

**СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНА ОРГАНІЗАЦІЯ
ЛІМФОЇДНОЇ ПОПУЛЯЦІЇ ТИМУСА: ДОСВІД
ЗАСТОСУВАННЯ МАТЕМАТИЧНОГО
КЛАСИФІКАЦІЙНОГО АНАЛІЗУ**

*A.V. Abramov, A.M. Kamishny, V.A. Lubomirskaya,
Yu.M. Kolesnik*

Резюме. За допомогою автоматичного, морфометричного і класифікаційного аналізу лімфоїдної популяції тимусу шурів лінії Вістар виділені статистично стійкі математичні критерії, які характеризують окремі класи нормальних і дегенеруючих лімфоцитів.

Ключові слова: тимус, класифікаційний аналіз.

**STRUCTURAL AND FUNCTIONAL ORGANIZATION
OF THYMUS LYMPHOID POPULATION: EXPERIENCE
OF USING THE MATHEMATICAL CLASSIFICATION
ANALYSIS**

*A.V. Abramov, A.M. Kamishny, V.A. Lubomirskaya,
Yu.M. Kolesnik*

Abstract. The statistically stable mathematical criteria, characterizing individual classes of normal and degenerative lymphocytes, have been isolated by means of automatic, morphometric, densitometric and classification analysis of thymus lymphoid population of the Wistar rats.

Key words: thymus, mathematical classification analysis.

Zaporozhye State Medical University

Clin. and experim. pathol. 2002. Vol. I, №1. - P.5-9.

Надійшла до редакції 23.07.2002

УДК 616.34–008.87–06:547.461.2

**Л.В. Дячинина
І.Й. Сидорчук**

Буковинська державна медична
академія, м. Чернівці

**ЗМІНИ МУКОЗНОЇ МІКРОФЛОРИ
ТОНКОЇ КІШКИ БІЛИХ ЩУРІВ
ЗА ДІЇ ОКСАЛАТУ КОБАЛЬТУ**

Ключові слова: нормальна мікрофлора, слизова оболонка, тонка кишка, оксалат кобальту.

Резюме. Вивчено видовий склад і популяційний рівень автохтонних облігатних та алохтонних факультативних представників мікрофлори слизової оболонки тонкої кишки за дії оксалату кобальту. Доза 5,0 мг/кг при внутрішньошлунковому введенні не порушує колонізаційної резистентності біотопу. Дози 10,0 мг/кг та 50 мг/кг призводять до зниження популяційного рівня, екологічних показників у автохтонних облігатних бактерій та їх зростання в алохтонних мікроорганізмів – клостридій, ентеробактерій (протеїв, гафній, едвардсіє) та стафілококів. Популяційний рівень та екологічні показники бактероїдів та ешерихій при цьому не змінюються.

Вступ

Серед досягнень останніх років у галузі вивчення нормальної мікрофлори слід назвати результати, що характеризують високу стабільність, індивідуальну та анатомічну специфічність видового складу та популяційного рівня мікрофлори в певних екологічних біологічних нішах [1, 10]. У природних умовах значна більшість мікроорганізмів перебуває у вигляді фіксованих до різних поверхонь мікроколоній, які разом із продуктами епітеліальних клітин створюють біологічну плівку (глікокалікс), що формує колонізаційну резистентність слизової оболонки [2, 11]. Використання цитостатичних та імунодепресивних препаратів, інтенсивна етотропна терапія, радіаційне опромінення та інші фактори, призводять до порушень колонізаційної резистентності та формування дисбактеріозів [3, 5, 7, 9].

МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ

Вивчити видовий склад та популяційний рівень мікрофлори слизової оболонки тонкої кишки за дії різних доз оксалату кобальту при його внутрішньошлунковому введенні.

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ

Експерименти проведено на 53 білих безпоро дних щурах обох статей масою 0,15–0,18 кг. Тварини контрольної групи (n=32) отримували розчин крохмалю в об'ємі 1,0 мл. Дослідним тваринам (n=21) металевим зондом внутрішньошлунково вводили 50, 10, 5 мг/кг (1/100, 1/500, 1/1000 DL₅₀) оксалату кобальту в 1 мл розчину крохмалю.

Для мікробіологічного дослідження забирали відрізок 1,5 см клубової кишки, пінцетом видавлювали вміст і розрізали вздовж кишку стерильними

ножицями. Отримані пасма після обробки зважували та гомогенізували. Із гомогенату готували серію десятикратних розведень (10^{-2} – 10^{-12}) у стерильному ізотонічному розчині натрію хлориду. Із кожного розведення робили висіви мірних об'ємів (0,1 мл) на оптимальні живильні середовища та інкубували. Ідентифікацію виділених культур проводили за морфологічними, тинктуральними, культуральними і біохімічними властивостями [8]. Екологічний стан мікробіоценозу оцінювали за індексом сталості (С%), показниками частоти виявлення (Р₁), значущості (С) та кількісного домінування (КД) [4]. Статистичну обробку результатів дослідження здійснювали загальновизнаними методами варіаційної статистики із застосуванням t-критерію достовірності відмінностей Стьюента за спеціальною програмою [6].

ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

На основі проведених досліджень (табл. 1) мікрофлора слизової оболонки тонкої кишки тварин

контрольної групи представлена бактерідами, лактобактеріями, ешерихіями, біфідобактеріями та ентерококами, другорядними з еубактерії. Доза 5 мг/кг оксалату кобальту призводить до незначних змін видового складу мукозної мікрофлори цього біотопу. У 3-х із 7-ми тварин настало контамінація та колонізація слизової оболонки стафілококами та протеями. Екологічні показники автохтонних облігатних мікроорганізмів, які забезпечують колонізаційну резистентність залишалися незмінними.

Дози 10–50 мг/кг призводять до зниження екологічних показників автохтонних мікроорганізмів (біфідобактерій, лактобактерій, ентерококів), а також до контамінації та колонізації слизової оболонки тонкої кишки алохтонними умовно патогенними ентеробактеріями (протеями, гафніями, едвардсіелами), клостридіями та стафілококами.

Таблиця 1

Видовий склад мікрофлори слизової оболонки тонкої кишки за дії оксалату кобальту

Мікроорганізми	Екологічні показники	Контроль (n=32)	Основні групи (по 7 тварин)		
			Доза оксалату кобальту (мг/кг)		
			5,0	10,0	50,0
<i>I. Анаеробні бактерії</i>					
Бактеріди	n C % P ₁	32 100,0 0,18	7 100,0 0,16	7 100,0 0,14	7 100,0 0,13
Біфідобактерії	n C % P ₁	30 63,75 0,17	7 100 0,16	7 100 0,14	3 42,86 0,05
Лактобактерії	n C % P ₁	32 100,0 0,18	32 100,0 0,16	32 100,0 0,14	4 57,14 0,07
Еубактерії	n C % P ₁	8 25,0 0,04	2 28,57 0,05	3 42,86 0,06	5 71,43 0,09
Клостридії	n C % P ₁	0 0 0	0 0 0	3 42,86 0,06	7 100,0 0,13
<i>II. Аеробні бактерії</i>					
Ешерихії	n C % P ₁	32 100,0 0,18	7 100,0 0,16	7 100,0 0,14	7 100,0 0,13
Протеї	n C % P ₁	0 0 0	2 28,57 0,05	3 42,86 0,06	6 85,71 0,11
Гафнії	n C % P ₁	0 0 0	0 0 0	1 14,29 0,02	0 0 0
Едвардсіели	n C % P ₁	0 0 0	0 0 0	0 0 0	3 42,86 0,05
Ентерококи	n C % P ₁	27 84,38 0,16	6 85,71 0,14	5 71,43 0,10	2 28,57 0,04
Стафілококи	n C % P ₁	0 0 0	3 42,86 0,07	4 57,14 0,08	7 100,0 0,13

Примітка. n – кількість тварин, С % – індекс сталості, P₁ – показник частоти виявлення.

Результати вивчення популяційного рівня та екологічних показників мікрофлори даного біотопу наведено в таблиці 2.

За популяційним рівнем та екологічними показниками провідна роль у формуванні колонізаційної резистентності слизової оболонки тонкої кишки в інтактних тварин належить бактероїдам, лактобактеріям, ешерихіям, ентерококам, біфідобактеріям. Інші мікроорганізми мають другорядне значення.

Оксалат кобальту в дозі 5 мг/кг не впливає на популяційний рівень та екологічні показники автохтонних облігатних мікроорганізмів. Водночас відбувається контамінація та колонізація стафілококами і протеями, знижується роль еубактерій та ентерококів. Збільшення дози ксенобіотика (10 мг/кг) призводить до зменшення популяційного рівня та екологічних показників біфідобактерій, лактобактерій, еубактерій та ентерококів.

Залишаються незмінними популяційний рівень та екологічні показники у бактероїдів та ешерихій. На цьому тлі нами спостерігалася контамінація та колонізація слизової оболонки стафілококами, ентеробактеріями (протеями, гафніями) та клостиридіями у помірному популяційному рівні. Аналогічні зміни відбувалися після введення максимальної дози (50 мг/кг) оксалату кобальту.

Висновки

1. Колонізаційна резистентність слизової оболонки тонкої кишки формується за рахунок колонізації її автохтонними облігатними представниками кишкової мікрофлори – бактероїдами, біфідобактеріями, лактобактеріями, ешерихіями та ентерококами.

2. Оксалат кобальту в дозі 5 мг/кг не порушує колонізаційної резистентності даного біотопу.

Таблиця 2

Популяційний рівень мікрофлори слизової оболонки тонкої кишки за дії оксалату кобальту ($M \pm m$)

Мікроорганізми	Екологічні показники	Контроль (n=32)	Основні групи (по 7 тварин)		
			Доза оксалату кобальту (мг/кг)		
			5,0	10,0	50,0
I. Аераобні бактерії					
Бактероїди	$M \pm m$	7,41±0,21	7,27±0,31	6,93±0,22	7,57±0,24
	С	19,91	22,03	19,40	18,60
	КД	110,60	137,69	138,60	143,10
Біфідобактерії	$M \pm m$	5,60±0,17	5,21±0,43	3,77±0,32***	3,09±0,29***
	С	14,21	15,79	10,56	2,92
	КД	78,36	98,67	75,40	25,04
Лактобактерії	$M \pm m$	7,01±0,61	6,43±0,35	4,49±0,33	3,11±0,18
	С	18,83	19,48	12,57	4,12
	КД	104,63	121,78	89,80	33,59
Еубактерії	$M \pm m$	6,49±0,29	3,77±0,34***	3,29±0,31***	3,49±0,31
	С	4,84	3,57	3,95	5,94
	КД	24,22	20,40	28,20	47,12
Клостиридиї	$M \pm m$	0	0	4,18±0,37***	5,93±0,43***
	С	0	0	5,02	14,57
	КД	0	0	35,83	112,10
II. Аеробні бактерії					
Ешерихії	$M \pm m$	6,90±0,27	7,03±0,33	6,98±0,44	6,93±0,49
	С	18,54	21,30	16,54	17,03
	КД	102,99	133,14	139,60	131,0
Протеї	$M \pm m$	0	3,17±0,24***	4,78±0,35***	5,89±0,38***
	С	0	3,0	5,74	12,25
	КД	0	17,15	40,97	95,43
Гафнії	$M \pm m$	0	0	4,49	0
	С	0	0	1,80	0
	КД	0	0	12,83	0
Едвардсієли	$M \pm m$	0	0	0	5,47±0,24**
	С	0	0	0	5,17
	КД	0	0	0	44,32
Ентерококи	$M \pm m$	6,34±0,31	4,37±0,38***	4,11±0,31**	3,31±0,18**
	С	15,14	11,59	8,22	2,50
	КД	79,85	70,94	58,72	17,88
Стафілококи	$M \pm m$	0	3,07±0,11***	4,93±0,22***	6,11±0,26**
	С	0	4,07	7,89	15,02
	КД	0	24,92	56,34	115,50

Примітка. С-показник значущості, КД-коефіцієнт кількісного домінування, вірогідність між вказаними групами * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ (наведено тільки статистично вірогідні відмінності).

3. Порушення видового складу, популяційного рівня та екологічних показників нормальної мікрофлори слизової оболонки кишечнику настають за дії дози 10 мг/кг оксалату кобальту і посилюються при збільшенні його до 50 мг/кг.

Література. 1. Бондаренко В.М., Боев Б.В., Лыкова Е.А., Воробьев А.А. Дисбактериозы желудочно-кишечного тракта // Рос. ж. гастроenterол., гепатол., колопроктол. – 1998. – №1. – С.66–70. 2. Горская Е.М., Ленцнер Х.И., Ленцнер А.А. и др. Адгезивные свойства бактерий кишечного происхождения // Ж. микробиол., эпидемiol. и иммунобиол. – 1991. – №10. – С.5–8. 3. Дронова А.М. Дисбактериозы у онкологических больных // Антибиотики и микробиология человека и животных, Москва. – 1988. – С. 40–44. 4. Климинюк С.І. Мікробна екологія шкіри людини в різні вікові періоди в нормі та при патології: Автoref. дис... д.мед.н. / 03.00.07. – мікробіологія. – Київ, 1995. – 47 с. 5. Коршунов В.М., Ильченко А.А., Дугашева Л.В. и др. Влияние ципрофлоксацина на микрофлору желудочно-кишечного тракта // Ж. микробиол., спидемiol. и иммунобиол. – 1991. – №5. – С.14–15. 6. Лакин Г.Ф. Биометрия. 4-е изд., перераб. и доп. – М.: Высш. школа, 1990. – 351 с. 7. Лызько Н.Н. Дисбактериозы экстремальных ситуаций // Антибиотики и мед. биотехнол. – 1997. – №3. – С.184–186. 8. Определитель бактерий Берджи. В 2-х т./Пер. с англ. Под ред. Дж. Хочата, И. Крига. П. Симса и др. 9-е изд. – М.: Мир, 1997. – 800 с. 9. Тихонова О.Н., Оберст А.С., Вишокуров Ю.И. Влияние факторов внешней среды на частоту и выраженность дисбактериоза кишечника у детей раннего возраста // Педиатрия. – 1995. – №5. – С.61–62. 10. Шендеров Б.Л. Нормальная микрофлора и ее роль в поддержании здоровья человека // Рос. ж. гастроenterол., гепатол., колопроктол. – 1998. – №1. – С.61–65. 11. Hayle B.D., Joss J., Costerton J.W. The biofilm glycocalyx as a resistant factor // J. Antimicrob. Chemother. – 1998. – V.26, №1. – P.1–6.

ИЗМЕНЕНИЯ МУКОЗНОЙ МИКРОФЛОРЫ ТОНКОЙ КИШКИ БЕЛЫХ КРЫС ПОД ВЛИЯНИЕМ ОКСАЛАТА КОБАЛЬТА

Л.В. Диачишина, И.Й. Сидорчук

Резюме. Изучен видовой состав и популяционный уровень аутохтонных obligатных и алохтонных факультативных представителей микрофлоры слизистой оболочки тонкой кишки под влиянием оксалата кобальта. Доза 5,0 мг/кг при внутрижелудочном введении не нарушает колонизационной резистентности биотопа. Дозы 10,0 мг/кг и 50,0 мг/кг приводят к снижению популяционного уровня и экологических показателей аутохтонных obligатных бактерий и их возрастанию у алохтонных микроорганизмов – клостридий, enterобактерий (протеи, гафиий, эдуардсиеллы) и стафилококков. Популяционный уровень и экологические показатели бактероидов и эшерихий при этом не изменяются.

Ключевые слова: нормальная микрофлора, слизистая оболочка, тонкая кишка, оксалат кобальта.

CHANGES OF THE MUCOUS MICROFLORA OF THE SMALL INTESTINE ALBINO RATS UNDER THE INFLUENCE OF COBALT OXALATE

L.V. Diachyshyna, I.Y. Sydorchuk

Abstract. We studied the specific composition and population level of autochthonous obligate and allochthonous facultative representatives of the microflora of the mucous membrane of the small intestine under the influence of cobalt oxalate. The dose of 5,0 mg/kg does not impair the colonization resistance of the intestinal mucous membrane after per os administration. The doses of 10,0 mg/kg and 50 mg/kg result in a decrease of the population level, ecologic indices in autochthonous obligate bacteria and their increase of allochthonous microorganisms – clostridia, enterobacteria (protei, gafnii, edwardsielli) and staphylococci. The population level and ecologic indices of bacteroids and Escherichiae do not change.

Key words: normal microflora, mucous membrane of the small intestine, glycocalyx, cobalt oxalate.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol. – 2002. – Vol. 1, №1. – P.9–12.

Надійшла до редакції 06.03.2002