

5. McKoy G., Protonotarios N., Crosby A., Tsatsopoulou A., Anastasakis A., Coonar A., Norman M., Baboonian C., Jeffery S., McKenna W.J. Identification of a deletion in plakoglobin in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy with palmoplantar keratoderma and woolly hair (Naxos disease) // *Lancet*.— 2000.— Vol.355.— P. 2119–2124.

6. Xin Chen, Sergei P. Shevtsov, Eileen Hsich, and other. The Catenin / T-cell Factor / Lymphocyte Enhancer Factor Signaling Pathway Is Required for Normal and Stress-Induced Cardiac Hypertrophy.// *Mol. And Cell. Biology*.— 2006.— Vol.26.— №12.— P. 4462–4473.

7. Farah Sheikh, Yinghong Chen, Xingqun Liang, Alain Hirschy, Antine E. Stenbit and other.  $\alpha$ E-Catenin Inactivation Disrupts the Cardiomyocyte Adherens Junction, resulting in Cardiomyopathy and Susceptibility to Wall Rupture // *Circulation*.— 2006.— Vol.114.— P. 1–10.

8. Maniatis G. *Molecular cloning*.— Oxford press.— 1994.— Vol.1.— 842 p.

9. Kaufman M.H. *The Atlas of Mouse Development*.— San Diego: Academic Press.— 1992.— 523 p.

### Резюме

Делеція  $\alpha$ E-катеніну та  $\beta$ -катеніну у тканині серця не призводила до розвитку морфологічних дефектів ембріонального серця, вірогідно, завдяки функціональній компенсації  $\alpha$ T-катеніном та  $\gamma$ -катеніном (плакоглобіном) відповідно. Спостерігали часткову летальність мутантних ембріонів з делецією  $\beta$ -катеніну на більш пізніх термінах ембріонального розвитку.

Делеция  $\alpha$ E-катенина и  $\beta$ -катенина в ткани серца не приводит к развитию морфологических дефектов эмбрионального сердца, вероятно, благодаря функциональной компенсации  $\alpha$ T-катенином и  $\gamma$ -катенином (плакоглобином) соответственно. Наблюдалась частичная летальность мутантных эмбрионов с делецией  $\beta$ -катенина на более позднем этапе эмбрионального развития.

The cardiac-specific deletion of  $\alpha$ E-catenin and  $\beta$ -catenin did not cause morphological defects in the embryonic heart presumably due to compensation by  $\alpha$ T-catenin and  $\gamma$ -catenin (plakoglobin), respectively. However,  $\beta$ -catenin mutant embryos did exhibit a cardiac defect later in development resulting in partial lethality.

ПОЛТАВСКАЯ О.А.<sup>1</sup>, ЗЕЛЕНАЯ Л.Б.<sup>1</sup>, КОВАЛЕНКО Н.К.<sup>1</sup>, ШАТИЛО В.Б.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины, Украина, 03680, Киев, ул. Заболотного, 154, e-mail: poltavaska@ukr.net

<sup>2</sup>ГУ “Институт геронтологии АМН Украины”, Украина, 04114, Киев, ул. Вышгородская, 67

## ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ БИФИДОБАКТЕРИЙ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА ЛЮДЕЙ ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА

Род *Bifidobacterium* — один из наиболее многочисленных родов микроорганизмов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) человека [7]. Бифидобактерии играют существенную роль в поддержании общего физиологи-

ческого статуса организма человека: участвуют в усвоении нутриентов, которые не усваиваются макроорганизмом, продуцируют аминокислоты, витамины, участвуют в формировании и функционировании иммунной системы макроорганизма, препятствуют колонизации кишечного тракта патогенными микроорганизмами [1, 2]. Бифидобактерии являются представителями нормальной микрофлоры, их количественный и видовой состав служит показателем стабильности микробиоценоза пищеварительного тракта человека [3]. В этом плане, присутствие разных видов бифидобактерий в кишечнике человека представляет большой интерес. Ранее было показано, что наиболее распространенными видами бифидобактерий в кишечнике взрослых людей являются виды *B. adolescentis* и *B. longum*, у детей — *B. infantis* и *B. breve* [5]. В то же время, данные по изучению бифидофлоры лиц пожилого и старческого возраста, и особенно — её видового разнообразия, крайне ограничены.

Классические микробиологические методы, включая выделение, идентификацию и количественный учет этих микроорганизмов, являются длительными и трудоемкими. Кроме того, эти методы имеют низкую степень воспроизведения, связанную с различными условиями культивирования бифидобактерий в разных лабораториях, а также с нередкими вариациями свойств штаммов внутри одного вида.

В последние годы, с появлением метода полимеразной цепной реакции (ПЦР), стала возможной разработка разных вариантов праймеров для определения многих видов рода *Bifidobacterium* на основании строения генов рРНК, а также других молекулярных маркеров [4, 5]. Кроме того, для анализа видового состава бифидобактерий был разработан метод мультиплекс-ПЦР, позволяющий идентифицировать одновременно несколько видов этих микроорганизмов.

Целью данной работы было изучить видовой состав представителей рода *Bifidobacterium* содержимого кишечного тракта людей пожилого и старческого возраста.

#### **Материалы и методы**

Исследования проводили на базе Института геронтологии АМН Украины, г. Киев. Объектом исследования были люди пожилого и старческого возраста (от 63 до 84 лет), не имеющие патологий со стороны ЖКТ и не принимавшие антимикробные препараты в течение 2-х месяцев до начала исследования. Они являлись жителями Киевской области. В ходе исследования испытуемые были разделены на 2 группы: пожилые (от 63 до 80 лет) и старики (более 80 лет). Содержимое дистального отдела кишечника отбирали и анализировали методом ПЦР с использованием родо- и видоспецифических праймеров (не позже 4 ч после отбора). К 1 г образца фекалий добавляли 9 мл стерильного физиологического раствора и перемешивали в течение 5–10 мин. Тотальную ДНК выделяли, используя комплект реагентов для выделения ДНК (“ДНК-Технология”, Россия). Состав реакционной смеси и условия проведения ПЦР соответствовали приведенным в работах

Matsuki с соавт. [4] и Mullie с соавт. [6]. Продукты амплификации разделяли в 1,7% агарозном геле с последующей окраской бромистым этидием и визуализацией в УФ свете.

### Результаты и обсуждение

Геноидентификация микроорганизмов с использованием специфических праймеров имеет определенные преимущества, по сравнению с микробиологическими методами ввиду их высокой чувствительности и точности. Для детекции бифидобактерий в исследуемых образцах мы вначале использовали метод ПЦР с родоспецифическими праймерами Bif164-f и Bif662-r. Данная пара праймеров является высокоспецифичной к гену 16S рРНК бифидобактерий и широко используется в мировой научной практике. В результате исследования было установлено наличие представителей рода *Bifidobacterium* во всех исследуемых образцах (рис. 1).

Для видовой идентификации бифидобактерий нами была выполнена множественная амплификация с праймерами к 12 видам представителей рода *Bifidobacterium* (рис. 2).

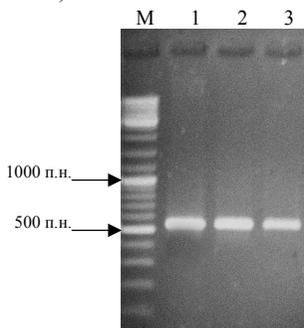


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов амплификации с родоспецифичными праймерами:

М — маркер молекулярных масс DNA ladder mix; 1, 2, 3 — исследуемые образцы

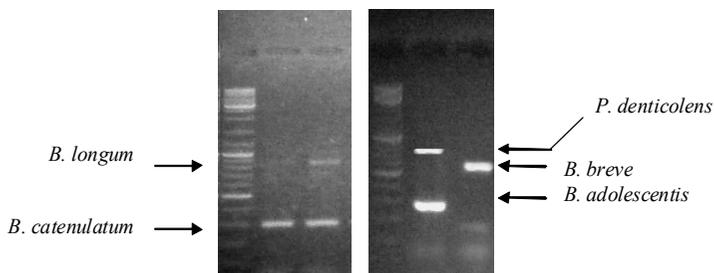


Рис. 2. Электрофореграмма ампликонов, полученных в результате множественной ПЦР с видоспецифичными праймерами и ДНК, выделенной из фекальных масс пожилых людей и долгожителей:

М — маркер молекулярных масс; 1–4 — исследуемые образцы

Таблица

Распространение видов *Bifidobacterium* в пищеварительном тракте людей пожилого и старческого возраста

Вид или комбинация видов	Количество образцов (% от общего количества)	
	Пожилые люди (n = 7)	Старики (n = 8)
Виды		
<i>B. catenulatum</i>	6 (86)	6 (75)
<i>B. longum</i>	4 (57)	1 (12,5)
<i>B. adolescentis</i>	3 (43)	1 (12,5)
<i>S. inopinatum</i>	3 (43)	2 (25)
<i>B. dentium</i>	2 (29)	1 (12,5)
<i>B. gallicum</i>	2 (29)	1 (12,5)
<i>B. breve</i>	0 (0)	2 (25)
<i>P. denticolens</i>	0 (0)	1 (12,5)
Комбинация видов		
1 вид	3 (43)	4 (50)
2 вида	0 (0)	1 (12)
3 вида	1 (14)	3 (38)
4 вида	1 (14)	0 (0)
5 видов	2 (29)	0 (0)

Такой метод множественной ПЦР (мультиплекс-ПЦР) позволяет определить одновременно несколько видов бактерий, присутствующих в образце, в результате проведения одной реакции. Мультиплекс-ПЦР позволяет значительно ускорить и упростить процесс идентификации. Результаты исследования видового состава бифидобактерий в пищеварительном тракте, а также их видовое разнообразие, представлены в таблице.

В результате анализа исследованных образцов было обнаружено 8 видов бифидобактерий: *B. catenulatum*, *B. longum*, *B. adolescentis*, *S. inopinatum*, *B. dentium*, *B. gallicum*, *B. breve* и *P. denticolens*. согласно полученным данным, наиболее часто встречающимся видом в содержимом пищеварительного тракта людей пожилого возраста является *B. catenulatum*, процентное содержание которого — 86% (6 образцов). Субдоминирующими видами этой группы микроорганизмов явились виды *B. longum*, *B. adolescentis* и *Scardovia inopinatum*, а минорными видами — *B. dentium* и *B. gallicum*. Виды *B. breve* и *Parascardovia denticolens* в образцах группы пожилых людей не были обнаружены.

В содержимом пищеварительного тракта стариков также наиболее часто встречался вид бифидобактерий *B. catenulatum*, процентное содержание которых в этой группе составило 75% (6 образцов). Остальные из исследуемых видов явились минорными.

Известно, что старение организма человека часто сопровождается значительными изменениями видового состава фекальной микрофлоры, о чем свидетельствует снижение числа анаэробных видов микроорганизмов и особенно представителей молочнокислых бактерий [3]. Было показано, что бифидофлора кишечника здорового взрослого человека представлена одновременно 4–6 видами. Нами было установлено, что у лиц старческого возраста наблюдается уменьшение видового разнообразия бифидобактерий, которые представлены всего 1–3 видами.

В результате исследования видового состава бифидобактерий, присутствующих в кишечном тракте людей пожилого и старческого возраста было установлено, что *B. catenulatum* является наиболее распространенным видом, населяющим пищеварительный тракт. Этот факт представляет интерес, поскольку ранее отмечалось, что наиболее распространенным видом, присутствующим в пищеварительном тракте людей молодого и зрелого возраста, является вид *B. adolescentis*. Кроме того, нами были выявлены такие редко встречающиеся у людей среднего возраста виды, как *B. gallicum*, *B. dentium* и *P. denticolens*. Такое отличие в видовом составе бифидобактерий людей среднего и более старшего возрастов можно объяснить возрастным изменением метаболических процессов пищеварения.

### **Выводы**

Таким образом, кишечная бифидофлора людей пожилого и старческого возраста представлена видами *B. catenulatum*, *B. longum*, *B. adolescentis*, *S. inopinatum*, *B. dentium*, *B. gallicum*, *B. breve* и *P. denticolens*. Доминирующим видом является *B. catenulatum*. У людей старческого возраста наблюдается уменьшение видового разнообразия бифидобактерий.

### **Литература**

1. Cummings J.H., Mac Farlane G.T. Role of intestinal bacteria in nutrient metabolism // Clinical nutrition.— 1997.— Vol.16, N1.— P. 3–11.
2. Gibson G.R., Rastall R.A. Gastrointestinal infection and the protective role of probiotics and prebiotics // Food Science and Technology Bulletin.— 2003.— N1.— P. 35–52.
3. He F., Ouwehand A.C., Isolauri E. et al. Differences in composition and mucosal adhesion of bifidobacteria isolated from healthy adults and healthy seniors // Curr. Microbiol.— 2001.— Vol.43, N4.— P. 351–354.
4. Matsuki T., Watanabe K., Fujimoto J. et al. Development of 16S rRNA-gene-targeted group-specific primers for the detection and identification of predominant bacteria in human feces // Appl. Environ. Microbiol.— 2002.— Vol.68, №5.— P. 5445–5451.
5. Matsuki T., Watanabe K., Tanaka R. et al. Distribution of bifidobacterial species in human intestinal microflora examined with 16S rRNA-gene-targeted species-specific primers // Appl. Environ. Microbiol.— 1999.— Vol.65, N10.— P. 4506–4512.
6. Mullie C., Odou M.-F., Singer E. et al. Multiplex PCR using 16S rRNA gene-targeted primers for the identification of bifidobacteria from human origin // FEMS Microbiology Letters.— 2003.— Vol.222.— P. 129–136.
7. Scardovi V. Genus *Bifidobacterium*. Orla-Jensen // Bergey's Manual of Systematic Bacteriology / Edited by P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe, J.G. Holt.— Baltimore: Williams&Wilkins, 1986.— P. 1418–1434.

## Резюме

Исследован видовой состав представителей рода *Bifidobacterium* содержимого кишечного тракта людей пожилого возраста. Установлено, что их кишечная бифидофлора представлена в основном видами *B. catenulatum* (доминирующий вид), *B. longum*, *B. adolescentis*, *S. inopinatum*. У людей старческого возраста наблюдается уменьшение видового разнообразия бифидобактерий.

Досліджено видовий склад представників роду *Bifidobacterium* вмісту кишечного тракту людей похилого віку. Встановлено, що їх кишкова біфідофлора представлена в основному видами *B. catenulatum* (домінуючий вид), *B. longum*, *B. adolescentis*, *S. inopinatum*. У людей похилого віку спостерігається зменшення видового різномаття біфідобактерій.

Specific diversity of representatives of genus *Bifidobacterium* of seniors' intestinal tract has been investigated. It has been detected that their bifidoflora is represented basically by *B. catenulatum* (dominate species), *B. longum*, *B. adolescentis*, *S. inopinatum*. Decrease of bifidobacterial species diversity has been observed.

**СЕНЧЕНКО Т.В., БОЛТІНА І.В., КОСТИК О.Л., ТКАЧУК О.М.,  
ЛЕПЬОШКІН І.В., КРАВЧУК О.П**

*Інститут екологієни і токсикології ім. Л. І. Медведя МОЗ України,  
Україна, 03680 Київ, вул. Героїв оборони 6, e-mail: onorina@i.ua*

## **ОСОБЛИВОСТІ ВИКОРИСТАННЯ КОРОТКОСТРОКОВИХ ТЕСТІВ ДЛЯ ДОСЛІДЖЕННЯ МУТАГЕННОЇ АКТИВНОСТІ ПЕСТИЦИДІВ**

Одним з провідних аспектів “віддалених наслідків” несприятливої дії пестицидів є оцінка їх можливого вкладу в індукований мутаційний процес у людини, наслідком якого може бути зріст частоти патології с генетичною компонентою. Тому до актуального напрямку у вивчені біологічного ефекту пестицидів відносять генетико-гігієнічні дослідження, основною метою яких є наукове прогнозування та попередження мутагенної небезпеки пестицидів для здоров’я теперішнього та майбутніх поколінь [3, 6, 11]. Оцінити потенційну мутагенну небезпечність пестицидів неможливо без попередньої оцінки їх токсичної дії на тест-об’єкти.

Метою роботи є розробка підходів до тестування пестицидів в експериментальних умовах. Для цього проводили аналіз даних по вивченню мутагенної активності пестицидних препаратів на трьох основних тестах: на індукцію генних мутацій у *S. typhimurium*/тест Еймса; на індукцію аберацій хромосом в клітинах кісткового мозку мишей *in vivo*; на індукцію аберацій хромосом в культурі лімфоцитів периферичної крові людини *in vitro* без та з метаболічною активацією).