

ВЛИЯНИЕ ЛИКОПИДА НА ПРОЯВЛЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ESCHERICHIA COLI ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ НА ФОНЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ МАГНИТНОГО ПОЛЯ ПОВЫШЕННОЙ НАПРЯЖЕННОСТИ

Неман М. А., Калуцкий П. В.

ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, Россия (305041, Курск, ул. К. Маркса, 3), e-mail: pvk62@mail.ru

Изучено влияния иммуномодулятора ликопида на структуру популяций кишечных палочек по признакам вирулентности (гемолитическая, фибринолитическая, лизоцимная активность) и персистенции (антилизозимная и антикомплементарная активность) при развитии экспериментальной инфекции в условиях длительного непрерывного воздействия магнитного поля повышенной напряженности, сопоставимого с геомагнитным полем региона Курской магнитной аномалии. Установлено, что применение с целью иммунокоррекции ликопида приводит к снижению тяжести течения инфекционного процесса, проявлявшееся в менее выраженной обсемененности ткани селезенки, сопровождается элиминацией из состава популяции возбудителя клеток, обладающих факторами вирулентности. При этом наблюдается увеличение гетерогенности популяции *Escherichia coli* по таким признакам персистенции, как антилизозимная и антикомплементарная активность, что позволяет трактовать это как уменьшение способности к ее персистенции в организме животного.

Ключевые слова: кишечная палочка, гетерогенность популяций, факторы вирулентности и персистенции, экспериментальная инфекция, аномальное магнитное поле, ликопид.

INFLUENCE A LIKOPID ON MANIFESTATIONS OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF ESCHERICHIA COLI AT AN EXPERIMENTAL INFECTION AGAINST INFLUENCE OF A MAGNETIC FIELD OF THE INCREASED INTENSITY

Neman M. A., Kalutsky P. V.

Kursk State Medical University, Kursk, Russia (305041, Kursk, street K.Marx, 3), e-mail: pvk62@mail.ru

It is studied immunomodulator influences likopid on structure of populations of *Escherichia coli* on virulence signs (haemolytic, fibrinolytic, lysozyme activity) and persistence (antilysozyme and anticomplement activity) at development of an experimental infection in the conditions of the long continuous influence of a magnetic field of the increased intensity comparable to a geomagnetic field of the region of Kursk magnetic anomaly. It is established that application for the purpose of immuno-correction likopid leads to decrease in weight of a course of the infectious process, shown in less expressed amount of microorganisms on the spleen, is accompanied by an elimination from structure of population of the activator of the cages possessing factors of a virulence. The increase in heterogeneity of population of *Escherichia coli* on such signs of a persistence as antilysozyme and anticomplement activity allows to treat it as reduction of ability to its persistence in an organism of an animal is thus observed.

Keywords: *Escherichia coli*, heterogeneity of populations, factors of virulence and persistence, an experimental infection, an abnormal magnetic field, likopid.

Введение

Микробные популяции отличаются своей многочисленностью, когда в одном биотопе находится одновременно миллиарды особей, составляющих генотипически и фенотипически неоднородную популяцию. В литературе неоднократно высказывалось мнение о том, что исходная гетерогенность популяций возбудителей по биологическим признакам оказывает существенное влияние на возникновение, течение и исход инфекционных заболеваний [4, 7, 9 и др.]. Работами ряда исследователей установлено, что микроорганизмы чувствительны к геомагнитному полю, очень тонко реагируют на любые изменения как магнитного поля в целом, так и его составляющих, что свидетельствует об их высокой и неодинаковой магниточувствительности

[3, 6, 10]. В работах по изучению длительного воздействия магнитного поля повышенной напряженности, моделирующего аномальное геомагнитное поле региона Курской магнитной аномалии (уровень напряженности поля в 4–5 раз превышает фоновые значения для других регионов), было продемонстрировано, что характер изменения биологических свойств сальмонелл зависит от уровня напряженности магнитного поля [1]. В опубликованных нами результатах исследований показано, что развитие инфекционного процесса у лабораторных животных в условиях длительного непрерывного влияния магнитного поля повышенной напряженности сопровождается отбором клеток кишечной палочки, обладающих повышенной вирулентностью [5]. Поскольку инфекционный процесс представляет собой взаимодействие микроорганизма с макроорганизмом, то можно предположить, что воздействие на иммунную систему хозяина способно изменить направленность и характер отбора клеток в составе популяции возбудителя.

Цель исследования

Изучить изменения структуры популяции кишечной палочки при внутрибрюшинном заражении мышей, подвергнутых длительному воздействию магнитного поля повышенной напряженности, в условиях применения ликопида.

Материал и методы исследования

Для моделирования воздействия аномального геомагнитного поля региона Курской магнитной аномалии использовалась установка, состоящая из высокостабилизированного источника постоянного тока и колец Гельмгольца с радиусом 1,5 м. Внутри колец создавалось постоянное магнитное поле с индукцией 3×10^{-4} Тл, вектор которого находился в суперпозиции с вертикальной составляющей вектора геомагнитного поля. Лабораторные животные (мыши СВАхС57ВL6) помещались в магнитное поле за 2 недели до начала эксперимента с целью адаптации к условиям среды обитания. Экспериментальная инфекция воспроизводилась путем внутрибрюшинного введения животным взвеси суточной агаровой культуры *Escherichiacoli* в объеме 0,5 мл. С целью изучения влияния ликопида на биологические свойства кишечной палочки экспериментальным животным с 1-го дня заражения ежедневно внутривентрикулярно через зонд 1 раз в день в первой половине дня вводили препарат в жидкой форме. Доза препарата рассчитывалась по стандартным схемам, описанным в рекомендациях, на единицу массы тела животного.

Вскрытие мышей производили спустя 1, 3, 7 и 14 суток после заражения после вывода из эксперимента путем дислокации шейных позвонков. После этого извлекали селезенку, которую взвешивали и гомогенизировали в асептических условиях с добавлением 1 мл изотонического раствора NaCl. Полученную суспензию и ее разведения 1:10 и 1:100 в количестве 0,1 мл высевали на чашки Петри со средой Эндо для выделения популяций кишечной палочки и определения обсемененности ткани почки. В дальнейшем у выросших культур *E.coli* определяли структуру популяций (100–150 клонов) по выраженности биологических свойств, связанных с виру-

лентностью и персистенцией. Для этого изучали гемолитическую, фибринолитическую, лизоцимную, антилизоцимную и антикомплементарную активности клонов популяции. Определение гемолитической активности проводилось на чашках с мясо-пептонным агаром, содержащих 3 % взвеси эритроцитов барана. Изучение фибринолитической активности проводили по усовершенствованному методу Кристи [8]. Определение лизоцимной, антилизоцимной и антикомплементарной активностей проводили по О. В. Бухарину [2].

В качестве контроля использовали данные, полученные на животных, пребывавших при аномальных значениях магнитного поля и не получавших ликопид.

Статистическую обработку и анализ данных проводили с помощью пакета программ MicrosoftOfficeExcel 2007 для Windows 7.

Результаты исследования и их обсуждение

Изучение биологических свойств популяций кишечной палочки, выделенных от экспериментальных животных, показало, что в условиях воздействия аномального магнитного поля с развитием патологического процесса популяция возбудителя становилась более однородной по гемолитической активности – процент гемолитически активных клеток возрастал с $58,0 \pm 2,1$ % в исходной культуре до $77,6 \pm 1,7$ – $78,8 \pm 1,2$ % на 7–14 сутки эксперимента (рис. 1). Достоверная разница в структуре популяций по фибринолитической активности по отношению к исходной культуре отмечалась уже на 7-е сутки инфекционного процесса. Что касается лизоцимной и антилизоцимной активности, то в динамике инфекционного процесса статистически значимых изменений их значений не зарегистрировано.

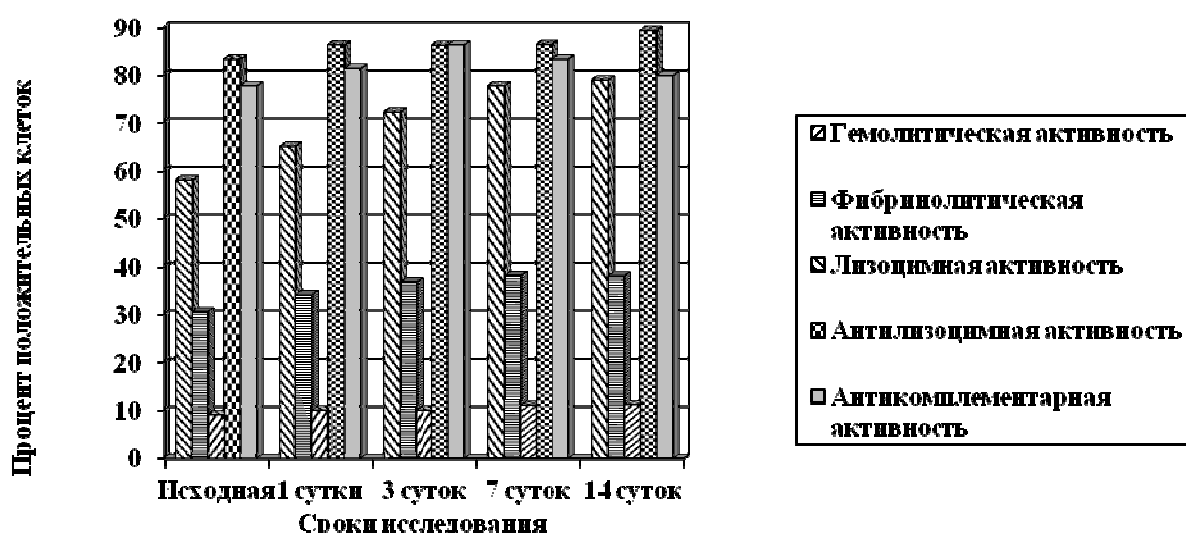


Рисунок 1. Структура популяций *E. coli*, выделенных от инфицированных мышей, находившихся в условиях аномального магнитного поля

Изучение микробной обсемененности ткани селезенки показало, что развитие инфекционного процесса в организме мышей в условиях воздействия аномального магнитного поля сопровождалось увеличением показателя к 7-м суткам и в дальнейшем статистически не изменялось (табл. 1).

Таблица 1

Обсемененность селезенки мышей в динамике инфекционного процесса, вызванного кишечной палочкой

Условия проведения эксперимента	Обсемененность по срокам исследования, м.т./мг			
	1 сутки	3 сутки	7 сутки	14 сутки
Искусственное магнитное поле без ликопида	61,0±7,0	1217,0±97,0 ¹	2107,0±267,0 ¹	1712,0±301,0
Искусственное магнитное поле с ликопидом	76,0±8,0	878,0±26,0 ^{1,2}	586,0±35,0 ^{1,2}	379,0±20,0 ^{1,2}

Примечание. Цифрами надстрочного индекса обозначены: 1 – достоверность различий показателей по отношению к значениям предшествующих суток эксперимента; 2 – достоверность различий показателей по отношению к группе сравнения (искусственное магнитное поле без ликопида).

При использовании ликопида у мышей, подвергавшихся длительному воздействию аномального магнитного поля, процент гемолитически активных клеток нарастал к 3-м суткам эксперимента, после чего отмечалось снижение показателя (рис. 2). Такая же динамика отмечалась и в отношении фибринолитической и лизоцимной активности, но изменения в структуре популяции были не столь выражены. Что касается антилизоцимной и антикомплементарной активности, то в отличие от возбудителей, выделенных от мышей, не получавших ликопид, к концу опыта популяция кишечных палочек становилась более гетерогенной по этим признакам. Кроме того, сопоставление данных, полученных от обеих групп лабораторных животных, показало, что в составе популяций *E. coli* после применения ликопида количество клеток, обладающих данными характеристиками, было ниже, чем без иммуномодулятора.

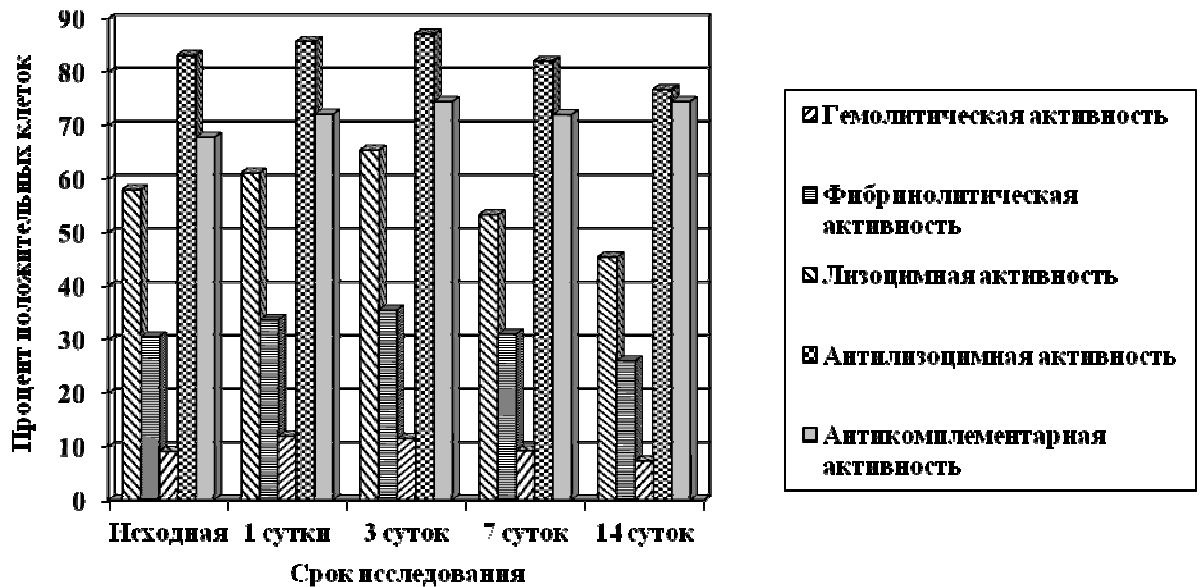


Рисунок 2. Структура популяций E. coli, выделенных от мышей с экспериментальной инфекцией, находившихся в условиях аномального магнитного поля и получавших ликопид

Что касается обсемененности селезенки животных, то она была наибольшей на 3-и сутки эксперимента и в дальнейшем постепенно снижалась. При этом на всем сроке опыта, за исключением 1-х суток, ее показатели были достоверно ниже значений группы сравнения.

Заключение

Проведенные эксперименты позволяют сделать заключение о том, что использование ликопида в условиях развития экспериментальной инфекции, вызванной кишечной палочкой, у животных, подвергавшихся длительному воздействию аномального магнитного поля, сопоставимого с геомагнитным полем региона Курской магнитной аномалии, выявило его значительную эффективность. Использование иммуномодулятора привело к уменьшению в составе популяции возбудителя клеток, обладающих факторами вирулентности, что характеризовалось снижением тяжести течения инфекционного процесса, проявлявшейся в менее выраженной обсемененности ткани селезенки. Кроме того, увеличение гетерогенности популяции возбудителя по таким признакам персистенции, как антилизозимная и антикомплементарная активность, позволяет трактовать это как уменьшение способности к его персистенции в организме животного.

Таким образом, при применении иммуномодулирующей терапии в составе популяции кишечной палочки происходит ее перестройка, направленная на адаптацию возбудителя к из-

менившимся условиям среды обитания, что позволяет снизить негативное воздействие такого важного фактора, как магнитное поле повышенной напряженности.

Список литературы

1. Биофизические и медико-биологические аспекты магнитобиологии / В. В. Бельский, М. П. Попов, П. В. Калуцкий, В. В. Киселева. Курск, 1997. 147 с.
2. Бухарин О. В. Персистенция патогенных бактерий. М.: Медицина, 1999. 368 с.
3. Гранстрем К. О., Калуцкий П. В. Экспериментальное изучение магниточувствительности микроорганизмов // Респ. науч.-практ. конф. «Медицинская магнитобиология – практическому здравоохранению». Новосибирск, 1991. С. 25.
4. Михайлов И. Ф., Юдицкая Н. М. Об альтернативном проявлении вирулентности *Sh. sonnei* // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 1972. № 2. С. 27-30.
5. Неман М. А., Калуцкий П. В. Изменение структуры популяции кишечной палочки при развитии инфекционного процесса в условиях воздействия магнитного поля повышенной напряженности // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». 2012. № 1. С. 29-33.
6. Павлович С. А. Магниточувствительность и магнитовосприимчивость микроорганизмов. Минск: Беларусь, 1981. 172 с.
7. Проявление генотипической и фенотипической неоднородности популяций шигеллзонне и людей на разных фазах развития эпидемического процесса / М. И. Шапиро, Н. С. Нечаева, А. А. Дегтярев [и др.] // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 1986. № 11. С. 42–46.
8. Смирнова А. М., Трояшкин А. А., Падерина Е. М. Микробиология и профилактика стафилококковых инфекций. Л.: Медицина, 1977. 216 с.
9. Шаталова Е. В., Бельский В. В. Смешанные инфекции ожоговой травмы. Курск, 1998. 92 с.
10. King I. W. Weather and earth's magnetic fields // Nature. 1984. Vol. 247, № 1. P. 131-134.

Рецензенты:

Провоторов Владимир Яковлевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой инфекционных болезней ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России, г. Курск.

Шаталова Елена Васильевна, доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России, г. Курск.