

МИКРОБИОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 579.61

doi: 10.17072/1994-9952-2022-2-137-142.

Состояние микробиоценоза кишечника как критерий оценки качества питания

Нина Владимировна Николаева^{1✉}, Елизавета Викторовна Афанасьевская²,
Эдуард Семенович Горовиц³, Александр Яковлевич Перевалов⁴

^{1–4} Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера, Пермь, Россия

^{1✉} solomoni.ya@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6799-5503>

² lizavika@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3498-6459>

³ eduard.gorovitz@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4320-8672>

⁴ <https://orcid.org/0000-0001-2345-6789>

Аннотация. В результате проведенного динамического трехкратного бактериологического обследования на дисбиоз кишечника практически здоровых студентов 1 курса, прибывших на учебу из других регионов, установлено, что уже спустя полгода после начала учебы изменение режима и качества питания приводит к развитию дисбиоза кишечника у 61.54% иногородних студентов 1 курса ВУЗа из 28 обследованных. Показано, что дисбиотические нарушения микробиоты кишечника прежде всего связаны с уменьшением на 1–3 порядка титра облигатных бактерий (бифидо- и лактобактерий, типичных эшерихий). На этом фоне возрастало количество условно патогенных транзиторных микроорганизмов. К концу срока наблюдения (спустя 9 мес.) степень выраженности дисбиотических изменений у большинства обследованных студентов существенно нарастала. Полученные результаты исследований указывают на то, что состояние микробиоты кишечника у практически здоровых лиц может служить одним из объективных и информативных критериев полноценности питания.

Ключевые слова: иногородние студенты, питание, дисбиоз

Для цитирования: Состояние микробиоценоза кишечника как критерий оценки качества питания / Н. В. Николаева, Е. В. Афанасьевская, Э. С. Горовиц, А. Я. Перевалов // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2022. Вып. 2. С. 137–142. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-2-137-142>.

MICROBIOLOGY

Original article

Intestinal microbiocinosis status as a criterion for nutritional quality assessment

Nina V. Nikolaeva^{1✉}, Elizaveta V. Afanasevskaja², Eduard S. Gorovitz³,
Alexander Ja. Perevalov⁴

^{1–4} E.A. Vagner Perm State Medical University, Perm, Russia

^{1✉} solomoni.ya@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6799-5503>

² lizavika@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3498-6459>

³ eduard.gorovitz@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4320-8672>

⁴ <https://orcid.org/0000-0001-2345-6789>

Abstract. As a result of dynamic triple bacteriological examination for intestinal dysbiosis performed in 30 generally healthy 1st-year students who came to study from other regions, it was found that changes in the regime and quality of food led to the development of intestinal dysbiosis in 61.54% (out of 28 examined individuals) of nonresident first-year university students six months after the start of the study. The dysbiotic disorders of the intestinal microbiota were found to be primarily associated with a decrease (by 1–3 orders of magnitude) in the titer of obligate bacteria (bifido- and lactic bacteria, typical *Escherichia coli*). Against this background, the number of opportunistic transient microorganisms elevated. By the end of the follow-up period (after 9 months), the severity of dysbiotic changes enhanced in the majority of the examined students. The results of the performed studies indicate that the intestinal microbiota status in generally healthy individuals can serve as an objective and informative criterion for good nutrition.

Keywords: nonresident students, nutrition, dysbiosis

For citation: Nikolaeva N. V., Afanasevskaja E. V., Gorovitz E. S., Perevalov A. Ja. [Intestinal microbiocenosis status as a criterion for nutritional quality assessment]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 2 (2022): pp. 137-142. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2022-2-137-142>.

Введение

Известно, что макроорганизм и его микробиом представляют собой сложную экологическую систему. При этом так называемая нормофлора кишечного биотопа вместе с организмом хозяина рассматривается как единая экосистема, которая является своеобразным экстракорпоральным органом макроорганизма [Костюкевич, 2011; Shenderov, 2012]. Микробиота кишечника, выполняя целый ряд важных функций, играет существенную роль в жизнедеятельности человека. В частности, представители облигатных (индигенных, резидентных) бактерий обеспечивают колонизационную резистентность слизистой оболочки кишечника, препятствуя проникновению и развитию патогенных микроорганизмов, стимулируют функцию иммунной системы, регулируют функциональную активность кишечника [Перунова, Иванова, Бухарин, 2010; Беляева, 2014; Ситкин и др., 2021].

Нарушение качественного и количественного состава микробиоты кишечного биотопа принято называть дисбиозом кишечника. В таких случаях происходит «отмена» всех полезных функций облигатных микроорганизмов, что приводит к развитию дезадапционного синдрома и, как следствие, к возникновению различных патологических состояний. Причинами развития дисбиоза кишечника могут быть различные факторы и прежде всего нарушение питания (пищевые дефициты, несбалансированное питание, отсутствие необходимых нутриентов и т. д.) [Шендеров, 2008]. Более того, состояние микробиоценоза кишечного биотопа, формирование его видового состава в существенной мере определяется режимом и качеством питания. Следовательно, анализ количественных и качественных показателей видового состава микробиома кишечника может служить объективным и информативным критерием оценки достаточности и полноценности питания. В связи с этим следует подчеркнуть, что иные способы оценки качества питания, как правило, являются инвазивными и трудоемкими.

Цель настоящей работы – изучить влияние изменений режима и качества питания на состояние микробиоценоза кишечника.

Материалы и методы исследований

Под наблюдением находилось 30 практически здоровых студентов 1 курса Пермского государственного медицинского университета им. академика Е.А. Вагнера, прибывших на учебу из других регионов и проживающих в общежитии. Преобладали лица женского пола – 26 чел. Средний возраст составлял 18 лет (± 1 год). Оценку состояния микробиоценоза кишечника осуществляли с помощью традиционного бактериологического метода в соответствии с отраслевым стандартом¹.

Исследования выполняли на базе бактериологической лаборатории ГБУЗ ПК «ГКБ № 7» (Пермь). Изучение качественного и количественного состава микробиоты толстой кишки проводили в динамике, трехкратно. Первый забор материала осуществляли в сентябре 2018 г. (на 2–3 недели после приезда в г. Пермь). Повторное исследование проводили спустя 6 мес., а через 9 мес. после начала учебы – третье. В соответствии с отраслевым стандартом выявление бифидобактерий осуществляли на жидких средах лабораторного приготовления: Блаурокка и тиогликолевой; лактобактерий – МРС-4; энтерококков – Калины. Стафилококки выделяли на желточно-солевом агаре, грибы рода *Candida* – на среде Сабуро с добавлением антибиотиков. Для определения условно-патогенных энтеробактерий применяли дифференциально-диагностические среды Эндо и Левина; сальмонелл – селенитовый бульон с дальнейшим пересевом на строго селективную среду висмут-сульфат агар. Наряду с этим параллельно использовали кровяной агар – универсальную питательную среду для выявления гемофильных бактерий и гемолитической активности микроорганизмов. Посевы инкубировали при температуре 37°C в течение 24–96 ч., после чего изучали наличие роста. Бифидо- и лактобактерии определяли на основании исследования их морфологии, тинкториальных и культуральных свойств. Под термином «лактобактерии» объединяли представителей индигенной микрофлоры – молочнокислые стрептококки и палочковидные формы, учитывая однозначность их функций. Индикацию энтерококков проводили высевом лактозонегативных колоний со среды Эндо на агар Клигера и среду Симонса. Идентификацию стафилококков различных видов и условно-патогенных энтеробактерий осуществляли с помощью соответствующих диагностических наборов «Staphytest-24» и «Enterotest-16» (ERBA LACHEMA, Чехия).

¹ Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника: отраслевой стандарт (ОСТ 91500.11.0004-2003, Приказ МЗ РФ № 231 от 09 июня 2003 г.). URL: https://skpgp1.ru/files/prikaz_minzdrava_rf_ot_09_06_2003_n_231_pdf.pdf.

Статистическую обработку результатов проведенных исследований выполняли с помощью компьютерной программы «STATISTICA, 6.0». Оценку значимости различий между наборами цифровых данных, полученных в разные сроки обследования студентов, проводили с использованием непараметрического критерия χ^2 . Статистически достоверными считали различия при $p < 0.05$.

Результаты и их обсуждение

При первичном обследовании, выполненном в первые три недели сентября, различные дисбиотические отклонения количественного и качественного состава микробиоты кишечника регистрировали у трети студентов (табл. 1).

Таблица 1

Результаты обследования студентов на дисбиоз кишечника в различные сроки наблюдения
[The results of the examination of students for intestinal dysbiosis at various follow-up periods]

Сроки обследования	Количество обследованных, чел.	Количество выявленных случаев дисбиоза, %	P ₁	P ₂	P ₃
Сентябрь 2018 г.	30	33.33	0.035	0.778	0.048
Февраль 2019 г.	28	61.54			
Май 2019 г.	28	57.69			

Примечание. Здесь, а также в табл. 2 и 3, P – достоверность различий между результатами обследования в различные сроки наблюдения: P₁ – 1 и 2; P₂ – 2 и 3; P₃ – 1 и 3.

Как следует из представленных данных, спустя 6 и 9 мес. после первичного (фонового) обследования количество студентов с дисбиозом кишечника существенно увеличивалось и соответственно составляло 61.54 и 57.69%. Выявленные негативные изменения в составе микробиома появлялись уже через полгода после начала наблюдения.

Выявленные дисбиотические проявления, прежде всего, характеризовались уменьшением концентрации основных облигатных представителей микробиоты кишечника – анаэробных микроорганизмов (табл. 2).

Таблица 2

Частота встречаемости изменений концентрации основных представителей индигенной микрофлоры кишечника у обследованных студентов
[The frequency of occurrence of changes in the concentration of the main representatives of the indigenous intestinal microflora in the examined students]

Микроорганизмы	Частота встречаемости случаев изменений количества микроорганизмов в различные сроки обследования, %			P ₁	P ₂	P ₃
	сентябрь 2018 г.	февраль 2019 г.	май 2019 г.			
<i>Bifidumbacterium</i> spp.	20.00	38.47	46.15	0.128	0.575	0.037
<i>Lactobacterium</i> spp.	16.67	30.77	42.31	0.213	0.388	0.035
<i>Escherichia coli</i> типичные	30.00	26.92	61.54	0.800	0.012	0.018
<i>E. coli</i> гемолитические	26.67	30.77	19.23	0.735	0.337	0.511
<i>E. coli</i> лактозонегативные	16.66	15.38	42.30	0.122	0.001	0.035
<i>E. faecalis</i>	24.00	35.00	38.46	0.352	0.774	0.220
<i>E. faecium</i>	30.00	35.00	53.85	0.713	0.163	0.071

Из приведенных сведений следует, что уже в первые сроки обследования у ряда студентов наблюдали изменение количества основных представителей доминантных видов кишечного биотопа бифидо- и лактобактерий, связанное со снижением титра соответственно до 10^7 – 10^8 КОЕ/г и 10^5 – 10^6 КОЕ/г. В дальнейшем количество таких лиц возрастало и к 9 мес. после начала наблюдений достигало соответственно 46.15 и 42.31%. Различия между данными первичного и завершающего обследований в том и в другом случаях статистически значимы. Снижение концентрации этих симбионтов в указанные сроки уже было более существенным, как правило, на 3–4 порядка.

Аналогичная тенденция прослеживалась в отношении концентрации других индигентных микроорганизмов, входящих в состав микробиоценоза кишечника, типичных *E. coli* и бактерий рода *Enterococcus*. Если в сентябре уменьшение концентрации типичных *E. coli* было отмечено у 30.0% обследованных, то к концу срока наблюдений уже у 61.54%. В отношении численности энтерококков выявлялись те же закономерности. При этом более существенным был процент лиц с уменьшением уровня *E. faecium* от 30.0% при первичном обследовании до 53.85% спустя 9 мес. Следует особо отметить, что во всех выявленных случаях снижение титра облигатных микроорганизмов, колонизирующих кишечник, колебалось от 1 до 2 порядков, причем к концу срока наблюдения оно было более выраженным: типичных *E. coli* до 10^4 – 10^5

КОЕ/г, *E. faecalis* до 10^3 – 10^4 КОЕ/г и *E. faecium* до 10^9 – 10^{10} КОЕ/г. На фоне уменьшения титра типичных эшерихий возросло количество атипичных видов *E. coli* – лактозонегативных и гемолитических форм. В частности, количество лиц с высоким титром лактозонегативных *E. coli* в процессе наблюдения увеличилось более чем в 2 раза.

За счет снижения уровня облигатных микроорганизмов в кишечнике регистрировали существенное увеличение концентрации микроорганизмов условно-патогенных видов, они колонизировали освободившиеся ниши. Это касается представителей как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий, а также грибов рода *Candida* (табл. 3).

Таблица 3

Частота случаев превышения уровня условно-патогенных грамотрицательных и грамположительных бактерий у студентов в различные сроки обследования
[The frequency of cases of excess of the level of conditionally pathogenic gram-negative and gram-positive bacteria in students at various times of examination]

Микроорганизмы	Число случаев превышения концентрации микроорганизмов в различные сроки обследования, %			P ₁	P ₂	P ₃
	сентябрь 2018 г.	февраль 2019 г.	май 2019 г.			
<i>Klebsiella</i> spp.	13.33	34.61	61.53	0.060	0.053	0.001
<i>C. freundii</i>	20.00	42.30	76.92	0.071	0.011	0.001
<i>P. agglomerans</i>	13.33	23.07	7.69	0.343	0.125	0.497
<i>E. cloacae</i>	0.00	7.69	0.00	0.122	0.150	1.000
<i>S. epidermidis</i>	20.00	11.53	7.69	0.390	0.639	0.190
<i>Candida</i> sp.	3.33	3.85	3.85	0.918	1.000	0.918

Из представленных данных следует, что среди обнаруженных условно-патогенных транзитных грамотрицательных бактерий чаще всего увеличивалось количество штаммов, принадлежащих к *C. freundii*. У 76.92% обследованных к концу срока наблюдения зафиксирован рост уровня этих энтеробактерий: их титр колебался от 10^6 до 10^8 КОЕ/г. В эти же сроки более чем у половины обследованных лиц констатировали и рост уровня культур *Klebsiella*, его значение, как правило, на 1–2 порядка превышало нормативные показатели. Изменение титра других условно-патогенных микроорганизмов, в том числе грампозитивных бактерий регистрировали реже, причем эти различия в динамике наблюдений не были статически значимыми.

Таким образом, у практически здоровых лиц, прибывших на учебу в другой город, в силу изменения режима и качества питания (что подтверждается их опросом) уже спустя 6 мес. выявлены те или иные дисбиотические изменения микробиоты кишечника. В новых условиях ассортимент используемых продуктов в сравнении с «домашним» значительно уменьшается, «страдает» и меняется регулярность приема пищи. Полноценным по объему и калорийности остается практически только ужин. В остальное время большинство студентов из-за существенной учебной нагрузки и отсутствия поблизости учреждений общественного питания употребляют в основном хлебобулочные изделия и бутерброды, зачастую всухомятку. Естественно, это не может не сказаться на состоянии микробиоценоза кишечника, поскольку питание является ведущим физиологическим фактором, определяющим функциональную активность кишечника и его микробиоты [Shori, 2016; Шевелева и др., 2020; Ким, Шевелева, 2021]. В условиях эксперимента на лабораторных животных было убедительно показано, что ограничение пищевого рациона приводит к развитию дисбиоза кишечника [Venema, Van den Abbeele, 2013].

На состояние микробиоценоза различных биотопов организма человека также негативно влияют стрессовые ситуации, связанные с отрывом от семьи, переездом в другой город и резким изменением образа жизни. Как следствие, более чем у половины (61.54%) обследованных иногородних студентов уже спустя полгода после начала учебы наблюдаются различные дисбиотические изменения микробиоты кишечного биотопа, причем количество таких студентов, по сравнению с первичным обследованием, выполненным в первые недели сентября, возросло в 2 раза.

Обращает на себя внимание также достаточно значительный (30.0%) процент лиц с дисбиозом кишечника, выявляемый при первичном обследовании (фоновые значения). В связи с этим следует отметить, что по данным различных исследователей [Парфенов, Бондаренко, 2009; Перунова, Иванова, Бухарин, 2010; Стуров, Попов, Жуков, 2021], 30–50% практически здоровых лиц имеют те или иные изменения качественного или количественного состава микробиоты кишечника.

Выводы

1. Изменение режима и качества питания уже спустя полгода после начала учебы приводит к развитию дисбиоза кишечника у 61.541% из 28 обследованных иногородних студентов первого курса ВУЗа.

2. Состояние микробиома кишечника у практически здоровых лиц может служить одним из объективных и доступных информативных критериев полноценности питания.

Список источников

1. Беляева Е.А. Микробиота кишечника коренного жителя Центрального федерального округа Российской Федерации как основа для создания региональных пробиотических препаратов: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2014. 24 с.
2. Ким Н.В., Шевелева С.А. Роль микробиома кишечника в норме и при алиментарно-зависимых заболеваниях // Вопросы питания. 2021. Т. 90, № 6 (538). С. 31–41. DOI: <http://doi.org/10.33029/0042-8833-2021-90-6-31-41>.
3. Костюкевич О.И. Влияние кишечной микрофлоры на здоровье человека. От патогенеза к современным методам коррекции дисбиоза // РМЖ. 2011. Т. 19, № 5. С. 304–308.
4. Парфенов А.И., Бондаренко В.М. Регуляция соотношения между нормальной и патологической микрофлорой кишечника // Гастроэнтерология. Приложение к журналу Consilium Medicum. 2009. № 2. С. 67–70.
5. Перунова Н.Б., Иванова Е.В., Бухарин О.В. Микробная регуляция биологических свойств бактерий кишечного микросимбиоза человека // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2010. № 6. С. 76–80.
6. Ситкин С.И. и др. Микробиота и дисбиоз кишечника при целиакии // Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2021. Т. 66, № 2. С. 116–122. DOI: [10.21508/1027-4065-2021-66-2-116-122](https://doi.org/10.21508/1027-4065-2021-66-2-116-122).
7. Стуров Н.В., Попов С.В., Жуков В.А. Современные подходы к коррекции микробиоты кишечника // Медицинский совет. 2021. № 4. С. 136–143. DOI: [10.21518/2079-701X-2021-4-136-143](https://doi.org/10.21518/2079-701X-2021-4-136-143)
8. Шевелева С.А. и др. Микробиом кишечника: от эталона нормы к патологии // Вопросы питания. 2020. Т. 89, № 4. С. 35–51. DOI: [10.24411/0042-8833-2020-10040](https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10040).
9. Шендеров Б.А. Роль питания и кишечной микрофлоры в поддержании нутритивного гомеостаза человека // Вестник восстановительной медицины. 2008. № 1 (23). С. 12–13.
10. Shenderov B.A. Gut Indigeneous Microbiota and Epigenetics // Microbial Ecology in Health and Disease. 2012. Vol. 23, № 1. P. 1795.
11. Shori A. Influence of food matrix on the viability of probiotic bacteria: A review based on dairy and non-dairy beverages // Food Bioscience. 2016. Vol. 13. P. 1–8.
12. Venema K., van den Abbeele P. Experimental models of the gut microbiome // Best Practice & Research in Clinical Gastroenterology. 2013. Vol. 27, № 1. P. 115–126.

References

1. Beljaeva E.A. *Mikrobiota kišečnika korenного žitelja Central'nogo federal'nogo okruga Rossijskoj Federacii kak osnova dlja sozdanija regional'nych probiotičeskich preparatov. Avtoref. dis. kand. biol. nauk* [Gut microbiota of an indigenous inhabitant of the Central Federal District of the Russian Federation as a basis for the creation of regional probiotic drugs. Abstract of the dissertation]. Moscow, 2014. 24 p. (In Russ.).
2. Kim N.V., Sheveleva S.A. [The role of the intestinal microbiome in normal and alimentary-dependent diseases]. *Voprosy pitaniya*. V. 90, No 6 (2021): pp. 31-41. (In Russ.). DOI: <http://doi.org/10.33029/0042-8833-2021-90-6-31-41>.
3. Kostjuevich O.I. [The effect of intestinal microflora on human health. From pathogenesis to modern methods of correction of dysbiosis]. *RMŽ*. V. 19, No 5 (2011): pp. 304-308. (In Russ.).
4. Parfenov A.I., Bondarenko V.M. [Regulation of the ratio between normal and pathological intestinal microflora]. *Gastroènterologija. Priloženie k žurnalu Consilium Medicum*. No 2 (2009): pp. 67-70. (In Russ.).
5. Perunova N.B., Ivanova E.V., Buharin O.V. [Microbial regulation of biological properties of human intestinal microsymbiogenesis bacteria]. *Žurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. No 6 (2010): pp. 76-80. (In Russ.).
6. Sitkin S.I., Avalueva E.B., Oreshko L.S., Havkin A.I. [Microbiota and intestinal dysbiosis in celiac disease]. *Rossijskij vestnik perinatologii i pediatrii*. V. 66 No 2 (2021): pp. 116-122. (In Russ.). DOI: [10.21508/1027-4065-2021-66-2-116-122](https://doi.org/10.21508/1027-4065-2021-66-2-116-122).
7. Sturov N.V., Popov S.V., Zhukov V.A. [Modern approaches to correction of intestinal microbiota]. *Medicinskij sovet*. No 4 (2021): pp. 136-143. (In Russ.). DOI: [10.21518/2079-701X-2021-4-136-143](https://doi.org/10.21518/2079-701X-2021-4-136-143).
8. Sheveleva S.A., Kuvaeva I.B., Efimochkina N.R., Markova Ju.M., Prosjannikov M.Ju. [Gut microbiome: from the standard of norm to pathology]. *Voprosy pitaniya*. V. 89, No 4 (2020): pp. 35-51. (In Russ.). DOI: [10.24411/0042-8833-2020-10040](https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10040).
9. Shenderov B.A. [The role of nutrition and intestinal microflora in maintaining nutritional homeostasis in humans]. *Vestnik vosstanovitel'noj mediciny*. No 1(23) (2008): pp. 12-13. (In Russ.).

10. Shenderov B.A. Gut Indigeneous Microbiota and Epigenetics. *Microbial Ecology in Health and Disease*. V. 23, No 1 (2012): p. 1795.

11. Shori A. Influence of food matrix on the viability of probiotic bacteria: A review based on dairy and non-dairy beverages. *Food Bioscience*. V. 13 (2016): pp. 1-8.

12. Venema K., van den Abbeele P. Experimental models of the gut microbiome. *Best Practice & Research in Clinical Gastroenterology*. V. 27, No 1 (2013): pp. 115-126.

Статья поступила в редакцию 08.04.2022; одобрена после рецензирования 23.05.2022; принята к публикации 21.06.2022.

The article was submitted 08.04.2022; approved after reviewing 23.05.2022; accepted for publication 21.06.2022.

Информация об авторах

Н. В. Николаева – канд. биол. наук, доцент;

Е. В. Афанасьевская – канд. мед. наук, доцент;

Э. С. Горовиц – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой;

А. Я. Перевалов – д-р мед. наук, почетный профессор.

Information about the authors

N. V. Nikolaeva – candidate of biology, associate professor;

E. V. Afanasevskaja – candidate of medicine, associate professor;

Je. S. Gorovic – doctor of medicine, professor, head of department;

A. Ja. Perevalov – doctor of medicine, honorary professor.

Вклад авторов:

Николаева Н. В. – написание исходного текста.

Афанасьевская Е. В. – сбор и лабораторный анализ материала; статистическая обработка.

Горовиц Э. С. – научное руководство; концепция исследования; итоговые выводы.

Перевалов А. Я. – доработка текста.

Contribution of the authors:

Nikolaeva N. V. – writing the draft.

Afanasevskaja E. V. – collection and laboratory analysis of the material, statistical processing.

Gorovic Je. S. – scientific management, research concept, conclusions.

Perevalov A. Ja. – follow-on revision of the text.