

**КРИТЕРИИ ОТБОРА АНТАГОНИСТОВ МИКРОСИМБИОНТОВ
РОТОВОЙ ПОЛОСТИ МЕТОДОМ МИКРОБНОГО РАСПОЗНАВАНИЯ
«СВОЙ-ЧУЖОЙ»**

Николенко М. В. ¹,

Сивкова Д. С. ¹,

Чепис М. В. ¹

¹ ФГБОУ ВО Тюменский ГМУ Минздрава России, Тюмень, Россия.

**«FRIEND OR FOE» MICROBIAL RECOGNITION FOR SELECTION
CRITERIA OF ORAL CAVITY MICROSymbiont ANTAGONISTS**

Nikolenko M. V. ^a,

Sivkova D. S. ^a,

Chepis M. V. ^a

^a Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Tyumen State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation.

Резюме

Рассмотрение лактофлоры с позиции ассоциативного симбиоза позволит провести комплексное изучение разнообразных функции данных бактерий, определяющих механизмы интегративных взаимодействий микробиоты с организмом человека. Цель исследования: поиск эффективных антагонистов в отношении патогенов, вызывающих воспалительные заболевания полости рта и пародонта методом микробного распознавания «свой-чужой». В исследовании приняло участие 19 добровольцев. В лаборатории микробиома, регенеративной медицины и клеточных технологий Тюменского ГМУ проведено исследование образцов клинического материала пациентов. Анализ мазков с воспалительных тканей слизистой оболочки полости рта производили классическим бактериологическим методом. Изучение биопленкообразования проводилось модифицированным макрометрическим методом. Получение метаболитов и изучение феномена микробного распознавания «свой-чужой» в микросимбиозе ротовой полости проводили по методике. Контролем служили показатели данного свойства выбранных микросимбионтов без воздействия метаболитов. В качестве системообразующего фактора формирования микросимбиоза авторами выбрана универсальная физиологическая функция - образование биопленок микросимбионтами. В качестве объекта исследований выбраны *Lactobacillus spp.*, как нормобиота и данные микроорганизмы встречаются в обоих изучаемых биотопах и могут служить основой для новых пробиотиков. В качестве ассоциативной микробиоты выбраны *Streptococcus spp*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, как этиологические факторы воспалительных заболеваний полости рта и тканей пародонта. Экспериментально доказано, что продукты метаболизма, *Lactobacillus spp.*, полученных из ротовой полости и предварительно соинкубированные *Streptococcus spp* с из того же биотопа (с каждым в отдельности), достоверно повышали активность биопленкообразования последних, что указывает на усиление или сохранение адаптивных возможностей и является показателем

«своих» микросимбионтов для лактобактерий ($p < 0,05$). Продукты метаболизма *Lactobacillus spp.*, полученных из двух изучаемых биотопов, предварительно соинкубированные с метаболитами *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, достоверно снижали биопленкообразующую активность патогенов ($p < 0,05$). Уменьшение активности пленкообразования, являются маркером «чужеродности» микросимбиотнов для лактобацилл при формировании бактериально – грибковых ассоциациях. *Lactobacillus spp.*, выделенных из ЖКТ, являются антагонистами *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus uberis*. А, *Lactobacillus spp.*, полученные из ротовой полости напротив, синергисты этих возбудителей. Полученные данные открывают перспективу понимания межмикробных взаимодействий микросимбионтов и могут быть использованы как для диагностических целей, так и для оптимального отбора «кандидатов» при создании новых пробиотиков и синбиотиков.

Ключевые слова: *Lactobacillus spp.*, «свой – чужой», биопленки, пародонтит, гингивит, микросимбионты, *Streptococcus spp.*

Abstract

Lactoflora viewed from associative symbiosis standpoint will allow for a comprehensive study of the various functions of these bacteria that determine the mechanisms of integrative interactions of microbiota with human body. The aim of the study: to search for effective antagonists targeting pathogens that cause oral cavity and periodontal inflammatory diseases based on «friend or foe» microbial recognition. The study involved 19 volunteers. Clinical material samples collected from patients were examined in the Laboratory of Microbiome, Regenerative Medicine and Cell Technologies at the Tyumen State Medical University. The smears from the inflammatory tissues of the oral mucosa were analyzed using standard bacteriological method. Biofilm formation was examined using the modified macrometric method. Metabolite output and «friend or foe» microbial recognition in the oral microsymbiocenosis were carried out according to the method, with its activity not including metabolites-related effect serving as a control. Microsymbionts-related biofilm formation as a universal physiological function was selected as a system-forming factor in microsymbiocenosis establishment. *Lactobacillus spp.* were chosen as the study object as normobiota and because they are found in both studied biotopes and can serve as a basis for new probiotics. *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* were chosen as the associative microbiota as the etiological factors of inflammatory diseases in oral cavity and periodontal tissues. It was experimentally proven that the metabolic products of *Lactobacillus spp.* obtained from the oral cavity and pre-incubated with same biotope *Streptococcus spp.* (separately with each) significantly increased the activity of biofilm formation of the latter suggesting increased or preserved adaptive capabilities as an indicator of «relevant» microsymbionts for lactobacilli ($p < 0.05$). Metabolic products derived from *Lactobacillus spp.*, obtained from two study biotopes, pre-incubated with metabolites of *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, significantly reduced biofilm-forming activity of pathogens ($p < 0.05$). A decrease in film-forming activity is a marker of microsymbiont «foreignness» for lactobacilli during formation of bacterial-fungal associations. *Lactobacillus spp.*,

isolated from the gastrointestinal tract, are antagonists of *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus uberis*. and, *Lactobacillus spp.*, obtained from the oral cavity, on the contrary, are synergists of such pathogens. The data obtained open up avenues for understanding inter-microbial microsymbiont interactions and can be used both as diagnostic tools and for optimal selection of «candidates» in proposing new probiotics and synbiotics.

Keywords: *Lactobacillus spp.*, «friend or foe», biofilms, periodontitis, gingivitis, microsymbionts, *Streptococcus spp.*

1 Введение

В последние годы стали появляться только единичные сообщения о взаимозависимой регуляции физиологических функций и патологических процессов в организме человека микробиотой двух биотопов [6]. Перспективным является изучение двунаправленных перекрестных микробиомов полости рта и кишечника. Кроме того, ротовая полость более доступна, чем кишечник и микробиота ротовой полости является наиболее удобной для изучения [4]. Изучение *Lactobacillus spp.* с позиции ассоциативного симбиоза позволит прийти к комплексному пониманию их биологических свойств. Вероятно, использование такого подхода в исследовании данной проблемы позволит расширить возможности использования лактобактерий в прикладных целях.

Цель исследования: поиск эффективных антагонистов в отношении патогенов, вызывающих воспалительные заболевания полости рта и пародонта методом микробного распознавания «свой-чужой».

2 Материалы и методы

В исследовании приняло участие 19 добровольцев. Забор исследуемого материала производили тампоном-зондом, в пробирку со средой AMIES с воспалительных тканей слизистой оболочки полости рта (стоматиты, гингивиты, пародонтиты) врачом-стоматологом. Образцы кала доставлены в стерильной таре для выявления особенностей лактофлоры. Анализ мазков с воспалительных тканей слизистой оболочки полости рта производили классическим бактериологическим методом. Создан банк культур из 84 микросимбионтов полости рта и кишечника у людей с воспалительными заболеваниями полости рта.

В качестве системообразующего фактора формирования микросимбиоза авторами выбрана универсальная физиологическая функция - образование биопленок микросимбионтами.

Изучение биопленкообразования проводилось модифицированным макрометрическим методом [3]. Получение метаболитов и изучение

31 феномена микробного распознавания «свой-чужой» в микросимбиозе
32 ротовой полости проводили по методике [2]. Контролем служили показатели
33 данного свойства выбранных микросимбионтов без воздействия метаболитов.

34 Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета
35 прикладных программ «SPSS». Критический уровень значимости при
36 проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

37 3 Результаты и обсуждение

38 В качестве объекта исследований выбраны *Lactobacillus spp.*, как
39 нормобиота и данные микроорганизмы встречаются в обоих изучаемых
40 биотопах и могут служить основой для новых пробиотиков.

41 Известно, что *Streptococcus sanguinis* (*S. sanguinis*), *Streptococcus mitis* (*S.*
42 *mitis*), *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), *Prevotella melaninogenica* и
43 *Fusobacteria nucleatum* в ассоциации с *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*),
44 *Candida albicans* (*C. albicans*) чаще формируют дентальные бляшки [5]. В
45 качестве ассоциативной микробиоты выбраны *Streptococcus spp.*, *S. aureus*, *C.*
46 *albicans*, как этиологические факторы воспалительных заболеваний полости
47 рта и тканей пародонта.

48 В работе экспериментально доказано, что продукты метаболизма,
49 *Lactobacillus spp.*, полученных из ротовой полости и предварительно
50 соинкубированные *Streptococcus spp.* с из того же биотопа (с каждым в
51 отдельности), достоверно повышали активность биопленкообразования
52 последних, что указывает на усиление или сохранение адаптивных
53 возможностей и является показателем «своих» микросимбионтов для
54 лактобактерий ($p < 0,05$). Результаты представлены в таблице.

55 Продукты метаболизма *Lactobacillus spp.*, полученных из двух изучаемых
56 биотопов, предварительно соинкубированные с метаболитами золотистого
57 стафилококка, дрожжевых грибов, достоверно снижали
58 биопленкообразующую активность патогенов ($p < 0,05$). Следовательно,
59 уменьшение активности пленкообразования, являются маркером
60 «чужеродности» микросимбиотнов для лактобацилл при формировании

61 бактериально – грибковых ассоциациях. Выявленные изменения активности
62 изучаемого биологического свойства микросимбионтов метаболитами
63 *Lactobacillus spp.*, отражают напряженность популяции. Так, *Lactobacillus spp.*,
64 выделенных из ЖКТ, являются антагонистами *S. mutans*, *S. mitis*, *S. uberis*. А,
65 *Lactobacillus spp.*, полученные из ротовой полости напротив, синергисты этих
66 возбудителей. Максимальная активность выявлена у лактобацилл не зависимо
67 от биотопа выделения в отношении *Streptococcus dys ss equisimilis* (*S. dys ss*
68 *equisimilis*) ($p < 0,05$).

69 Таким образом, в условиях межмикробного взаимодействия между
70 микроорганизмами наблюдается возможность модификации
71 антагонистической активности продуцента под воздействием симбионта.
72 Такое влияние может привести к изменению метаболических процессов или
73 вызвать морфологические и функциональные трансформации
74 микросимбионтов.

75 Исследование данных аспектов имеет существенное значение для
76 понимания процессов формирования и функционирования
77 микросимбиоценозов, в частности ротовой полости, в контексте
78 ассоциативного симбиоза у человека. Это подчёркивает ключевую идею:
79 количественный и качественный состав бактериальных сообществ является
80 отражением локальных биологических и физических условий среды обитания.
81 Следовательно, любые изменения в этих условиях могут повлиять на
82 конкурентоспособность отдельных видов микроорганизмов и нарушить
83 баланс микробиоты [1].

84 Полученные данные открывают перспективу понимания межмикробных
85 взаимодействий микросимбионтов и могут быть использованы как для
86 диагностических целей, так и для оптимального отбора «кандидатов» при
87 создании новых пробиотиков и синбиотиков.

88 **Благодарности**

- 89 Коллектив авторов выражает благодарность ФГБОУ ВО Тюменский ГМУ
90 Минздрава России в лице ректора Петрова И.М. и проректора по НИР и ИП
91 Храмовой Е.Б. за поддержку в проведении исследования.

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Изменение биопленкообразования микросимбионтов ротовой полости под действием метаболитов *Lactobacillus spp.*, предварительно соинкубированных с метаболитами данных симбионтов (%).

Table 1. Changes in biofilm formation of oral microsymbionts under the influence of *Lactobacillus spp.* metabolites, pre-incubated with metabolites of these symbionts

Супернатант /Supernatant	<i>S.</i> <i>sanguinis</i>	<i>S. dys ss</i> <i>equisimilis</i>	<i>S.</i> <i>salivarius</i>	<i>S. mutans</i>	<i>S. mitis</i>
<i>Lactobacillus spp.</i> , полость рта / <i>Lactobacillus spp.</i> , oral cavity	+21,5±1,5 «свой»/«fri end»	+111,2±12,3 «свой»/«frie nd»	+2,7±0,6 «свой»/«f riend»	+91,8±6,7 «свой»/«f riend»	+3,8± 0,4 «свой»/«f riend»
<i>Lactobacillus spp.</i> , ЖКТ/ <i>Lactobacillus</i> <i>spp.</i> , gastrointestinal tract	+20,4±2,1 «свой»/«fri end»	+71,1±7,7 «свой»/«frie nd»	+23,7±1,0 «свой»/«f riend»	- 23,0±1,7 «чужой»/ «foe»	-26,4±0,7 «чужой»/ «foe»

(%).

Примечание: «+» - увеличение экспрессии свойств; «-» - снижение экспрессии свойств.

Note: «+» – increase in expression of properties; «-» – decrease in expression of properties.

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Сивкова Дарья Сергеевна, ассистент кафедры микробиологии, м.н.с. лаборатории микробиома, регенеративной медицины и клеточных технологий Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; адрес: 625023 г. Тюмень, ул. ул. Одесская д. 54; телефон: 8(3452)690-783; e-mail: sivkovads@tyumsmu.ru

Sivkova Daria Sergeevna, Postgraduate student of the Department of Microbiology, junior researcher laboratory of microbiome, regenerative medicine and cell technologies;

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Tyumen State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation;

address: 625023 Tyumen, Odesskaya st., 54;

телефон: 8(3452)690-783;

e-mail: sivkovads@tyumsmu.ru

Блок 2. Информация об авторах

Николенко М.В., доктор биологических наук, профессор кафедры микробиологии, заведующий лаборатории микробиома, регенеративной медицины и клеточных технологий;

Nikolenko M.V., Doctor of Biological Sciences, Professor of the Department of Microbiology, head of the laboratory of microbiome, regenerative medicine and cell technologies.

Чепис М.В., кандидат биологических наук, доцент кафедры медицинской информатики и биологической физики, н.с. лаборатории микробиома, регенеративной медицины и клеточных технологий;

Chepis M.V., Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Medical Informatics and Biological Physics, researcher laboratory of microbiome, regenerative medicine and cell technologies.

Блок 3. Метаданные статьи

КРИТЕРИИ ОТБОРА АНТАГОНИСТОВ МИКРОСИМБИОНТОВ РОТОВОЙ ПОЛОСТИ МЕТОДОМ МИКРОБНОГО РАСПОЗНАВАНИЯ «СВОЙ-ЧУЖОЙ»

CRITERIA FOR THE SELECTION OF ANTAGONISTS OF MICROSymbionTS OF THE ORAL CAVITY BY THE METHOD OF MICROBIAL RECOGNITION «FRIEND OR FOE»

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

АНТАГОНИСТЫ ПАТОГЕНОВ ПОЛОСТИ РТА
ORAL PATHOGEN ANTAGONISTS

Ключевые слова: *Lactobacillus spp.*, «свой – чужой», биопленки, пародонтит, гингивит, микросимбионты, *Streptococcus spp.*

Keywords: *Lactobacillus spp.*, «friend or foe», biofilms, inflammatory diseases of the oral cavity and periodontalm, *Streptococcus spp.*

Краткие сообщения.

Количество страниц текста – 4,

количество таблиц – 1,

количество рисунков – 0.

15.04.2025.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи и/или DOI
1	Бухарин О.В., Перунова Н.Б. Роль микробиоты в регуляции гомеостаза организма человека при инфекции // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2020. Т. 97, № 5. С. 458-467.	Bukharin O.V., Perunova N.B. The role of microbiota in the regulation of homeostasis of the human body during infection. Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology, 2020, Vol. 97, no. 5, pp. 458-467.	[doi 10.36233/0372-9311-2020-97-5-8]
2	Бухарин О.В., Перунова Н.Б. Микробное распознавание «свой-чужой» в условиях кишечного микросимбиоза человека // Журнал микробиологии, эпидемиологии	Bukharin O.V., Perunova N.B. Microbial «friend-foe» identification in human intestine microsymbiogenesis // Journal	[doi 10.15789/2220-7619-AAM-1482]

	и иммунобиологии. 2011. Т. 88. №6. С. 46-51.	of microbiology, epidemiology and immunobiology, 2011, Vol. 88, no. 6, pp. 46-51.	
3	Николенко М.В., Барышникова Н.В., Малишевская О.И., Еноктаева О.В., Васева Е.М. Изучение динамики биопленкообразования <i>Candida sp.</i> в течение суток модифицированным макрометрическим методом // Инфекция и иммунитет. - 2022. - Т. 12. - №6. - С. 1129-1135.	Nikolenko M.V., Baryshnikova N.V., Malishevskaya O.I., Enoktaeva O.V., Vaseva E.M. A 24-hour <i>Candida sp.</i> biofilm formation dynamically assessed with modified macrometric method // Russian Journal of Infection and Immunity. 2022, Vol. 12. no. 6, pp. 1129-1135.	[doi 10.15789/2220-7619-АНС-1929]

4	Nishimoto Y., Salim F., Yama K., Kumagai K., Jo R., Harada M., Maruyama Y., Aita Y., Fujii N., Inokuchi T., Kawamata R., Sako M., Ichiba Y., Tsutsumi K., Kimura M., Mori Y., Murakami S., Kakizawa Y., Kumagai T., Fukuda S. Integrated analysis of the oral and intestinal microbiome and metabolome of elderly people with more than 26 original teeth: a pilot study. <i>Front Microbiol.</i> , 2023, no.14:1233460.	-	[doi 10.15789/2220-7619-AHC-1929]
5	Park S.Y., Hwang B.O., Lim M., Ok S.H., Lee S.K., Chun K.S., Park K.K., Hu Y., Chung W.Y., Song N.Y. Oral-Gut Microbiome Axis in Gastrointestinal Disease and Cancer. <i>Cancers (Basel)</i> , 2021, no. 13(9):2124.	-	[doi 10.3390/cancers13092124]

6	Sharma N., Bhatia S., Sodhi A.S., Batra N. Oral microbiome and health. AIMS Microbiol., 2018, no. 4, pp. 42-66.	-	[doi 10.3389/fmicb.2023.1233460]
---	---	---	-------------------------------------