

УДК 577.29

РАЗНООБРАЗИЕ КИШЕЧНОГО МИКРОБИОМА КАЗАХСТАНСКИХ ЖЕНЩИН РАЗЛИЧНЫХ ВОЗРАСТНЫХ КАТЕГОРИЙ

А.Р. Кушугулова¹, С.С. Кожаметов¹, Д.М. Байсханова¹, И.К. Тыныбаева¹,
Н.Л. Шапекова², А.Б. Какимова¹, С.А. Садуахасова¹, Г.С. Шахабаева¹,
Ж.Р. Хасенбекова¹, Т.С. Нургожин¹, Ж.Ш. Жумадилов¹

¹ЧУ «Центр наук о жизни», АО «Назарбаев Университет», пр.Кабанбай батыра, 53, Астана, 010000, Казахстан

²Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилёва, ул. Мирзояна, 2, Астана, 010000, Казахстан
d_baiskhanova@mail.ru

АБСТРАКТ

Кишечная микрофлора человека является крупнейшей частью всего человеческого микробиома, которая включает в себя три энтеротипа. Так как, по предположениям, она играет ключевую роль в здоровье и болезни, очень важно знать микробный состав кишечного микробиома. На сегодняшний день мало известно о композиционной структуре кишечного микробиома казахстанского населения.

Мы изучили филогенетический состав кишечного микробиома, определили его типы и провели сравнительную характеристику микробного состава кишечного микробиома казахстанских женщин разных возрастных групп. Участники были разделены на три группы: первая группа включала 6 молодых женщин (до 44 лет), вторая группа – 17 женщин среднего возраста (50-75 лет) и третья группа – 6 пожилых женщин (90 лет и старше). Для анализа композиционного состава кишечного микробиома были проведены следующие методы: выделение суммарной ДНК из образцов фекалий, создание библиотеки клонов 16S rRNA, секвенирование и обработка полученных данных.

Согласно анализу образцов, были идентифицированы два энтеротипа кишечного микробиома женщин с четкими отличиями: в первом случае преобладал энтеротип *Bacteroidetes*, а во втором случае – энтеротип *Firmicutes*. Процентные различия указанных систематических групп в большинстве образцов были незначительными. Важно также отметить, что изучение видового разнообразия между группами показало наибольшее разнообразие в группе женщин от 30 до 75 лет, а беднейшее разнообразие наблюдалось у лиц от 90 лет и старше. Более того, было замечено, что наличие тех или иных видов микробиоты кишечника зависит от возрастного фактора.

Ключевые слова: кишечник, микробиом, композиционный состав, разнообразие, возраст, энтеротип, виды.

GUT MICROBIOME DIVERSITY IN KAZAKHSTANI WOMEN OF DIFFERENT AGE GROUPS

A.R.Kushugulova¹, S.S. Kozhakhmetov¹, D.M. Baiskhanova¹, I.K.Tynybayeva¹,
N.L. Shapekova², A.B. Kakimova¹, S.A. Saduakhasova¹, G.S. Shakhabayeva¹,
Z.R. Khassenbekova¹, T.S. Nurgozhin¹, Z.S. Zhumadilov¹

¹Center for Life Sciences, Nazarbayev University, Kabanbaybatyrave., 53, Astana, 010000, Kazakhstan

²Eurasian National University named after L.N.Gumilyev, Mirzoyan str., 2, Astana, 010000, Kazakhstan
d_baiskhanova@mail.ru

ABSTRACT

The human gut microflora is the largest part of the whole human microbiome that includes three enterotypes. As it has been proposed to play a crucial role in health and disease it is very important to know a microbial composition of the gut microbiome. But little is known about the gut microbiome compositional structure in Kazakhstani population. We studied the gut microbiome phylogenetic composition, determined its types and compared the microbial composition of the gut microbiome in different aged Kazakhstani women. Subjects were divided into three groups: first group included six young females (to 44 years old), second group – eighteen middle-aged females (50-75 years old) and the third group – six old females (above 90 years old). For analysis of gut microbiome composition amplification of the locus 16S rRNA, transformation of high copy plasmid vectors with ligated amplified DNA fragments into competent cells, sequence-PCR and sequencing were conducted.

According to the sample analysis there have been found two precise enterotypes of the gut microbiome with significant differences: in the first case prevailed *Bacteroidetes* type, and in the second case – *Firmicutes* type.

It is also important to notice, that studying species diversity between groups has shown the greatest diversity in subjects of 30 to 75 years and the poorest diversity was observed in individuals of 90 years and above and detected types of gut microbiota composition depends on the age factor.

More research is needed for a better understanding compositional structure of the gut microbiome of Kazakhstani population.

Keywords: gut, microbiome, compositional structure, diversity, age, enterotypes, species.

ВВЕДЕНИЕ

Хорошо известно, что наш микробиом включает в себя огромное количество микроорганизмов, которые населяют носовую, ротовую, кожную, желудочно-кишечную и мочеполовую системы. Эти сообщества микроорганизмов могут быть как комменсалами, так и патогенами для человека.

Повышенный интерес к кишечному микробиому связан с его значительным влиянием на организм хозяина в норме и при патологии [1]. По мнению многих авторов, кишечная микрофлора выполняет различные функции в нашем кишечнике, например, деградацию таких пищевых ингредиентов как углеводы, целлюлоза, гликаны, пептоны, с дальнейшим синтезом питательных веществ (витамины, аминокислоты, белки, органические и короткоцепочечные жирные кислоты и т.д.), которые, в свою очередь, имеют важное значение для жизнедеятельности организма; защиты кишечного барьера от патогенов и токсинов; повышения абсорбции ионов кальция, железа и витамина Д через стенки кишечника [2, 3]. Кроме того, он может выступать в роли пускового фактора многих заболеваний, влияя как на ближайшие, так и на отдаленные системы органов.

Было высказано предположение, что одним из важных факторов, которые могут повлиять на композиционный состав кишечного микробиома человека – это старение, приводящее в результате к развитию различных патологических состояний [4]. Таким образом, предположение, что различия в филогенетическом составе между молодыми и пожилыми лицами может иметь место.

Согласно некоторым исследованиям, существует три основных энтеротипа, идентифицированные в кишечном микробиоме человека – это *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* (грамотрицательные бактерии) и *Firmicutes* (грамположительные бактерии) энтеротипы [5].

Некоторые авторы утверждают, что более молодые (30 лет) и пожилые (75 лет) люди имеют аналогичную структуру микрофлоры кишечника, которая характерна для здоровой флоры. *Bacteroidetes* и *Firmicutes* являются доминирующими (95%)

семействами всего кишечного микробиома, а семейства *Actinobacteria* и *Proteobacteria* составляют меньшую часть микробиома [6]. Некоторые наблюдения показывают увеличение числа *Bacteroidetes* и понижение *Firmicutes* с возрастом [7].

Таким образом, видовой состав долгожителей существенно отличается от молодых и пожилых лиц. У них наблюдаются такие доминирующие семейства как *Bacteroidetes* и *Firmicutes*, но с пониженным числом вида *Clostridium* и с повышенным количеством бацилл. Также у долгожителей были обнаружены в меньших количествах муцин-связывающие, бутират-синтезирующие бактерии, а также бифидобактерии по сравнению с более молодыми возрастными группами [6].

Эти микробные сообщества кишечного микробиома являются неизученными у населения Казахстана, оставляя его композиционный состав и влияние на здоровье человека неизвестными.

В этом исследовании мы сосредоточились на казахстанских женщинах различных возрастных категорий с использованием подхода 16S рРНК. Основными задачами данного исследования являлись изучение филогенетического состава кишечника, определение основных семейств микробиома кишечника и сравнение его микробного состава казахстанских женщин разного возраста.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сбор образцов и группы

Образцы были собраны из кишечника условно здоровых женщин разного возраста (женщины в возрасте до 44 лет, 50-75 лет и 90 лет и старше). Процедуры сбора образцов соответствовали нормам этического комитета ЧУ «Центр наук о жизни», АО «Назарбаев Университет», и были проведены в соответствии с протоколом Асбора образцов микробиомного ядра №НМР-07-001. Каждому пациенту было выдано информированное согласие на процедуры обследования и сбора образцов, а также анкета, включающая вопросы по основным показателям здоровья (общая информация о пациенте, информация о заболеваниях желудочно-кишечного тракта, общая клиническая информация и информация о диете). Анкета заполнялась предварительно перед процедурой сбора образцов во избежание неподходящих для данного исследования пациентов. Участники исследования были разделены на три группы: первая группа включала в себя шесть молодых женщин (до 44 лет), вторая группа – семнадцать женщин среднего возраста (от 50 до 75 лет) и третья группа включала шесть пожилых женщин (90 лет и старше).

Выделение суммарной ДНК

Суммарная ДНК была выделена из 29 образцов фекалий с помощью набора для выделения суммарной ДНК PowerSoil DNA Isolation kit (MoBio Laboratories Inc., Carlsbad, CA, USA) с разбивающими шариками для каждого образца. Все процедуры были проведены в соответствии с протоколом, который был включен в данный набор. ДНК элюировали в конечном объеме 100 мкл элюирующего буфера и затем хранили при –20°C. Концентрацию полученных образцов ДНК измеряли с помощью спектрофотометра NanoDrop 2000 (ThermoScientific). Наименьшее количество геномной ДНК, измеренной с помощью спектрофотометрии, составило от 20 до 60 нг/мкл.

16S рРНК секвенирование и анализ полученных данных

Фрагмент гена 16S рРНК, выделенного из суммарной ДНК, был амплифицирован с помощью 16S праймеров (прямой: 5'-AGAGTTTGTATCCTGGCTCAG-3'; обратный: 5'-

GGACTACCAGGGTATСТААТ-3'). Длина фрагмента данного гена составила 798 пар оснований, соответствующая вариабельной области гена 16S рРНК. После амплификации было проведено лигирование желаемого гена в высококопийные плазмидные векторы, и затем трансформация данных плазмидных векторов в компетентные клетки *E.coli*. В результате с помощью секвенирования было проанализировано около 200 клонов из каждого образца. Эти клоны являлись фрагментами гена 16S рРНК. Секвенирование полученных образцов проводили с помощью 3730 XL DNA Analyzer (Applied Biosystems, США). Полученные данные были проанализированы с помощью программного обеспечения Sequence Scanner версии v 1.0, базы данных National Center for Biotechnology Information (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) и программы Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>). Статистическую обработку данных проводили при помощи программы Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате исследования был проведен анализ кишечного микробиома 29 условно здоровых женщин разных возрастных групп. Первая группа включала молодых женщин до 44 лет, вторая группа – женщин возраста от 50 до 75 лет и третья группа – пожилых женщин 90 лет и более. Разделение участников по группам приведено в таблице 1.

Таблица 1. Разделение участников исследования согласно возрасту

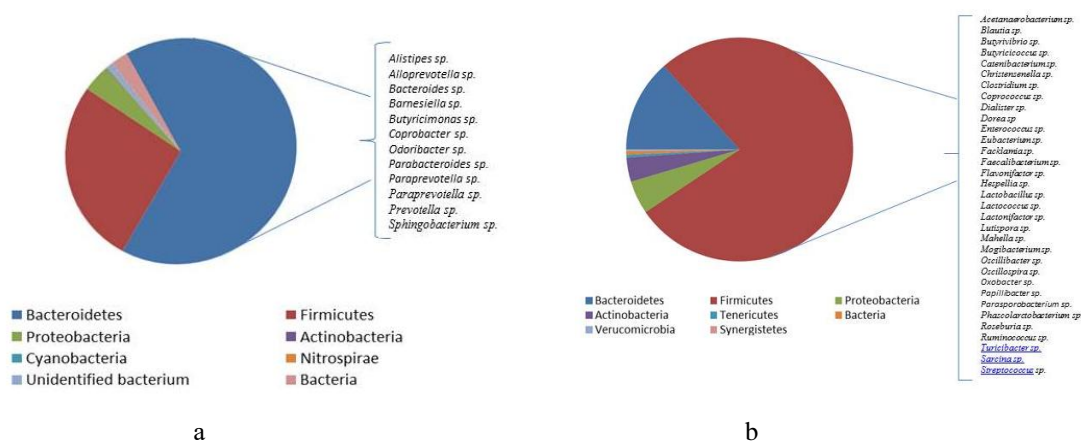
Table 1. Subject's grouping according to age

| Возрастная группа Age group | Количество участников Number of subjects |
|--------------------------------|---|
| I группа (до 44 лет) | 6 |
| II группа (от 50 до 70 лет) | 17 |
| III группа (90 лет и старше) | 6 |
| Итого | 29 |

В результате проведенного исследования была изучена композиционная структура кишечного микробиома женщин разных возрастных групп. Среди всех трех групп, независимо от возраста, были идентифицированы два основных бактериальных энтеротипа кишечного микробиома: *Bacteroidetes* и *Firmicutes*. Рисунок 1 отражает два преобладающих энтеротипа кишечного микробиома женщин разных возрастов. Из рисунка четко видно, что первый и второй типы резко отличаются друг от друга в процентном соотношении: в первом случае преобладает *Bacteroidetes* энтеротип (66,1%), а во втором случае – *Firmicutes* энтеротип (77,3%).

Рисунок 2 отображает динамику бактериальных семейств кишечного микробиома, изменяющуюся во всех группах в зависимости от возраста (1 группа (до 44 лет); 2 группа (от 50 до 75 лет); 3 группа (90 лет и старше)). Из графика хорошо видно, что основные бактериальные семейства *Bacteroidetes* и *Firmicutes* преобладают во всех трех группах, но наибольшее количество *Bacteroidetes* выявлено в 1 группе (до 44 лет), семейство *Firmicutes* преобладает во 2 группе (50-75 лет), а 3 группа (90 лет и старше)

характеризуется самым высоким процентом бактерий семейства *Tenericutes* по сравнению с другими группами.



Семейство а – *Bacteroidetes*; семейство б – *Firmicutes*

Рис. 1. Основные семейства кишечного микробиома, идентифицированные в трех группах и виды бактерий, относящиеся к этим двум семействам

Phyla a – *Bacteroidetes*; phyla b – *Firmicutes*

Fig. 1. Main phyla of the gut microbiome found in all three groups) and species related to these two phyla

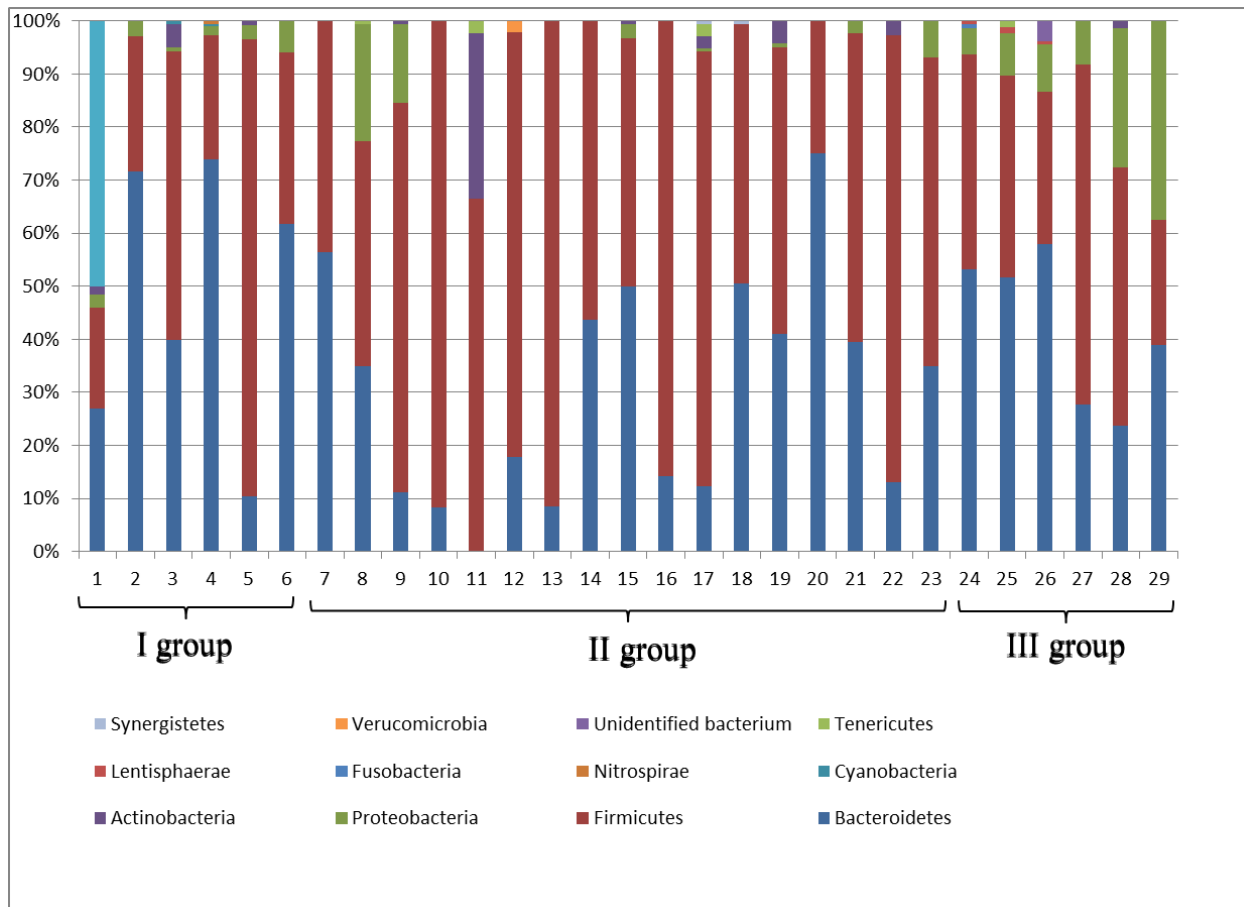


Рис. 2. Динамика бактериальных семейств в соответствии с возрастным фактором

Fig. 2. Dynamics of the bacterial families according to the age factor

Всего в данной выборке мы идентифицировали 212 бактериальных видов. Они представлены такими видами: *Bacteroides* sp., *Acetanaerobacterium* sp., *Acidovorax* sp., *Alloprevotella* sp., *Alistipes* sp., *Bacteroides* sp., *Clostridium* sp., *Eubacterium* sp., *Ruminococcus* sp., *Bifidobacterium* sp. Большинство этих видов являются распространенными обитателями кишечника, которые выполняют нормальные физиологические функции в кишечнике, например, защита слизистого барьера от болезнетворных микроорганизмов и токсинов; переработка пищевых субстратов (целлюлоза, углеводы, пектины, гликаны) с образованием таких питательных веществ как органические и короткоцепочечные жирные кислоты, витамины, аминокислоты, которые играют существенную роль для жизненно важных функций организма. Наиболее часто встречаемые бактериальные виды кишечного микробиома во всех возрастных группах представлены на рисунке 3.

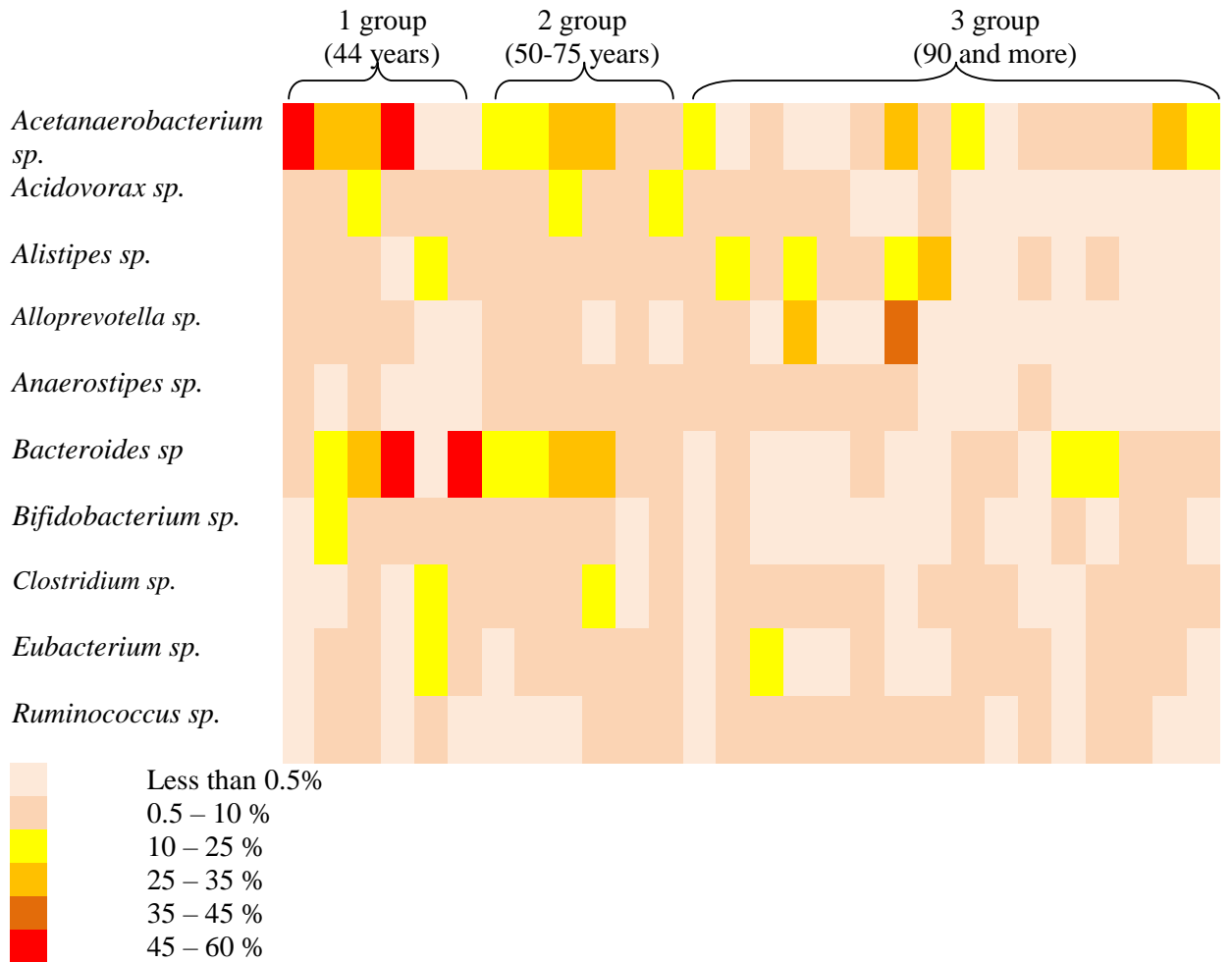


Рис. 3. Наиболее часто встречаемые бактериальные видыкишечногомикробиома в трех возрастных группах

Fig. 3.The most frequent genera found in all three groups

Также важно отметить, что изучение разнообразия бактериальных видов между группами показало наибольшее разнообразие в субъектах группы от 30 до 75 лет, а беднейшее разнообразие наблюдалось у лиц 90 лет и старше. Кроме того, мы предполагаем, что типы бактериальной композиционной структуры, идентифицированные в кишечнике, имеют зависимость от возрастного фактора, все три группы имели различия в определенной структуре кишечногомикробиома.

Таким образом, 1 и 2 группы (30-75 лет) имеют широкое разнообразие видов, которые в основном встречаются в растительных субстратах. Например, в мелассе, компосте, продуктах переработки ши, фруктах и овощах или в желудочно-кишечном тракте травоядных, рубцах крупного рогатого скота, которые, вероятнее, преобразовывают целлюлозу, лигнаны и другие растительные субстраты. Возможно, это объясняется преобладанием растительной пищи в рационе этих участников (*Clostridiumcellulolyticum*, *Ethanoligenensharbinense*, *Howardellaureilytica*, *Lachnospirapectinoshiza*, *Leuconostocmesenteroides*, *Oscillospiraguilliermondii*,

mitsuokellajalaludinii, *Papillibactercinnamivorans*, *Adlercreutziaequolifaciens*,
Phascolarctobacteriumfaecium, *Sphingobacteriumdaejeonense*,
Prevotellaspp., *Bacteroidesxylanisolvens* и *Lactonifactorlongoviformis*). Например,
Lactonifactorlongovis ассоциируется с превращением растительных лигнанов, которые
являются фенольными соединениями растительного происхождения, обладающими
антиоксидантной, антинеоплазматической, эстрогенной деятельностью. Кроме того, эта
группа имеет также такие виды бактерий как *Butyricimonasvirosa*, *Anaerostipesbutyraticus*,
продуцирующие бутират, который участвует в переваривании и усвоении питательных
веществ, поддерживает иммунную систему. Также для данной группы характерны
продуценты органических и короткоцепочечных жирных кислот, синтезирующих эти
вещества из углеводов (*Fusicatenibactersaccharivorans*, *Lactobacillusdelbrueckii*, *L.*
plantarum, *L. ruminis*) и муцин-деградирующие бактерии – *Akkermansiamuniciphila*,
которые согласно исследованиям, более типичны для более молодых, чем для пожилых
лиц.

3 группа (90 лет и старше) характеризовалась бедным видовым разнообразием,
связанным с преобразованием растительных субстратов и отсутствием бактерий,
продуцирующих бутират, деградирующих муцин и связывающих слизь по сравнению с 1
и 2 группами. Это можно объяснить потерей таких функциональных свойств с
возрастом. Именно поэтому данные бактериальные виды присутствуют в небольшом
количестве или отсутствуют у пожилых лиц (рисунок 4).

Более того, почти у всех участников исследования было обнаружено наличие
условно-патогенных бактерий. Например, *Citrobacterdiversus*, *Clostridiumchauveii*,
Clostridium sordelii, *Escherichiafergusonii*, *Klebsiellaoxytoca*, *Salmonellatyphi*,
Coproccoccusatus и т.д. Эти микроорганизмы могут вызывать различные заболевания у
людей и животных. Кроме того, такие участники могут быть переносчиками
заболеваний, вызываемых данными видами бактерий.

Сравнение функциональных характеристик бактериальных видов, найденных в
группах, приведено в таблице 2.

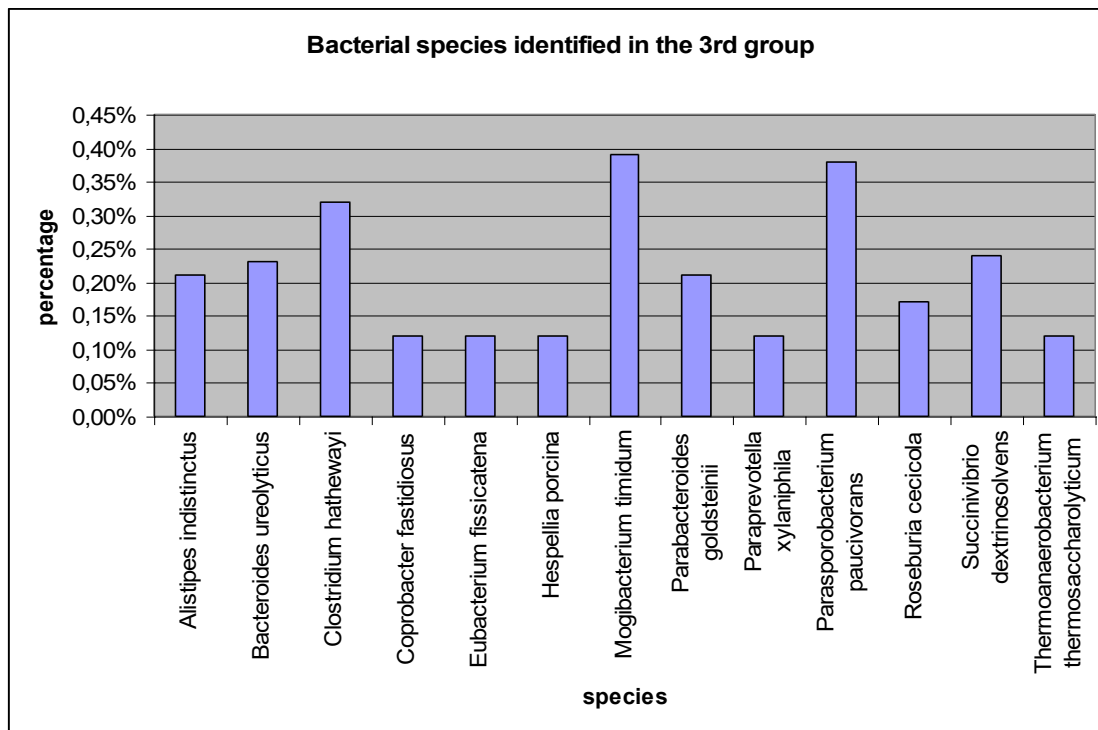


Рис. 4. Разнообразие бактериальных видов в 3 группе

Fig. 4. Variety of bacterial species in the 3rd group

Таблица 2. Функциональная характеристика бактериальных видов кишечного микробиома

Table 2. Functional characteristics of the gut microbiome bacterial species

| Функциональные характеристики Functional characteristics | Бактериальные виды Bacterial species | 30-75 лет 30-75 years | 90 лет и старше 90 years and above |
|---|--|--------------------------|---------------------------------------|
| Бактерии, деградирующие растительные субстраты (целлюлоза) Plant substrates degrading bacteria (cellulose) | <ul style="list-style-type: none"> • <i>Lactonifactor longovis</i>; • <i>Clostridium cellulolyticum</i>; • <i>Ethanoligenens harbinense</i>; • <i>Howardella aureilytica</i>; • <i>Lachnospira pectinoshiza</i>; • <i>Leuconostoc mesenteroides</i>; • <i>Oscillospiraguilliermondii</i>; • <i>Mitsuokella jalaludinii</i>; • <i>Papillibacter cinnamivorans</i>; • <i>Adlercreutzia equolifaciens</i>; • <i>Phascolarctobacterium faecium</i>; | + | + |

Для лучшего понимания причины различия композиционной структуры между субъектами различного возраста и ее роли в норме и при патологиях необходимы дальнейшие исследования композиционного состава кишечного микробиома казахстанской популяции.

Финансирование

Финансирование предоставлено Министерством образования и науки Республики Казахстан в рамках программы 0.0568 «Научные основы качественного долголетия и разработка инновационных технологий геронтоинжиниринга» по проекту «Кишечный микробиом и его влияние на здоровье и старение в Казахстане».

ЛИТЕРАТУРА

1. Фадеев Г.Д., Богун Л.В. Дисбиоз кишечника в практике врача интерниста // *Сучасна Гастроентерологія*. – 2013. – №69. – С. 89-95.
2. Mayo B., van Sinderen D. *Bifidobacteria: Genomics and Molecular Aspects* // Caister Academic Press. – 2010. – 260 p.
3. Wexler H.M. Bacteroides: the good, the bad, and the nitty-gritty // *Clinical Microbiology Reviews*. – 2007. – Vol. 20, №4. – P. 593-621.
4. Margone T., Jirillo E. The interaction between gut microbiota and age-related changes in immune function and inflammation // *Immun Ageing*. – 2013. – №10. – 31p.
5. Rajilic´-Stojanovic´ M., Heilig H.G.H.J., Molenaar D. Development and application of the human intestinal tract chip, a phylogenetic microarray: analysis of universally conserved phylotypes in the abundant microbiota of young and elderly adults // *Environmental Microbiology*. – 2009. – Vol. 11, №7. – P. 1736-1751.
6. Biagi E., Nylund L., Candela M., Ostan R., Bucci L., Pini E., Nikkila J., Monti D., Satokari R., Franceschi C., Brigidi P., De Vos W. Through ageing and beyond: gut microbiota and inflammatory status in seniors and centenarians // *PlosOne*. – 2010. – №5. – 5 p.
7. Marathe N., Shetty S., Lanjekar V., Ranade D., Shouche Y. Changes in human gut flora with age: an Indian familial study // *BMC Microbiology*. – 2012. – №12. – 222 p.

REFERENCES

1. Fadeenko G.D., Bogun L.V. Disbioz kishechnika v praktike vrachainternista [Intestinal dysbiosis in physician internist's practice]. *Modern Gastroenterology*, 2013, no. 69, pp. 89-95.
2. Mayo B., van Sinderen D. *Bifidobacteria: Genomics and Molecular Aspects*. Caister Academic Press, 2010, 260 p.
3. Wexler H.M. Bacteroides: the good, the bad, and the nitty-gritty. *Clinical Microbiology Reviews*, 2007, vol. 20, no. 4, pp. 593-621. doi: 10.1128/CMR.00008-07.
4. Margone T., Jirillo E. The interaction between gut microbiota and age-related changes in immune function and inflammation. *Immun Ageing*, 2013, no. 10, 31p. doi: 10.1186/1742-4933-10-31.
5. Rajilic´-Stojanovic´ M., Heilig H.G.H.J., Molenaar D. Development and application of the human intestinal tract chip, a phylogenetic microarray: analysis of universally conserved

phylotypes in the abundant microbiota of young and elderly adultsemi. *Environmental Microbiology*, 2009, vol. 11, no. 7, pp.1736-1751.doi: 10.1111/j.1462-2920.2009.01900.x.

6. Biagi E., Nylud L., Candela M., Ostan R., Bucci L., Pini E., Nikkila J., Monti D., Satokari R., Franceschi C., Brigidi P., De Vos W. Through ageing and beyond: gut microbiota and inflammatory status in seniors and centenarians. *PlosOne*, 2010, no. 5,5 p.doi: 10.1371/journal.pone.0010667.

7. Marathe N., Shetty S., Lanjekar V., Ranade D., Shouche Y. Changes in human gut flora with age: an Indian familial study. *BMC Microbiology*, 2012, no. 12, 222 p.doi: 10.1186/1471-2180-12-222.

ТҮЙІН

Адамның ішек микрофлорасы бүкіл адам микробиомының аса ірі бөлігі болып табылады, ол үш энтеротипті қамтиды. Болжамдар бойынша, ол адамның денсаулығы мен ауруында негізгі рөл атқаратындықтан, ішек микробиомының микробтық құрамын білу өте маңызды. Бүгінгі таңда Қазақстан халқының ішек микробиомының композициялық құрылымы жайлы деректер аз.

Біз ішек микробиомының филогенетикалық құрамын зерттеп, оның типтерін анықтадық және қазақстандық әр түрлі жастағы әйелдердің ішек микробиомының микробтық құрамына салыстырмалы сипаттама жасадық. Қатысушылар үш топқа бөлінді: бірінші топ – жас 6 әйелден (44 жасқа дейін), екінші топ – орта жастағы 17 әйелден (50-75 жас аралығы), ал үшінші топ – егде жастағы 6 әйелден (90 жас және жоғары) құралды. Ішек микробиомының композициялық құрамын анықтауда келесі жұмыстар жүргізілді: нәжістік үлгілердің жиынтық ДНҚ-сын бөліп шығару, 16S рРНК клондарының кітапханасын құру, 16S рРНК секвенирлеу және алынған деректерді өңдеу.

Сынамалардың анализі бойынша әйелдердің ішек микробиомының екі түрлі энтеротипі айқын ерекшеліктерімен сәйкестендірілді: бірінші жағдайда *Bacteroidetes* энтеротипі басым болды, ал екінші жағдайда *Firmicutes* энтеротипінің басымдылығы анықталды. Көрсетілген жүйелілік топтарының пайыздық ерекшеліктері сынамалардың көпшілігінде шамалы болды.

Сондай-ақ топтар арасындағы түрлік айырмашылықтарды зерттеу әйелдер тобындағы ең көп айырмашылықтар 30-дан 75 жас аралығында екені анықталып, ал аз алуантүрлілік 90 және одан жоғары жастардағы әйелдерде көрінгендігін атап өткен жөн. Оның үстіне ішек микробиотының сол немесе өзге түрлерінің болуы, жас ерекшелігі факторына байланысты екендігі байқалды.

Негізгі сөздер: ішек, микробиом, композициялық құрамы, алуантүрлілік, жас, энтеротип, түрлер.