

Н. М. МИТЮШОВА, Е. Л. ПОПОВ, К. И. ШУМИХИНА, Л. Б. БЕРЛИН,
Ю. Д. ЗИЛЬБЕР, член-корреспондент АН СССР А. М. УГОЛЕВ

О НАЛИЧИИ В ТОНКОЙ КИШКЕ КРЫС БАКТЕРИАЛЬНОЙ ФЛОРЫ, СВЯЗАННОЙ СО СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКОЙ

В течение последних десятилетий было обнаружено, что микробная флора тонкой кишки существенно влияет на структуру и функцию кишечного эпителия, судьбу пищевых веществ и обмен различных компонентов пищеварительных соков, в частности желчных кислот (¹⁻³). Видовой состав, биохимические особенности и численность бактериальной флоры зависят от совокупности условий, которые принято определять как «кишечную экологию», подразумевая под этим химические и физические свойства кишечного содержимого, иммунологические и антибактериальные влияния, оказываемые микроорганизмом на микробную популяцию (⁴⁻⁷).

В кишке существуют две зоны, где совершаются наиболее важные трансформации пищевых веществ,— собственно полость кишки (область полостного пищеварения) и зона щеточной каймы (область мембранного пищеварения) (^{8, 9}). В отличие от полости, сама щеточная кайма стерильна. Показано, что в зоне щеточной каймы и в некоторой близости от свободной поверхности слизистой концентрация конечных продуктов гидролиза значительно более высока, чем в полости (¹⁰). Это позволяет рассматривать поверхность слизистой как особую «экологическую» зону, степень бактериальной заселенности и структура пейзажа которой остаются неизвестными. Теоретически возможны три варианта: 1) она практически стерильна, если учесть, что в этой зоне могут быть наиболее интенсивными иммунобиологические и антибактериальные влияния; 2) она является зоной усиленного размножения бактерий и, возможно, источником пополнения бактериальной популяции полости, так как здесь, в частности, присутствуют большие количества ферментативно переработанного субстрата, или 3) она может иметь отличный от полости микробиологический пейзаж, представленный микроорганизмами, адаптированными к особым условиям этой зоны.

В настоящей работе предприняты попытки сопоставить микробную флору содержимого полости кишки и поверхности ее слизистой, используя физиологические, микробиологические и гистологические методики.

Опыты проведены на 22 крысах-самцах линии Вистар весом 160—210 г., содержащихся на обычном или полусинтетических рационах. Первый из них состоял в основном из крупы, молока и мяса, а последние — из крахмала, подсолнечного масла и казеина с добавлением необходимого количества витаминов и солей (¹¹). У каждого животного изучали численность и состав аэробной и анаэробной микробных популяций в различных зонах проксимального, среднего и дистального отделов тонкой кишки*.

Для бактериологических исследований у животных, забитых через 16—18 час. после кормления, извлекали тонкую кишку с соблюдением

* В настоящей статье приводятся лишь закономерности распределения микробной флоры в различных зонах тонкой кишки на примере некоторых типов аэробных бактерий.

асептики и разделяли ее на три части. Каждую из частей девятикратно перфузировали порциями по 10 мл стерильного физиологического раствора (схема перфузии составлена с учетом предшествующих наблюдений по изучению десорбции с поверхности тонкой кишки амилазы ⁽¹²⁾).

Отмытую слизистую гомогенизировали в такой же порции физиологического раствора. Из каждой порции перфузата и гомогената слизистой готовили серийные десятикратные разведения, по 0,1 мл которых высевали на молочный, кровяной, желточно-солевой агары и среды Эндо и Вильсон-Блера. Первая порция перфузата характеризовала микрофлору полости кишки (в дальнейшем П-флора). Последующие порции (С₁ — С₈) содержали некую бактериальную смесь из остатков микрофлоры полости и микробов, смытых с поверхности слизистой. Наконец, в гомогенате ткани находилась в основном микрофлора околомукозного пространства и связанная с тканями слизистой тонкой кишки (М-флора).

Видовой состав микрофлоры определяли по культуральным и тинкториальным признакам и с помощью фазово-контрастной микроскопии. Все манипуляции были выполнены с соблюдением условий получения количественной характеристики бактериальных популяций по плотности заселения соответствующих зон и процентному соотношению преобладающих видов.

Для гистологических исследований кусочки тонкой кишки отбирали до промывания физиологическим раствором и фиксировали в 10% нейтральном формалине, забуференном по Лилли. После обычной проводки и заливки в парафин среды окрашивали по Грам-Вейгерту.

Проведенные исследования показали, что микробный пейзаж кишечника характеризуется отчетливо выраженной индивидуальностью. Однако несмотря на значительные расхождения по численности и видовому составу бактериальных популяций из однотипных участков кишки, соотношения между последовательно полученными пробами были вполне закономерными. В табл. 1 приведены средние данные содержания аэробных микробов в различных фракциях из различных отделов тонкой кишки 6 крыс, получавших общий рацион, а на рис. 1 — бактериальный пейзаж одной из исследованных крыс.

Как видно из представленных данных, по сравнению с содержанием в полости тонкой кишки, количество бактериальных тел в последовательно полученных смывах (С₁ — С₈) уменьшается на 2—4 порядка. В то

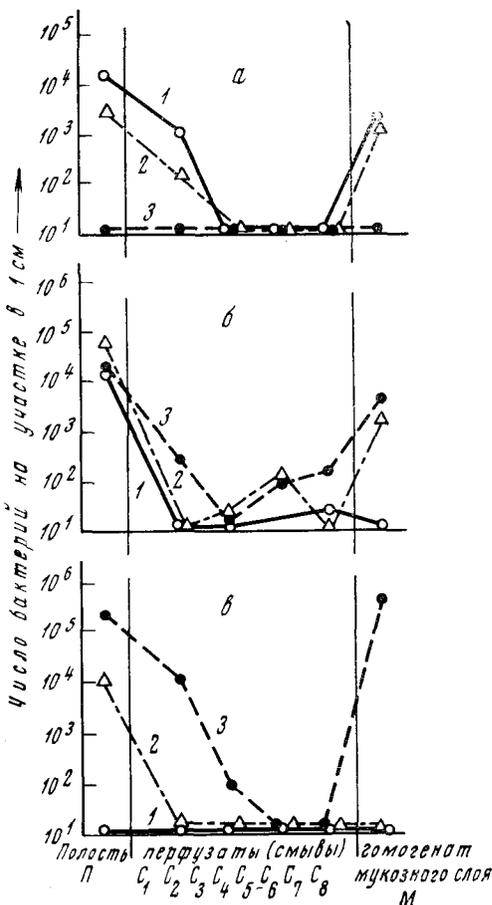


Рис. 1. Бактериальный состав проксимального, среднего и дистального отделов тонкой кишки одной из исследованных крыс. а — проксимальный, б — средний, в — дистальный отделы. 1 — первый и 2 — второй типы стафилококков, 3 — кишечная палочка

же время в гомогенате слизистой вновь обнаруживается значительное число бактерий. Такая общая тенденция прослеживается у всех исследованных животных и свидетельствует как о наличии микрофлоры в тканях слизистой тонкой кишки, так и о прочной связи микроорганизмов с ее структурами. Действительно, при гистологическом исследовании срезов тонкой кишки грамположительные палочки и кокки были обнаружены на поверхности слизистой и в *L. proorgia* в виде как одиночных бактерий, так и скоплений.

Помимо количественных различий, бактериальные популяции из П-, С₁₋₈- и М-флоры проявляли и качественные особенности в виде неравномерности распределения различных микробов в последовательно полученных фракциях, а в части случаев — в неодинаковой биохимической активности бактерий из просвета кишки и гомогената слизистой. Неравномерность распределения можно проследить уже на примере трех типичных кишечника видов бактерии (рис. 1), а их неидентичность — по биохимическим свойствам, сравнивая гемолитическую, казеинолитическую и казеинокоагулирующую активности (рис. 2). В последнем случае проведенные наблюдения дают основание полагать, что, в частности, стафилококки, выделенные из полости кишки (при выращивании на молочном агаре), обладают более выраженной казеинолитической способностью, чем выделенные из ткани слизистой.

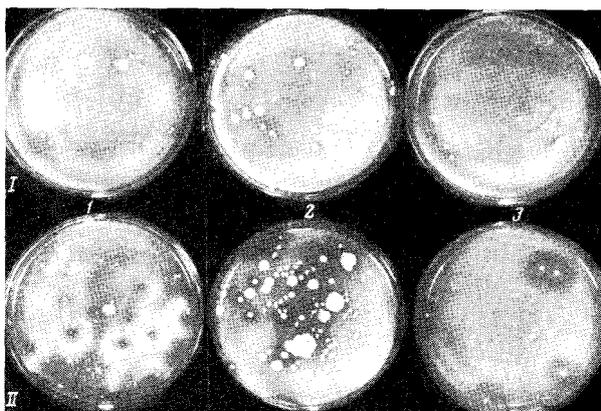


Рис. 2. Колонии микробов, выращенные на молочном агаре, из гомогената отмытой слизистой (М-флора) и полости (П-флора) тонкой кишки трех разных крыс. I — М-флора, II — П-флора. 1 — первая, 2 — вторая и 3 — третья крысы

Такие различия бактериального состава П- и М-флоры могли быть следствием влияния на М-флору каких-то факторов, образующихся при гомогенизации слизистой.

Однако контрольные исследования не обнаружили в условиях наших экспериментов заметных влияний гомогената слизистой на рост и биохимическую активность П-флоры.

Таблица 1

Общее количество бактерий (в тыс.) на участке тонкой кишки длиной 1 см у крыс (средние данные по 6 животным)

Питательная среда	Отделы тонкой кишки	Полость (П-флора)	Смывы (С-флора)				Гомогенат мукозного слоя (М-флора)
			С ₂	С ₄	С ₆	С ₈	
Кровяной агар	Проксимальный	53	1,5	0,6	0,5	0,7	2,0
	Средний	1000	1,1	0,3	0,3	0,2	8,0
	Дистальный	1400	2,7	4,0	0,8	1,4	110,0
Желточно-солевой агар	Проксимальный	1,1	—	—	—	0,003	0,01
	Средний	12,0	—	—	—	0,003	0,2
	Дистальный	8,7	—	—	—	0,019	3,8

Примечание. Прочерк означает, что не обнаружено роста микробов.

Обнаружены некоторые особенности распределения микробов вдоль тонкой кишки. Они состояли как в увеличении численности бактерий, так и в изменении видового состава и П-флоры (что уже было показано (¹⁻³)), и М-флоры (рис. 1). Однако строгий параллелизм в изменении видового состава и численности П- и М-флоры не был отмечен, что может свидетельствовать о некоторой автономности этих бактериальных популяций.

Таким образом, приведенные данные говорят о том, что в тонкой кишке высших животных, помимо бактериальной флоры полости (П-флора), имеется микрофлора, связанная со структурами слизистой тонкой кишки (мукозная флора, М-флора). При этом, судя по данным гистологического исследования, М-флору следует подразделить на: 1) внутритканевую микрофлору, находящуюся в более глубоких слоях слизистой, и 2) флору поверхностную, локализованную на свободной поверхности щеточной каймы. Хотя П- и М-популяции различаются по своему составу, численности, проксимо-дистальному градиенту и физиолого-биохимическим характеристикам, остается еще не вполне ясной степень их автономности. В то же время уже сейчас, говоря о бактериальной флоре тонкой кишки, следует считаться с наличием не только микрофлоры полости, но и микрофлоры слизистой тонкой кишки, находящейся с макроорганизмом в более тесном физиологическом контакте. В этом смысле является важным отношение поверхностной флоры к процессам мембранного пищеварения и транспорта, происходящим в щеточной кайме. Изучение роли и значения каждой из этих популяций в норме и патологии должно стать предметом специальных исследований. Эта точка зрения согласуется с немногочисленными, но важными исследованиями последнего времени (^{13, 14}).

Авторы выражают искреннюю признательность за ценные советы по микробиологическим аспектам работы проф. Э. М. Новгородской, Ю. Е. Полоцкому и проф. Г. Я. Свет-Молдавскому.

Институт физиологии им. И. П. Павлова
Академии наук СССР
Ленинград

Поступило
13 X 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ R. M. Donaldson, *New Eng. J. Med.*, 938—946, 994—1000, 1050—1056 (1964).
² R. M. Donaldson, *Gastroenterology*, 53, 6, 1003 (1967). ³ S. L. Gorbach, R. Levitan, *Progr. Gastroenterology*, 11, 253 (1970). ⁴ H. Haenal, *J. Appl. Bact.*, 24, 242 (1961). ⁵ J. Van Houthel, R. J. Gibbons, A. v. Leeuwenhoek, *J. Microbiol. and Serol.*, 32, 212 (1966). ⁶ S. L. Gorbach, *Gut*, 8, 530 (1967). ⁷ G. R. Thompson, P. C. Trexler, *Gut*, 12, 230 (1971). ⁸ А. М. Уголев, Контактное (пристеночное) пищеварение, «Наука», 1963. ⁹ А. М. Уголев, Физиология и патология пристеночного (мембранного) пищеварения, «Наука», 1967. ¹⁰ А. М. Уголев, N. N. Jesuitova et al., *Die Nahrung*, 11, № 7/8, 595 (1967). ¹¹ А. М. Уголев, Н. Н. Иезуитова и др., Матер. XI Всесоюз. конфер по физиол. и патол. пищеварен., М., 1971, стр 386. ¹² N. N. Jesuitova, P. De Laey, A. M. Ugolev, *Biochim. et biophys. acta*, 86, 205 (1964). ¹³ D. C. Savage, R. Dubos, R. W. Schaedler, *J. Exp. Med.*, 127, 67 (1968). ¹⁴ D. P. Nelson, L. J. Mata, *Gastroenterology*, 58, 56 (1970).