

ВПЛИВ ЖИВОЇ КУЛЬТУРИ *AEROCOCCUS VIRIDANS* НА ФАКТОРИ ІМУНОЛОГІЧНОЇ РЕАКТИВНОСТІ ОРГАНІЗМУ ЛЮДИНИ *IN VITRO*

¹Дніпропетровська обласна санітарно-епідеміологічна станція,
²Жовтнева районна санітарно-епідеміологічна станція, Дніпропетровськ

Багаторічні дослідження успішного застосування в галузі мікробної екології біопрепаратів, створених з культур лактобактерій, кишкових паличок, біфідобактерій, пропіоновокислих бактерій, аерококів тощо, переконливо показали, що мікрофлора хазяїна відіграє важливу роль у підтримці його здоров'я [1–4].

Мікроорганізми, що складають нормальну мікрофлору людини, мають різноманітні функції, беруть участь у регуляції морфокінетичної діяльності і газового складу кишечника, в метаболізмі протеїнів, вуглеводів, жирів, нуклеїнових кислот, продукують біологічно активні сполуки, детоксикаційно активні й впливають на формування імунного статусу організму людини [5].

Лікування й профілактика післяопераційних інфекційних ускладнень залишається актуальним питанням через те, що їх частота залишається високою (15–35 %), а в 40–60 % випадків вони є причиною післяопераційної летальності. Їх частота корелює з імунодепресією у хворого, а також з об'ємом і типом операції. Традиційна антибактеріальна терапія, що використовується для профілактики й лікування інфекційних ускладнень, не завжди ефективна. У зв'язку з цим застосування імуностимулювальної терапії у хворих хірургічного профілю поряд із загальноприйнятими методами набуває останнім часом більш широкого застосування. Значною мірою це

пов'язано з тим, що в післяопераційному періоді розвивається супресія клітинного, гуморального імунітету, а також факторів неспецифічної резистентності організму. Тривалість післяопераційної імунодепресії становить від 6–7 днів до кількох тижнів, і, як правило, саме у цей час розвиваються післяопераційні інфекційні ускладнення.

Одним із критеріїв оцінки ефективності лікувально-профілактичних препаратів, що застосовуються для боротьби з інфекціями й дисбактеріозами, є їхня здатність впливати на імунний статус організму [3].

Новий лікувально-профілактичний препарат А-бактерин розроблено на кафедрі мікробіології Дніпропетровської медичної академії. Його основу складають мікроби-антагоністи, представники нормальної мікрофлори організму з роду *Aerococcus* — *A. viridans* 167 (17 група, Bergey, 1994).

Метою роботи є вивчення впливу *A. viridans* 167 (виробничий штам А-бактерину) на деякі гуморальні та клітинні ланки імунної системи *in vitro*.

Матеріали та методи дослідження

В експериментальних умовах досліджено дію лікувально-профілактичного препарату А-бактерин на показники імунної системи крові людини *in vitro*.

Об'єктом дослідження служили мононуклеари перифе-

ричної крові 21 пацієнта, до контрольної групи увійшла 21 здорова людина. Для одержання клітинної суспензії венозну кров центрифугували в градієнті щільності фіколу-верографіну ($d=1,077$ г/см). Життєздатність клітин визначалася в тесті із трипановим синім протягом усього експерименту і становила не менше 95 %. Для оцінки експресії рецепторів Т-лімфоцитів при впливі *A. viridans* 167 визначали кількість загальних Е-розеткоутворювальних клітин (Е-РУК) у звичайному тесті з еритроцитами барана і високоавідних або активних Е-РУК, що утворюються в процесі 10-хвилинної інкубації при 37 °С суспензії лімфоцитів і еритроцитів барана, з подальшим центрифугуванням при 16 с⁻¹ протягом 5 хв. Для оцінки експресії рецепторів на В-лімфоцитах визначали кількість Е-РУК з еритроцитами барана, навантаженими антитілами й комплектом. У досліджуваних пробах лімфомасу інкубували разом з 0,05 мл 1 млрд живою культурою *A. viridans* за тих самих умов. У контрольних пробах культуру мікроорганізмів замінено на фізіологічний розчин, забуферений фосфатами (ЗФР) із рН 7,2, у такому ж об'ємі.

Вплив мікроорганізмів *A. viridans* 167 на гуморальну ланку імунної системи визначали шляхом дослідження рівня активності системи комплекменту за 50 % гемолізу. Досліджені проби сироватки крові попередньо інкубували з 0,05 мл лейкоцитарно-лімфоцитарної



Вплив *A. viridans* 167 на експресію T- і B-лімфоцитів

E-РУК		E(акт.)-РУК		E-РУК	
дослід	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль
2		3		4	
55	59	26	24	25	20
68	67	11	10	21	24
56	63	36	30	22	21
75	70	14	18	23	20
50	53	11	16	16	16
49	48	21	23	20	19
49	58	17	19	27	24
64	64	22	20	27	29
51	73	12	16	24	35
60	71	13	21	21	30
43	52	13	17	27	24
57	63	22	25	17	19
44	45	24	36	20	20
45	59	18	27	31	28
43	45	18	24	14	19
50	51	28	24	21	16
64	55	25	28	18	18
51	53	23	30	16	13
55	49	17	16	21	24
68	58	20	19	32	28
61	60	12	16	19	21

суміші і 0,01 мл культури мікроорганізмів на ЗФР протягом 30 хв. У контрольній пробі замість мікроорганізмів використовували ЗФР у такому ж об'ємі. Рівень імуноглобулінів різних класів визначався методом радіальної імунодифузії методом Манчіні.

Оцінку вірогідності розбіжностей отриманих результатів визначали за t-критерієм Стюдента з використанням програми Biostat [6].

Результати дослідження та їх обговорення

Вплив мікроорганізмів *A. viridans* 167 на лімфоцити характеризується розмаїтістю проявів. Отримані результати вказують на індивідуальні відмінності щодо чутливості рецепторів лімфоцитів різних пацієнтів до впливу живої культури (табл. 1).

Під впливом живої культури розеткоутворення у 13 із 21 пацієнта (62 %, дослідна група) вірогідно знизилася у середньому на 12,7 % ($P < 0,05$), а в решті практично не впливала. Відносні кількості E(акт.)-РУК і розетки з еритроцитами, навантаженими антитілами й комплектом, змінювалися незначно порівняно з контрольними пробами. Отже, *A. viridans* істотно не впливала на експресію рецепторів T- і B-лімфоцитів у даному експерименті. Можливо, для запуску рецепторних перебудов на мембранах лімфоцитів необхідна присутність не тільки мононуклеарів, але і поліморфноядерних нейтрофілів і системи опсонінів сироватки крові.

Найважливішими функціональними властивостями імуноглобулінів є їхня здатність ідентифікувати антиген, активувати систему комплементу, взаємодіяти з мембранами різних типів клітин. Результати досліджень рівня імуноглобулінів у сироватці крові в присутності *A. viridans* 167 при спільній експозиції 1 год у тер-

мостаті при 37 °C подано в табл. 2.

Як видно з даних табл. 2, рівень сироваткових імуноглобулінів у дослідних і контрольних зразках істотно не змінювався. Це дозволяє припустити, що в сироватці крові не містяться антитіла до представників нормальної мікрофлори організму, зокрема до *A. viridans*, оскільки вони вступали б у ролі опсонінів мікробної культури. Різне зниження діаметра кілець преципітації в контрольному й дослідному зразках порівняно з вихідною сироваткою крові (цільної) пояснюється високою чутливістю методу до розведення культурою мікроорганізмів і лейкомасою на ЗФР.

До найважливіших гуморальних ефекторних систем організму належить система комплементу. Структура комплементу складна, функції її різноманітні. Продуктантами компонентів комплементу є макрофаги, клітини кісткового

мозку, печінки, тонкої кишки, лімфатичних вузлів тощо. Функціональні дефекти системи комплементу можуть призводити до тяжких рецидивних інфекцій і патологічних станів, зумовлених імунними комплексами. Існує прямий функціональний зв'язок між системою комплементу і фагоцитарною системою, тому що пряме чи опосередковане через антитіла зв'язування компонентів комплементу з бактеріями є необхідною умовою фагоцитозу (опсонізація мікроорганізмів). Комплемент — домінуючий гуморальний компонент реакції запалення, бо його продукти є хемотоксинами й анафілотоксинами, які значною мірою впливають на фагоцити, обмін речовин і систему згортання крові. Крім того, система комплементу включає важливі фактори регуляції імунної відповіді.

Вплив мікроорганізмів роду *A. viridans* на систему комплементу *in vitro* показано в табл. 3.



Вплив *A. viridans* 167 на рівень імуноглобулінів у сироватці крові пацієнтів

Дослідна група						У присутності <i>A. viridans</i>						Контрольна група					
G		A		M		G		A		M		G		A		M	
мм	г/л	мм	г/л	мм	г/л	мм	г/л	мм	г/л	мм	г/л	мм	г/л	мм	г/л	мм	г/л
9,0	9,70	5,5	1,4	5,0	4,8	8,0	6,0	5,0	0,95	4,0	1,19	8,0	6,0	5,0	0,95	4,0	1,19
10,0	15,5	6,3	2,4	6,0	20,0	9,4	11,7	6,0	1,99	5,0	4,8	9,3	11,0	5,9	1,85	5,0	4,8
9,5	12,3	6,3	2,4	5,6	10	9	9,70	6,0	1,99	4,8	3,6	9,0	9,70	6,0	1,99	4,8	3,6
9,1	10,3	4,5	0,7	5,4	6,4	8,5	7,7	4,0	0,49	4,6	2,7	8,5	7,7	4,0	0,49	4,6	2,7
9,5	12,3	6,5	2,8	4,2	1,55	8,9	9,3	6,0	1,99	4,0	1,19	8,9	9,3	6,0	1,99	4,0	1,19
9,1	10,3	5,3	1,2	3,8	0,9	8,1	6,4	1,7	0,8	3,8	0,9	8,3	7,0	4,7	0,8	3,8	0,9
9,3	11,3	4,9	0,93	4,9	4,3	8,5	7,7	4,0	0,49	4,8	3,6	8,5	7,7	4,0	0,49	4,8	3,6
9,3	11,3	6,5	2,8	4,1	1,35	9,0	9,7	5,7	1,6	4,1	1,35	8,9	9,3	5,7	1,6	4,1	1,35
10,0	12,3	8,2	6,4	4,0	1,19	10,0	12,2	7,6	4,2	4,0	1,19	10,0	12,2	7,7	4,5	4,0	1,19
10,0	12,3	8,1	6,0	4,1	1,35	9,6	10,0	7,6	4,2	4,1	1,35	10,0	12,3	7,6	4,2	4,1	1,35
9,9	11,8	5,8	1,2	4,7	3,2	9,1	8,0	5,1	1,1	3,9	1,1	9,1	8,0	5,1	1,1	3,9	1,1
9,3	8,9	6,5	1,9	3,9	1,1	9,0	7,7	6,0	1,4	3,7	0,8	8,9	7,4	6,0	1,4	3,7	0,8
9,9	11,8	5,8	1,2	3,9	1,1	8,9	7,4	5,4	0,9	3,9	1,1	8,9	7,4	5,4	0,9	3,9	1,1
9,5	12,3	6,3	2,4	5,6	10	9	9,70	6,0	1,99	4,8	3,6	9,0	9,70	6,0	1,99	4,8	3,6
9,0	9,70	5,5	1,4	5,0	4,8	8,0	6,0	5,0	0,95	4,0	1,19	8,0	6,0	5,0	0,95	4,0	1,19
9,3	11,3	4,9	0,93	4,9	4,3	8,5	7,7	4,0	0,49	4,8	3,6	8,5	7,7	4,0	0,49	4,8	3,6
10,0	12,3	8,2	6,4	4,0	1,19	10,0	12,2	7,6	4,2	4,0	1,19	10,0	12,2	7,7	4,5	4,0	1,19
9,1	10,3	4,5	0,7	5,4	6,4	8,5	7,7	4,0	0,49	4,6	2,7	8,5	7,7	4,0	0,49	4,6	2,7
9,0	9,70	5,5	1,4	5,0	4,8	8,0	6,0	5,0	0,95	4,0	1,19	8,0	6,0	5,0	0,95	4,0	1,19

Таблиця 3

Вплив *A. viridans* 167 на систему комплементу in vitro

Дози досліджуваної сироватки								Розведення		Активність комплементу в одиницях	
0,1		0,15		0,2		0,25		контр.	дослід.	контр.	дослід.
контр.	дослід.	контр.	дослід.	контр.	дослід.	контр.	дослід.				
0,12	0,115	0,16	0,18	0,2	0,225	0,28	0,29	0,215	0,195	46,5	51,2
0,14	0,135	0,205	0,215	0,235	0,27	0,29	0,33	0,175	0,155	57,1	64,5
0,17	0,165	0,21	0,23	0,265	0,285	0,30	0,31	0,16	0,145	62,5	68,9
0,13	0,125	0,19	0,21	0,285	0,295	0,29	0,32	0,165	0,155	60,6	64,5
0,18	0,2	0,25	0,26	0,3	0,31	0,3	0,32	0,135	0,125	74,0	80,0
0,13	0,16	0,24	0,22	0,3	0,27	0,33	0,35	0,145	0,160	68,9	62,5
0,23	0,21	0,27	0,28	0,32	0,33	0,37	0,35	0,1	0,115	100,0	86,9
0,16	0,1	0,25	0,17	0,3	0,25	0,33	0,33	0,140	0,188	71,4	53,2
0,16	0,2	0,25	0,27	0,3	0,34	0,35	0,37	0,135	0,115	74,0	86,9
0,21	0,22	0,29	0,29	0,33	0,35	0,35	0,36	0,11	0,1	90,9	100,0
0,13	0,14	0,23	0,22	0,27	0,27	0,33	0,35	0,145	0,15	68,9	66,6
0,19	0,2	0,27	0,28	0,32	0,33	0,36	0,37	0,12	0,113	83,3	88,4
0,2	0,22	0,29	0,29	0,34	0,36	0,37	0,37	0,11	0,1	90,9	100,0
0,13	0,125	0,19	0,21	0,285	0,295	0,29	0,32	0,165	0,115	60,6	64,5
0,12	0,115	0,16	0,18	0,2	0,225	0,28	0,29	0,215	0,195	46,5	51,2
0,23	0,23	0,3	0,31	0,33	0,34	0,35	0,37	0,1	0,1	100,0	100,0
0,2	0,23	0,3	0,27	0,34	0,32	0,35	0,36	0,115	0,1	86,9	100,0

Як свідчать результати, активність системи комплементу в присутності *A. viridans* підвищується в більшості випадків несуттєво. Однак різниця між показниками досліджуваної

контролю виявилася не вірогідною. Звідси випливає, що значущих змін рівня активності системи комплементу за даних умов експерименту не відбувається.

Висновки

Отже, мікроорганізми — представники нормальної мікрофлори людини *A. viridans* 167 — в експерименті in vitro



при спільній інкубації не впливають на експресію лімфоцитів периферичної крові, рівень імуноглобулінів й активність компонентів комплементу в культурі клітин.

ЛІТЕРАТУРА

1. Журило А. А. Практическое использование нового биологического препарата А-бактерина // Укр. мед. часопис. — 1997. — № 1. — С. 50-53.
2. А-бактерин в борьбе с гнойно-воспалительными процессами / Г. Н. Кременчужский, С. А. Рыженко, Р. Н. Молчанов, В. И. Чуйко. — Днепропетровск: Пороги, 1999. — 125 с.
3. Рыженко С. А. Новый пробиотик А-бактерин. — Днепропетровск: Пороги, 2001. — 252 с.
4. Влияние комплексного пробиотика споролакта на микробиоценоз кишечника теплокровных / В. В. Смирнов, С. Р. Резник, В. А. Вьюницкая и др. // Микробиол. журнал. — 1995. — № 4. — С. 42-49.
5. Рекомбинантные пробиотики: проблемы и перспективы использования в медицине и ветеринарии / И. Б. Сорокулова, В. А. Белявская, В. И. Масычева, В. В. Смирнов // Вестн. Рос. АМН. — 1997. — № 3. — С. 46-49.
6. Glantz S. A., McGraw Hill; перев. на русск. яз. — М: Практика, 1998.



УДК 616-053.1:612.014.4

С. О. Печеник, З. М. Федоришин,
Н. І. Кіцера, Н. А. Грузинцева

ДИНАМІКА ЧАСТОТИ ПРИРОДЖЕНИХ ВАД РОЗВИТКУ СЕРЕД НОВОНАРОДЖЕНИХ У РЕГІОНІ, ЗАБРУДНЕНОМУ СОЛЯМИ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ І ФТОРУ

Інститут спадкової патології АМН України, Львів

В останні роки вивчення стану здоров'я дітей північно-західного регіону України в зв'язку з погіршенням екологічної ситуації, зокрема забрудненням довкілля солями важких металів, набуло особливої актуальності. Багатократне перевищення гранично допустимих концентрацій талію, кадмію, свинцю обумовило виникнення епідемії алопеції у дітей в м. Чернівці у 1988 і 1991 рр. [1].

У 1995 р. почалося нове екологічне лихо — епідемія гіпоплазії емалі зубів (ГЕЗ) у дітей в м. Соснівка Львівської області, яка в 1996 р. уразила 75 % дитячого населення міста. Саме тут, на території Сокальського району, сконцентровані вугільні шахти Червоноградського басейну та гірничо-збагачувальний комбінат. На думку спеціалістів, ця екологічна патологія обумовлена надмірним надходженням в організм дитини фтору та деяких солей важких металів — свинцю, ртуті, кадмію [2]. Вплив малих доз цих солей на організм дитини, їх тератогенні та мутагенні ефекти вивчено недостатньо. Відомо, що введення в організм солей фтору сприяє підвищенню рівня глюкози й лактози в крові, пригнічує процеси окислення жир-

них кислот, тканинного дихання, призводить до інтенсифікації окислення ліпідів, зумовлюючи дестабілізацію клітинних мембран [3].

Важливим аспектом залишається дослідження тератогенних ефектів і можливих генетичних наслідків забруднення довкілля: впливу його на ембріогенез, виникнення вад розвитку, спадкових захворювань. За сучасними поглядами, до 50 % природженої патології виникає внаслідок тератогенезу, тобто свідчить про несприятливу дію на вагітну жінку факторів природного та соціального середовища [4]. Частота природженої патології за останні 8 років у середньому дорівнювала 267 на 10 000 новонароджених. Природжені вади розвитку посідають чільні місця у структурі причин захворюваності та смертності дітей до одного року життя. В зв'язку з поширенням у довкіллі генотоксикантів у значних концентраціях є підстави вважати, що вони можуть робити істотний внесок у формування природженої патології [5].

Динаміка частоти природжених вад розвитку (ПВР) — один із показників екологічного неблагополуччя. Оцінюючи її, слід, однак, враховувати й багато інших факторів: деякі

