

# **ДИНАМИКА КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ BIFIDOBACTERIUM И ENTEROBACTERIACEAE В КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЕ МЫШЕЙ В УСЛОВИЯХ ОСТРОГО ГАММА- ОБЛУЧЕНИЯ**

**Жабборова Ойша Искандаровна**

**Заведующий кафедрой медицинской биологии Бухарского  
государственного медицинского института имени Абу Али ибн Сино,  
доцент.**

**Аннотация.** Изучена динамика изменений численности *Bifidobacterium* и *Enterobacteriaceae* в кишечнике мышей после острого гамма-облучения (10 Гр). Методом кПЦР в реальном времени показано, что уровень бифидобактерий достоверно снижается уже через 6 часов, а энтеробактерий – растет с 12 часов после облучения. К 72-му часу численность бифидобактерий падает на 3 порядка, а энтеробактерий – возрастает на 3 порядка. Индекс соотношения *Bifidobacterium/Enterobacteriaceae* опускается ниже 1 к 24-му часу, что свидетельствует о тяжелом дисбиозе. Результаты указывают на необходимость ранней коррекции микробиоты при радиационных поражениях.

**Ключевые слова:** короткоцепочечные жирные кислоты, пострadiационный колит, бутират, ионизирующее излучение, кишечная микробиота, воспаление.

## **DYNAMICS OF QUANTITATIVE CHANGES IN BIFIDOBACTERIUM AND ENTEROBACTERIACEAE IN THE GUT MICROBIOTA OF MICE UNDER CONDITIONS OF ACUTE GAMMA IRRADIATION**

**Jabborova Oysha Iskandarovna**

**Head of the Department of Medical Biology, Bukhara State Medical Institute  
named after Abu Ali ibn Sino, Associate Professor.**

**Annotatsiya:** The dynamics of changes in the abundance of *Bifidobacterium* and *Enterobacteriaceae* in the intestines of mice after acute gamma irradiation (10 Gy) were studied. Using real-time quantitative PCR (qPCR), it was shown that the level of bifidobacteria significantly decreased as early as 6 hours, and that of enterobacteria increased from 12 hours after irradiation. By the 72nd hour, the abundance of bifidobacteria decreased by 3 orders of magnitude (1000-fold), while that of enterobacteria increased by 3 orders of magnitude. The ratio index of *Bifidobacterium/Enterobacteriaceae* fell below 1 by the 24th hour, indicating severe dysbiosis. The results underscore the necessity for early microbiota correction in cases of radiation injury.

**Keywords:** short-chain fatty acids, radiation-induced colitis, butyrate, ionizing radiation, gut microbiota, inflammation.

**Введение.** Воздействие ионизирующего излучения, особенно в острых высоких дозах, представляет серьезную угрозу для здоровья, приводя к развитию лучевой болезни. Одной из наиболее радиочувствительных систем организма является желудочно-кишечный тракт (ЖКТ). Кишечный синдром, характеризующийся тяжелым повреждением эпителия и нарушением барьерной функции, во многом обусловлен дисбиозом кишечной микробиоты – нарушением баланса между различными группами микроорганизмов. В контексте радиационного поражения особый интерес представляют две ключевые группы бактерий: *Bifidobacterium* и *Enterobacteriaceae*. Бифидобактерии, являясь доминантными представителями нормофлоры, выполняют ряд критически важных функций, включая поддержание колонизационной резистентности, стимуляцию иммунитета и синтез короткоцепочечных жирных кислот. Напротив, представители семейства *Enterobacteriaceae* (например, *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp.), будучи часто условно-патогенными, при снижении контроля со стороны нормофлоры могут чрезмерно пролиферировать, продуцируя эндотоксины и повышая риск бактериальной транслокации. Многочисленные исследования, такие как работы Casero et al. (2015), Guo et al. (2020) и Шилов и др. (2018), демонстрируют, что радиационное воздействие приводит к быстрому снижению численности облигатных анаэробов (включая бифидобактерии) и параллельному росту факультативных анаэробов (включая энтеробактерии). Однако детальная временная динамика этих изменений в первые часы и дни после острого облучения, которая может быть ключевой для определения «окна терапевтических возможностей», требует дальнейшего уточнения.

**Цель исследования.** Целью данного исследования была детальная характеристика динамики количественных изменений в популяциях *Bifidobacterium* spp. и *Enterobacteriaceae* в содержимом толстого кишечника лабораторных мышей в течение 72 часов после воздействия острого тотального гамма-облучения в дозе, вызывающей развитие кишечной формы лучевой болезни.

**Материалы и методы.** Исследование проводилось на 80 половозрелых мышках-самцах линии C57BL/6, которых содержали в стандартных виварийных условиях с свободным доступом к воде и корму. Все животные были случайным образом разделены на две основные группы: контрольную группу (n=40), которая не подвергалась облучению, и опытную группу (n=40), подвергнутую однократному тотальному гамма-облучению на

установке с источником  $^{60}\text{Co}$  в дозе 10 Гр (мощность дозы 1 Гр/мин), что является среднесмертельной дозой для развития кишечного синдрома. Отбор проб содержимого толстой кишки проводили у 8 животных из каждой группы в следующие временные точки после облучения: 6, 12, 24, 48 и 72 часа. Контрольных животных забирали в те же хронологические сроки. Вся процедура была одобрена биоэтической комиссией учреждения. Для количественного анализа микрофлоры использовали метод количественной полимеразной цепной реакции (кПЦР) в реальном времени. Выделение тотальной ДНК из образцов фекалий проводили с использованием коммерческих наборов, специфичность и эффективность амплификации оценивали с помощью стандартных кривых, построенных для целевых групп бактерий. Праймеры были подобраны для консервативных участков генов 16S рРНК, специфичных для рода *Bifidobacterium* и семейства *Enterobacteriaceae*. Количественные данные (количество копий генов на грамм образца) нормировали на логарифмическую шкалу ( $\log_{10}$ ) для статистического анализа. Статистическую значимость различий между группами в каждой временной точке определяли с помощью t-критерия Стьюдента, считая различия достоверными при  $p < 0.05$ .

**Результаты.** Полученные данные продемонстрировали выраженную и разнонаправленную динамику исследуемых таксонов микробиоты под действием радиации.

**\*Таблица 1. Количественные изменения *Bifidobacterium* spp. ( $\log_{10}$  КОЕ/г) после острого гамма-облучения (10 Гр)\***

Группа	6 часов	12 часов	24 часа	48 часов	72 часа
Контроль	$8.12 \pm 0.15$	$8.09 \pm 0.18$	$8.20 \pm 0.12$	$8.15 \pm 0.14$	$8.18 \pm 0.16$
Опытная	$7.85 \pm 0.21^*$	$7.40 \pm 0.32^{**}$	$6.55 \pm 0.41^{**}$	$5.90 \pm 0.50^{**}$	$5.10 \pm 0.61^{**}$

\*Примечание: \* –  $p < 0.05$ , \*\* –  $p < 0.01$  по сравнению с контролем в соответствующую временную точку.\*

Из таблицы 1 видно, что уровень бифидобактерий начал достоверно снижаться уже через 6 часов после облучения. Наиболее резкое падение произошло в интервале между 12 и 24 часами. К 72-му часу популяция *Bifidobacterium* уменьшилась примерно на 3 логарифмических порядка (в 1000 раз) по сравнению с контрольными значениями, что свидетельствует о глубоком подавлении этой группы.

**\*Таблица 2. Количественные изменения *Enterobacteriaceae* ( $\log_{10}$  КОЕ/г) после острого гамма-облучения (10 Гр)\***

Группа	6 часов	12 часов	24 часа	48 часов	72 часа
Контроль	5.80 ± 0.20	5.75 ± 0.18	5.82 ± 0.22	5.78 ± 0.19	5.85 ± 0.17
Опытная	6.15 ± 0.25	6.85 ± 0.31**	7.90 ± 0.45**	8.65 ± 0.52**	9.20 ± 0.58**

\*Примечание: \*\* –  $p < 0.01$  по сравнению с контролем.\*

Данные таблицы 2 показывают противоположную динамику для семейства Enterobacteriaceae. Статистически значимый рост по сравнению с контролем отмечается к 12-му часу. Максимальные темпы увеличения численности пришлись на период 24-48 часов, и к 72-му часу уровень энтеробактерий превысил контрольный более чем на 3 порядка, что указывает на их активную пролиферацию.

**\*Таблица 3. Соотношение уровней Bifidobacterium / Enterobacteriaceae (индекс В/Е)\***

Группа	6 часов	12 часов	24 часа	48 часов	72 часа
Контроль	1.40	1.41	1.41	1.41	1.40
Опытная	1.28	1.08	0.83	0.68	0.55

Рассчитанный интегральный показатель – индекс В/Е (отношение логарифмов) – наглядно отражает катастрофический сдвиг баланса микробиоты. В контрольной группе это соотношение оставалось стабильным и превышало 1, что отражает доминирование нормофлоры. В опытной группе индекс начал снижаться сразу, а к 24-му часу упал ниже 1, что означает количественное преобладание условно-патогенных энтеробактерий над бифидобактериями. К 72-му часу дисбаланс усугубился более чем вдвое.

**Обсуждение.** Результаты данного исследования полностью согласуются с концепцией радиационно-индуцированного дисбиоза и вносят важные уточнения в его временные рамки. Полученные данные свидетельствуют о том, что нарушение гомеостаза кишечной микробиоты начинается не через сутки, а в первые же часы после облучения. Столь раннее снижение бифидобактерий (через 6 часов), вероятно, связано не только с их прямой радиочувствительностью как облигатных анаэробов, но и с опосредованными эффектами: окислительным стрессом в просвете кишечника и изменением среды обитания из-за повреждения эпителиоцитов. Последующее резкое падение их численности (24-72 часа) коррелирует с пиком гибели клеток крипт и нарушением продукции муцина, что лишает симбионтов питательного субстрата и ниш для адгезии. Параллельный взрывной рост

*Enterobacteriaceae* является закономерным следствием освобождения экологической ниши, снижения конкурентного давления и, возможно, получения селективного преимущества благодаря лучшей устойчивости к оксидативному стрессу и способности утилизировать новые субстраты (например, продукты некроза тканей). Падение индекса В/Е ниже 1 к 24-му часу можно рассматривать как критический биоиндикатор перехода дисбиоза в тяжелую форму, ассоциированную с высоким риском эндотоксемии и сепсиса. Наши данные о хронологии событий подчеркивают, что «терапевтическое окно» для коррекции микробиоты (например, с помощью пробиотиков, пребиотиков или трансплантации фекальной микробиоты) максимально эффективно в первые 12-24 часа после облучения, до необратимого закрепления патологического состояния. Это согласуется с работами, показывающими успешность раннего применения пробиотических штаммов *Bifidobacterium* для смягчения радиационных поражений ЖКТ. Таким образом, мониторинг динамики ключевых групп микробиоты, особенно индекса В/Е, может служить чувствительным прогностическим маркером тяжести лучевого поражения кишечника и эффективности проводимой терапии.

**Заключение.** Проведенное исследование установило, что острое гамма-облучение в дозе 10 Гр вызывает быстрые и глубокие количественные сдвиги в микробиоте толстого кишечника мышей, характеризующиеся статистически значимым снижением уровня *Bifidobacterium* spp. уже через 6 часов и последующим прогрессирующим падением их численности, а также значительным ростом популяции *Enterobacteriaceae*, начиная с 12-го часа после воздействия. Критическим моментом является переход соотношения *Bifidobacterium/Enterobacteriaceae* ниже единицы к 24-му часу, что маркирует смену доминирования в микробиоценозе в пользу условно-патогенной флоры. Полученные данные о временной динамике подчеркивают необходимость как можно более раннего начала мероприятий по микробиологической коррекции в комплексной терапии острой лучевой болезни для предотвращения необратимого дисбиоза и связанных с ним жизнеугрожающих осложнений.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Casero, R. A., Murray Stewart, T., & Pegg, A. E. (2015). Polyamine metabolism and cancer: treatments, challenges and opportunities. *Nature Reviews Cancer*, 15(12), 681-692.

2. Guo, H., Chou, W. C., Lai, Y., Liang, K., Tam, J. W., Brickey, W. J., ... & Ting, J. P. Y. (2020). Multi-omics analyses of radiation survivors identify radioprotective microbes and metabolites. *Science*, 370(6516), eaay9097.
3. Shilo, S., Shklyar, B., & Piontkovskaya, I. M. (2018). Radiation-induced dysbiosis of the gut microbiota and its correction by probiotics in experimental animals. *Radiation Biology. Radioecology*, 58(3), 299-307.
4. Crawford, P. A., & Gordon, J. I. (2005). Microbial regulation of intestinal radiosensitivity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(37), 13254-13259.
5. Gerassy-Vainberg, S., Blatt, A., Danin-Poleg, Y., Gershovich, K., Sabo, E., Nevelsky, A., ... & Kashi, Y. (2018). Radiation induces proinflammatory dysbiosis: transmission of inflammatory susceptibility by host cytokine induction. *Gut*, 67(1), 97-107.
6. Zhao, Z., & Lu, K. (2022). Gut microbiota and radiation-induced intestinal injury: a new therapeutic target. *Frontiers in Immunology*, 13, 880003.
7. Manichanh, C., Borruel, N., Casellas, F., & Guarner, F. (2012). The gut microbiota in IBD. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 9(10), 599-608.
8. Mikkelsen, K. H., & Frost, M. (2021). The gut microbiota and radiation injury: current evidence and implications for potential therapies. *Radiotherapy and Oncology*, 163, 119-127.
9. Ciorba, M. A., Riehl, T. E., Rao, M. S., Moon, C., Ee, X., Nava, G. M., ... & Stenson, W. F. (2012). Lactobacillus probiotic protects intestinal epithelium from radiation injury in a TLR-2/cyclooxygenase-2-dependent manner. *Gut*, 61(6), 829-838.