. et al. The intricate link among gut immunological niche. Microbiota and Xenobiotics in intestinal pathology. Mediators of Inflammation. 2017;2:1-12. doi:10.1155/2017/8390595
21. Shekoyan V.A., Gevorgyan Z.H., Zalinyan S.Yu. et al. Influence of various duration of hypokinetic stress on intestinal microflora of rats. Medicine, Science and Education. 2019;28:3-7
22. Uchakin P.N., Stowe R., Paddon-Jones D. et al. Cytokine secretion and latent herpes virus reactivation with 28 day of horizontal hypokinesia. Aviat Space Environ Med., 2007;78(6):608-612
23. Yunes R.A., Poluektova E.U., Dyachkova M.S. et al. GABA production and structure of gadB/gadC genes in Lactobacillus and Bifidobacterium strains from human microbiota Anaerobe. 2016;42:197-204. doi: 10.1016/j.anaerobe.2016.10.011

ԱՄՓՈՓՈՒՄ

ԳԱԿԹ-Ի ԴԵՐԸ ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ԱՂԻՔԱՅԻՆ ԲԻՈՏՈՊԻ ՄԻԿՐՈՖԼՈՐԱՅԻ ՎԻՃԱԿԻ ՎՐԱ ՀԻՊՈԿԻՆԵՏԻԿ ՍԹՐԵՍԻ ԱՌԱՋԱՅՐԱԾ ԲԱՑԱՍԱԿԱՆ ՀԵՏԵՎԱՆՔՆԵՐԻ ՀԱՍՈՒՂՂՄԱՆ ԳՈՐԾՈՒՄ

Շեկոյան Վ.Ա., Գևորգյան Զ.Յ., Աբգարյան Զ.Յ., Մուրադյան Դ.Ս., Մանուկյան Կ.Ղ., Հովհաննիսյան Ս.Ս., Էլբակյան Ա.Վ., Ղալաբյան Ժ.Է., Սարգսյան Լ.Յ., Պողոսյան Գ.Ս. ԵՊԲՀ, բժշկական մանրէաբանության ամբիոն

Բանալի բառեր` հիպոկինետիկ սթրես, աղիքների լուսանցքային և առպատային միկրոֆլորա, բակտերիաների տրանսլոկացիա, ԳԱԿԹ:

Մեր հետազոտություններով ցույց է տրվել, որ տարբեր տևողության սակավաշարժության պայմաններում (3-30 օր) առնետների աղիքների կղանքային և լորձային միկրոֆլորայի կազմում նկատվում են արտահայտված դիսբիոտիկ խանգարումներ, որոնք ուղեկցվում են աղիքային պատմեջի կոլոնիզացիոն ռեգիստենտության փոփոխությամբ և հանգեցնում են պարենխիմային օրգաններ ու միջընդերային ավշային հանգույցներ աղիքային բակտերիաների տրանսլոկացիային` դրանցում տարբեր ախտաբանական պրոցեսների զարգացմամբ:

Սույն հետազոտության նպատակն է ուսումնասիրել արտահայտված սթրես-սահմանափակող և իմունոմոդուլացնող ազդեցություն ունեցող ԳԱԿԹ-ի դերը աղիքային միկրոֆլորայի վիճակի վրա հիպոկինետիկ սթրեսի առաջացրած բացասական հետևանքների համուղղման գործում:

Հետազոտություններն իրականացվել են 58 սպիտակ անցել 150-170 գ թաշով արու առնետների վրա, որոնք բաժանվել են 5 խմբի` ստուգիչ և 3, 7, 14 ու 30 օր սակավաշարժության ենթարկված (օրական 22 ժամով), որոնց նախապես 6 օրերի ընթացքում ն/ո ներարկվել է ԳԱԿԹ` 10մգ/կգ (օրը 2 անգամ):

Բակտերիաբանական եղանակով կղանքից, 12-մատնյա, բարակ և հաստ աղիքներից, ենթաստամոքսային գեղձից, լյարդից, փայծաղից, թոքերից, միջընդերային ավշային հանգույցներից ու արյունից անջատվել են *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*, *E.coli*, *Enterococcus spp.*, *Clostridium spp.*, *Proteus spp.*, *Staphylococcus spp.* և *Candida spp.* մանրէները: Ցեղային պատկանելությունը որոշվել է ստանդարտ մեթոդով և API 50 թեստ համակարգի միջոցով

(bioMerieux, France):

Որոշվել է մանրէների հայտնաբերման հաճախականությունը (%) և անջատված մանրէների միջին կոնցենտրացիան (lg ԳԱՄ/գ):

ԳԱԿԹ-ի ներարկումը փորձարարական կենդանիներին եակնորեն (33-100%) մեծացնում է կղանքի դոմինանտ բակտերիաների հայտնաբերման հաճախականությունը և միջին կոնցենտրացիան, որոնք հասնում են ստուգիչ խմբի ցուցանիշներին, իսկ սակավաշարժության 7-րդ օրը նույնիսկ գերազանցում են ստուգիչ խմբի մակարդակը:

Փորձի նույն պայմաններում աղիքների լորձաթաղանթում բիֆիդոբակտերիաների և լակտոբակտերիաների հայտնաբերման հաճախականությունն ու միջին կոնցենտրացիան գրեթե չեն տարբերվում ստուգիչ խմբի տվյալներից: *E.coli*-ն հայտնաբերվել է միայն սակավաշարժության 7-րդ և 14-րդ օրերին 50% և 25% հաճախականությամբ, ու 1,1 և 0,5 lgԳԱՄ/գ միջին կոնցենտրացիայով՝ չհայտնաբերվելով ստուգիչ խմբում:

Աղիքների լորձաթաղանթում մյուս հետազոտվող մանրէները ԳԱԿԹ-ի ազդեցության պայմաններում չեն հայտնաբերվել:

ԳԱԿԹ-ի 6-օրյա նախնական ներարկումը կենդանիներին, որոնք եղել են 3-30 օր սակավաշարժության պայմաններում, կանխում է ստաֆիլոկոկերի և աղիքային ցուպիկի տրանսլոկացիան պարենխիմալ օրգաններ և մեզենտերիալ ավշային հանգույցներ:

Այսպիսով, ստացված տվյալները վկայում են, որ կենդանիներին ԳԱԿԹ-ի նախնական ներարկումը 10 մգ/կգ դեղաչափով 3-30 օր տևողությամբ հիպոկինետիկ սթրեսի պայմաններում համոզողում է աղիքային միկրոբիոցենոզի արտահայտված դիսբիոտիկ փոփոխությունները, կանխում աղիքային մանրէների տրանսլոկացիան օրգանիզմի ներքին միջավայր և ծանր ախտաբանական վիճակների ու բարդությունների հետագա հնարավոր զարգացումը շարժողական ակտիվությունը երկարատև սահմանափակելու դեպքում:

SUMMARY

THE ROLE OF GABA IN THE CORRECTION OF THE NEGATIVE CONSEQUENCES OF HYPOKINETIC STRESS ON MICROFLORA OF INTESTINAL BIOTOPE OF RATS

Shekoyan V.A., Gevorgyan Z.H., Abgaryan K.H., Muradyan D.M., Manukyan K.Gh., Hovhannisyan M.S., Elbakyan A.V., Ghalachyan Zh.E., Sargsyan L.H., Poghosyan G.M.*

YSMU, Medical Microbiology Department

Keywords: hypokinetic stress, luminal and mucosal intestinal microflora, bacterial translocation, GABA.

Our results indicated that hypokinesia of different duration (3-30 days) caused expressed dysbiotic disorders in fecal and mucosal intestinal microflora of rats, followed by changes in colonization resistance of intestinal barrier and the translocation of intestinal bacteria to the parenchymal organs and mesenteric lymph nodes, with the formation of different pathological processes.

The aim of the study was examination of the role of GABA, having the expressed stress-limiting and immune-modulating action, on the correction of the negative consequences of hypokinesia on the intestinal microbiota.

Experiments were carried out on 58 non-linear white male rats, weighing 150-170g. These animals were divided into 5 groups: the control group, and the groups of animals, who were exposed to 3-, 7-, 14- and 30-days of physical activity limitation and were intraperitoneally injected GABA - 10mg/kg during 6 days (twice a day).

Bifidobacterium spp., *Lactobacillus spp.*, *E. coli*, *Enterococcus spp.*, *Clostridium spp.*, *Proteus spp.*, *Staphylococcus spp.* and *Candida spp.* were bacteriologically isolated from the feces, mucosa of duodenum, small and large intestine, pancreas, liver, spleen, lungs, mesenteric lymph nodes and blood. Species identification was carried out using the standard method and the API 50 Test-System (bioMerieux, France).

The frequency of detection in % and average concentration (lg CFU/g) of microbes in the experimental material were deter-

mined.

Experiments have shown that injection of GABA to animals significantly increases the frequency of detection (by 33-100%) of the dominant bacteria in the feces and their mean concentration, which equaled their control values, and on the 7th day of hypokinesia it exceeded the control values.

Under the same conditions, there was no difference detected in the frequency of detection and the average concentration of the bifidobacteria and lactobacilli in both the experimental and control groups. *E. coli* was only isolated from the mucosa of the large intestine on the 7th and the 14th days of hypokinesia with the frequency of 50% and 25% and with the average concentration of 1,1 and 0,5 lg CFU/g correspondingly, as compared with the control group, where these bacteria were absent.

Under the action of GABA, no other bacteria in the mucosa of the intestine were detected.

Preliminary 6-day injection of GABA to animals, which were exposed to hypokinesia for 3-30 days, prevented translocation of the *Staphylococcus* and *E. coli* to the parenchymal organs and mesenteric lymph nodes.

Thus, our data indicated that preliminary injection of GABA (10mg/kg) to animals, which underwent hypokinetic stress for 3-30 days, corrects dysbiotic disorders of intestinal microbiocenosis, prevents translocation of bacteria into internal medium of organism and further possible development of severe pathological conditions and complications in case of prolonged limitation of physical activity.