

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

июнь

2009 3(28)

- CLINICAL CHEMISTRY, 2006; 56:1:5–18 с
- Качество медицинской помощи
- Молекулярная медицина
- Лабораторная диагностика в микробиологии
- Лабораторные аспекты клинической медицины
- Семинары по клинической лабораторной диагностике для практикующих врачей



С Днем медицинского работника!



КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЙ
ЖУРНАЛ

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Афанасьев Борис Владимирович,
зав. кафедрой гематологии, трансфузиологии
и трансплантации СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова,
директор Института детской гематологии и трансплантации
им. Р. М. Горбачевой, д. м. н., профессор

Гуревич Виктор Савельевич,
руководитель Центра атеросклероза и нарушений
липидного обмена СПбГМА им. И. И. Мечникова,
д. м. н., профессор

Дюк Вячеслав Анатольевич,
ведущий научный сотрудник Санкт-Петербургского
института информатики и автоматизации РАН, д. т. н.

Зыбина Наталия Николаевна,
начальник НИО клинико-биохимических
исследований Всероссийского центра экстренной
и радиационной медицины МЧС,
д. б. н., профессор (заместитель главного редактора)

Карпищенко Анатолий Иванович,
заведующий городским организационно-методическим
и контрольным отделом по лабораторной диагностике
и метрологии СПб ГУЗ МИАЦ Комитета
по здравоохранению правительства СПб, д. м. н., профессор

Петришев Николай Николаевич,
профессор кафедры патофизиологии
СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова, з. д. н. РФ,
академик МАНВШ, академик РАЕН, д. м. н., профессор

Сухоруков Владимир Сергеевич,
руководитель НИЛ общей патологии НИИ педиатрии
и детской хирургии РАМН, главный специалист
по лабораторной диагностике в педиатрии, д. м. н.,
профессор (заместитель главного редактора)

Теш Виктор Вениаминович,
зав. кафедрой микробиологии, вирусологии
и иммунологии СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова,
академик РАЕН, д. м. н., профессор

Шляхто Евгений Владимирович,
директор ФГУ «Федеральный центр сердца, крови
и эндокринологии им. В. А. Алмазова», заведующий
кафедрой факультетской терапии СПбГМУ
им. акад. И. П. Павлова, главный кардиолог
Санкт-Петербурга и Северо-Западного федерального
округа, вице-президент Всероссийского научного
общества кардиологов, президент Российской
антигипертензивной лиги,
председатель Санкт-Петербургского научного
общества кардиологов им. Г. Ф. Ланга, член-корр. РАМН,
з. д. н. РФ, д. м. н., профессор

Эмануэль Владимир Леонидович,
заведующий кафедрой клинической лабораторной
диагностики с курсом молекулярной медицины
СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова,
д. м. н., профессор (главный редактор)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Вавилова Татьяна Владимировна,
профессор кафедры госпитальной терапии СПбГМА
им. И. И. Мечникова, д. м. н.

Каллнер Андерш,
профессор кафедры клинической химии Каролинского
госпиталя, Стокгольм, Швеция, член бюро Международного
союза чистой и прикладной химии, д. м. н., профессор

Козлов Антон Владимирович,
зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики
СПбМАПО, д. м. н., профессор

Корякин Виктор Анатольевич,
зав. кафедрой анестезиологии, реаниматологии
и интенсивной терапии СПбГМУ
им. акад. И. П. Павлова, д. м. н., профессор

Мазуров Вадим Иванович,
зав. кафедрой терапии №1 им. Э. Э. Эйхвальда СПбМАПО,
член-корр. РАМН, з. д. н. РФ, д. м. н., профессор

Меньшиков Вадим Владимирович,
руководитель научно-методического центра
по лабораторной диагностике МЗ РФ,
член-корр. РАЕН, з. д. н. РФ, д. м. н., профессор

Новик Виктор Иванович,
зав. лабораторией цитологии НИИ онкологии
им. проф. М. Н. Петрова МЗ РФ,
член Международной академии цитологии, д. м. н.

Рыбакова Маргарита Григорьевна,
зав. кафедрой патологической анатомии СПбГМУ
им. акад. И. П. Павлова, д. м. н., профессор

Сапрыгин Дмитрий Борисович,
президент Российской ассоциации медицинской
лабораторной диагностики, д. м. н., профессор

Сельков Сергей Алексеевич,
руководитель лаборатории иммунологии
НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта РАМН,
член-корр. РАЕН, д. м. н., профессор

Смирнов Алексей Владимирович,
зав. кафедрой пропедевтики внутренних болезней
СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова, директор НИИ
нефрологии СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова,
вице-президент Всероссийского общества нефрологов,
председатель Ассоциации нефрологов и врачей
гемодиализа Северо-Запада России, д. м. н., профессор

Соколовский Евгений Владиславович,
заведующий кафедрой дерматовенерологии
с клиникой СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова,
проректор по научной работе, д. м. н., профессор

Стивен Хау Ян Вонг (Steven How Yan Wong),
Ph. D., DABCC (TC), FACB, председатель секции
протеомики и молекулярной патологии
Американской ассоциации клинической химии, США

Тогузов Руслан Тимофеевич,
зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики
ФУВ РГМУ, д. м. н., профессор

Хоровская Лина Анатольевна,
доцент кафедры клинической лабораторной диагностики
СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова, д. м. н., профессор

Gary L. Myers, W. Greg Miller, Josef Coresh, James Fleming, Neil Greenberg, Tom Greene, Thomas Hostetter, Andrew S. Levey, Mauro Panteghini, Michael Welch, John H. Eckfeldt

РЕКОМЕНДАЦИИ ПО УЛУЧШЕНИЮ ПРОЦЕДУРЫ ИЗМЕРЕНИЯ СЫВОРОТОЧНОГО КРЕАТИНИНА: ОТЧЕТ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОЧЕЙ ГРУППЫ НАЦИОНАЛЬНОЙ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЙ ПРОГРАММЫ ПО ЗАБОЛЕВАНИЯМ ПОЧКИ	4
--	---

КАЧЕСТВО МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ

Ю. В. Эмануэль, А. Л. Хотин

ОСОБЕННОСТИ РАЗРАБОТКИ И ВНЕДРЕНИЯ СИСТЕМЫ МЕНЕДЖМЕНТА КАЧЕСТВА В ОРГАНИЗАЦИЯХ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ	22
---	----

С. Н. Ковалевская, Л. А. Хоровская, Н. Г. Петрова

ФЛЕБОТОМИЯ КАК ВАЖНАЯ СОСТАВЛЯЮЩАЯ КАЧЕСТВА ПРЕАНАЛИТИЧЕСКОГО ЭТАПА ЛАБОРАТОРНОГО ПРОЦЕССА	31
---	----

МОЛЕКУЛЯРНАЯ МЕДИЦИНА

КОНСИЛИУМ У ПОСТЕЛИ БОЛЬНОГО

А. С. Улитина, О. В. Сироткина, С. Н. Пчелина, М. В. Дубина

ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КАК ОСНОВА ДЛЯ ИНДИВИДУАЛИЗИРОВАННОГО ПОДХОДА К ЛЕКАРСТВЕННОЙ ТЕРАПИИ	36
---	----

А. К. Мартусевич, С. С. Алексанин, А. А. Гришина

БИОКРИСТАЛЛОМНАЯ МЕТАБОНОМИКА ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ	44
--	----

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА В МИКРОБИОЛОГИИ

С. А. Божкова, Г. Е. Афиногенов, В. Л. Разоренов, Т. М. Петрова

МОНИТОРИНГ МИКРОБНОГО ПЕЙЗАЖА В ОТДЕЛЕНИИ ГНОЙНОЙ ХИРУРГИИ — ОСНОВА ДЛЯ РАЗРАБОТКИ РАЦИОНАЛЬНОЙ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ	50
--	----

А. Л. Позняк, С. Н. Сидорчук, Л. Б. Дрыгина, Т. В. Горейко

СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ДИАГНОСТИКИ МОЧЕПОЛОВОЙ ХЛАМИДИЙНОЙ ИНФЕКЦИИ	57
--	----

А. В. Червинская, А. С. Кветная, Т. Б. Корженевская

ВЛИЯНИЕ СУХОГО ВЫСОКОДИСПЕРСНОГО АЭРОЗОЛЯ ХЛОРИДА НАТРИЯ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА <i>STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE</i> , ПЕРСИСТИРУЮЩЕГО НА СЛИЗИСТОЙ ЛАРИНГОФАРИНГЕАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ, В ЭКСПЕРИМЕНТЕ	72
--	----

ЛАБОРАТОРНЫЕ АСПЕКТЫ КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ

Т. Л. Каронова, О. Д. Беляева, Е. И. Красильникова, М. В. Буданова, Н. С. Катышева, Е. А. Баженова, А. В. Березина,
Е. И. Баранова, Е. Н. Гринева

ПОКАЗАТЕЛИ УГЛЕВОДНОГО И ЛИПИДНОГО МЕТАБОЛИЗМА В СОПОСТАВЛЕНИИ С КОЛИЧЕСТВОМ И РАСПРЕДЕЛЕНИЕМ ЖИРОВОЙ ТКАНИ У ЖЕНЩИН С АБДОМИНАЛЬНЫМ ОЖИРЕНИЕМ	78
---	----

Ю. В. Гайдук, И. Е. Шарина

ОСОБЕННОСТИ НАРУШЕНИЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ВРОЖДЕННЫХ ПОРАЖЕНИЯХ ОПОРНО-ДВИГАТЕЛЬНОГО АППАРАТА И ПОРОКАХ РАЗВИТИЯ СПИННОГО МОЗГА	84
--	----

СЕМИНАРЫ ПО КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ДЛЯ ПРАКТИЧЕСКИХ ВРАЧЕЙ

А. В. Багаев

ЛАБОРАТОРНЫЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЛИКИРОВАННОГО ГЕМОГЛОБИНА	88
--	----

ВЛИЯНИЕ СУХОГО ВЫСОКОДИСПЕРСНОГО АЭРОЗОЛЯ ХЛОРИДА НАТРИЯ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*, ПЕРСИСТИРУЮЩЕГО НА СЛИЗИСТОЙ ЛАРИНГОФАРИНГЕАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ, В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

А. В. ЧЕРВИНСКАЯ*, А. С. КВЕТНАЯ**, Т. Б. КОРЖЕНЕВСКАЯ**

* Респираторный центр ФГУЗ Клинической больницы № 122 им. А. Г. Соколова

Федерального медико-биологического агентства

** ФГУ НИИ детских инфекций Росздрава, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Проведено экспериментальное исследование, позволившее изучить воздействие сухого высокодисперсного аэрозоля хлорида натрия на жизнеспособность и биологические свойства и персистентные характеристики микроорганизмов, функциональное состояние ларинготрахеального эпителия слизистой передней и заднемедиальной поверхности ротоглотки.

В качестве тест-культуры использовался стандартный штамм *S. pneumoniae*, свойства которого исследовались в экспериментальной аэрозольной камере. Свойства эпителия дыхательного тракта изучались на модели клеток фарингеального эпителия, полученных у 10 волонтеров, до и после ингаляции сухого аэрозоля хлорида натрия. В качестве контроля использован аэрозоль 0,9% раствора хлорида натрия.

Установлено, что сухой высокодисперсный аэрозоль хлорида натрия оказывает ингибирующий эффект на рост и жизнеспособность микроорганизмов, изменяет их биологические свойства. После экспозиции аэрозоля наблюдалось усиление электрофизиологической функциональной активности эпителиальных клеток и возрастание их колонизационной резистентности. Полученные данные свидетельствуют о благоприятном воздействии сухого высокодисперсного аэрозоля хлорида натрия на защитные свойства клеток респираторного тракта и повышении неспецифической защиты организма.

Ключевые слова: сухой аэрозоль хлорида натрия, ингаляции, галотерапия, микроорганизмы, фарингеальный эпителий.

EFFECT OF THE DRY SODIUM CHLORIDE AEROSOL ON PHYSIOLOGICAL PROPERTIES OF *S. PNEUMONIAE* AND THE MUCOSA EPITHELIUM AT THE EXPERIMENT

A. V. CHERVINSKAYA*, A. S. KVETNAYA**, T. B. KORZHENEVSKAYA**

* Respiratory Center; Federal State Institution of Health Care, Clinical Hospital N 122 of Russian Federal Medical Biological Agency;

** Federal State Institution "Scientific Research Institute of Pediatric Infections; Federal Agency for Health Care and Social Development"; St. Petersburg, Russia

Summary. The dry aerosol of sodium chloride with a predominant fraction of respirable particles is the main factor of action of the inhalation therapy which was given the name of halotherapy. The goal of this work was to study effects of the dry, fine-grained sodium chloride aerosol on the functional state of mucosal epithelium as well as on vital capability and biological properties of microorganisms.

As a test culture, we used the standard *S. pneumoniae* strain, whose properties were studied in an experimental aerosol chamber. Properties of the respiratory tract epithelium were studied using a model of pharyngeal epithelium cells obtained from 10 healthy volunteers before and after inhalation of the dry sodium chloride aerosol. As a control, an aerosol of 0,9% sodium chloride solution was used.

It has been established that the dry, fine-grained sodium chloride aerosol produces an inhibitory effect on growth and vital capability of microorganisms and changes their biological properties. After exposition to the aerosol there was observed an increase of the electrophysiological functional activity of the epithelial cells and a rise of their colonizational resistance.

Keywords: dry sodium chloride aerosol, inhalations, halotherapy, respiratory diseases, microorganisms, mucosa epithelium.

Аэродисперсная среда сухого аэрозоля хлорида натрия с преобладающей фракцией респирательных частиц является основным действующим фактором галотерапии, широко применяемой для лечения и реабилитации

больных с болезнями органов дыхания (БОД) [1, 16, 18]. В патогенезе острых и хронических БОД значимая роль принадлежит бактериальному воспалительному процессу [3, 14, 20, 21].

Бактериальная инфекция на клеточном уровне представляет собой результат взаимодействия бактериальной клетки с клеткой организма хозяина. Поскольку эпителиальные клетки выстилают поверхности, имеющие контакт с внешней средой, в том числе и эпителиальные клетки респираторного тракта, то они поражаются в первую очередь. Патогенный микроб обладает функцией защиты от фагоцитоза, функцией колонизации и поражающей, или токсической функцией. Завершенный инфекционный процесс осуществляется только при наличии всего комплекса детерминант патогенности микроба [9]. Начало инфекционного процесса отождествляется с прикреплением возбудителя к клеткам-мишеням. Прикрепление бактерий к эпителиальной поверхности является необходимым условием для колонизации [5, 12, 28]. Клетка-клеточное взаимодействие на начальном этапе развития инфекционного процесса проявляется в нескольких видах связей, отличающихся по природе и по уровню специфичности: 1) связи, основанные на взаимодействии электростатических сил; 2) связи, определяющиеся гидрофобными свойствами поверхности; 3) связи, в основе которых лежит лиганд-рецепторное взаимодействие. Именно первые два этапа характеризуются низким уровнем специфичности [9].

Условия и факторы, влияющие на характер взаимодействия микроорганизма с клеткой хозяина, определяют особенности течения инфекционного процесса. В связи с этим представляется значимой оценка влияния сухого высокодисперсного аэрозоля хлорида натрия на клетки возбудителя с одной стороны, и клетки эпителия — с другой, для раскрытия механизмов действия этого лечебного фактора.

Материалы и методы исследования

Влияние сухого высокодисперсного аэрозоля хлорида натрия на жизнеспособность и биологические свойства микроорганизмов исследовалось в аэрозольной камере объемом 5,5 л. В качестве тест-культуры использовался штамм *S. pneumoniae*, микроорганизмы которого являются наиболее распространенным этиологическим фактором БОД [3, 14, 19, 20]. Использовался тест-штамм *S. pneumoniae* T1N1, T2N2, T3N3, типичный по морфологическим и биохимическим свойствам. Штамм получен из ГИСК им. Тарасевича (Москва). Суточную культуру *S. pneumoniae* выращивали на 5% кровяном агаре в режиме повышенного содержания CO_2 при 37 °С в течение 18–24 часов. Определенное число микробных клеток в 1 мл (м.кл./мл) суспензии — колониеобразующих единиц (КОЕ) 105 м. кл./мл — наносилось на чашки Петри, которые помещались в аэрозольную камеру.

Аэродисперсная среда создавалась с помощью галонгалятора ГИСА-01 «Галонерб» (ЗАО «Аэромед»). Плотность сухого высокодисперсного аэрозоля хлорида натрия составляла 3–5 мг/м³, что соответствовало средней концентрации аэрозоля в галокамере при проведении процедур для больных БОД [17]. Более 80% частиц

сухого солевого аэрозоля имели размеры от 1 до 5 мкм (респираторная фракция). Длительность экспозиции аэрозоля на тест-культуры была 5, 15 и 30 минут. В каждом тесте использовалось по 10 чашек Петри. После воздействия аэрозоля чашки Петри с тест-штаммами инкубировали в термостате при 37 °С в течение 18–24 часов, затем подсчитывали КОЕ и изучали культуральные биологические свойства *S. pneumoniae*.

В качестве контроля использована аэродисперсная среда 0,9% раствора хлорида натрия, создаваемая в аэрозольной камере с помощью компрессорного ингалятора «PARI-Boy» (Германия). Тест-культура, процедуры длительности воздействия и контроля не отличались по параметрам, использованным в опыте.

Действие сухого высокодисперсного аэрозоля хлорида натрия на свойства эпителия дыхательного тракта изучалось на модели клеток фарингеального эпителия, отличающегося сравнительной мономорфностью и высокой чувствительностью к пневмококку и другой условно-патогенной микрофлоре [22, 27]. Браш-биоптаты получали со слизистой переднемедиальной поверхности миндалин с помощью щеточки от эндоскопа, укрепленной на держателе, что позволяло при однократном заборе получать достаточное количество эпителиальных клеток (> 1 000 000 клеток/мл). Взятый со щеточки биоптат суспензировали в центрифужной пробирке в 1 мл стерильного фосфатно-солевого буферного раствора, а затем готовили препараты-отпечатки на предметных стеклах.

Исследование клеток фарингеального эпителия проведено у 10 волонтеров (условно здоровых людей) в возрасте от 18 до 58 лет (средний возраст 39,6 ± 3,5 лет).

Электрофизиологическое состояние эпителиальных клеток оценивали по методу М. С. Гончаренко [4]. Оценка показателя электрокинетической активности (ЭЛА) проводилась с помощью прибора БЭ-1 (Харьковский НИИ дерматологии и венерологии). Полученный материал наносили на покровное стекло, которое помещали в камеру между электродами. Проводилось тестирование клеток фарингеального эпителия по характеристике их поведения в переменном электрическом поле, проявляющееся в электрокинетических реакциях, то есть подвижности выраженных структур цитоплазматической мембраны, цитоплазмы и ядра. ЭЛА клеток определена процентным отношением клеток с подвижными структурами на 100 просмотренных в поле зрения клеток.

Адгезивную активность на модели фарингеального эпителия изучали по методу А. С. Кветной [12], в основу которого заложены способы, описанные Gibbons et al. [22], К. Б. Грабовской и А. А. Тотоляном [6]. Совместную инкубацию эпителиоцитов и пневмококка (в соотношении 1 : 100) проводили в течение 1 часа при 37 °С.

Степень адгезивности штамма оценивалась по индексу адгезии (ИА) микроорганизмами тест-штамма —

среднему числу микробных клеток на один эпителиоцит, учитывая 50 участвующих в адгезивном процессе эпителиальных клеток. Колонизационная активность оценивалась по индексу инфицирования (ИИ) — % эпителиоцитов с адгезированными клетками пневмококка из 50 сосчитанных.

Показатели ЭЛА, ИА и ИИ определялись до и после 10-минутной ингаляции сухого высокодисперсного аэрозоля хлорида натрия с плотностью 3–5 мг/м³ с помощью галоингалятора «Галонеб». В качестве контроля использовался аэрозоль физиологического раствора, подаваемый с помощью компрессорного ингалятора «PARI-Boy» (Германия).

Результаты исследования

Показатель КОЕ пневмококка достоверно снизился уже после 5-минутного пребывания штамма в аэродисперсной среде сухого высокодисперсного аэрозоля хлорида натрия (табл. 1). Жизнеспособность штамма ухудшалась по мере увеличения экспозиции аэрозоля. Различия статистически достоверны между 5-, 15- и 30-минутным пребыванием пневмококка в аэродисперсной солевой среде ($p < 0,001$).

Таблица 1

Жизнеспособность тест-штамма пневмококка в моделированной среде сухого высокодисперсного аэрозоля хлорида натрия

	КОЕ <i>S. pneumoniae</i> (м. кл./мл), $M \pm m$	
Время экспозиции	Сухой аэрозоль NaCl	Влажный аэрозоль 0,9% NaCl
Число исследований	10 для каждого опыта	10 для каждого опыта
До воздействия	$7,1 \cdot 10^5 \pm 6,0 \cdot 10^4$	$6,8 \cdot 10^5 \pm 6,9 \cdot 10^4$
5 минут	$6,0 \cdot 10^4 \pm 7,1 \cdot 10^{3*#}$	$6,5 \cdot 10^5 \pm 5,8 \cdot 10^4$
15 минут	$5,2 \cdot 10^3 \pm 6,8 \cdot 10^{2*#}$	$5,4 \cdot 10^5 \pm 7,1 \cdot 10^4$
30 минут	$3,0 \cdot 10^2 \pm 8,6 \cdot 10^{1*#}$	$5,1 \cdot 10^5 \pm 6,5 \cdot 10^4$

Примечание: * — достоверное различие по сравнению с исходным уровнем при $p < 0,001$; # — достоверное различие по сравнению с предыдущим измерением при $p < 0,001$.

После каждой экспозиции сухого аэрозоля хлорида натрия у популяции микробов каждого опыта, включающего 10 образцов, изучалась морфология, чувствительность к оптохину, способность лизироваться 20% желчью и гидролизировать инулин. Используемые в эксперименте тест-штаммы были типичными грамположительными диплококками с хорошо выраженной капсулой, которые на кровяном агаре росли в виде плоских, прозрачных, блестящих колоний, диаметром 1–2 мм. Все культуры были чувствительны к оптохину, обладали α - и β -гемолитической активностью. В процессе проведения эксперимента после каждого опыта

наблюдался рост шероховатых колоний пневмококка (R-формы). С увеличением времени экспозиции аэрозоля число таких колоний увеличивалось, возникали более глубокие изменения культуральных и морфологических свойств *S. pneumoniae*.

Колонии R-форм пневмококка, в отличие от исходных S-форм, были более мелкими (0,5–1,0 мм в диаметре), мутными, с шероховатой поверхностью и сильно изрезанными краями. В процессе старения (через 48–72 часа) колонии приобретали серовато-коричневатый пигмент. Для них было характерно образование выраженного α - и β -гемолиза на 5% кровяном агаре. В мазках таких колоний, окрашенных по Граму, наблюдали образование длинных цепей диплококков, полиморфизм клеток пневмококка, значительно различавшихся как по форме, так и по диаметру. Отмечалось увеличение размеров диплококков и истончение их капсулы, у большинства клеток капсула едва определялась. Эти культуры, также как и исходные S-формы, активно гидролизировали инулин, но не лизировались желчью и проявляли устойчивость к оптохину (6 мкг/мл). Выживаемость штамма пневмококка и свойства его колоний практически не претерпевали изменений при пребывании в аэрозольной среде физиологического раствора хлорида натрия при различном времени его экспозиции (табл. 1).

Полученные результаты эксперимента свидетельствуют об ингибирующем эффекте сухого высокодисперсного аэрозоля хлорида натрия на жизнеспособность пневмококка. Действие аэрозоля вызывало выраженные изменения морфологических и культуральных свойств оставшихся жизнеспособными клеток микроорганизмов. Происходила трансформация штамма *S. pneumoniae* из исходной капсульной S-формы в бескапсульную R-форму. Ингибирующий жизнеспособность эффект и культуральные и морфологические изменения прогрессировали по мере увеличения длительности действия сухого аэрозоля хлорида натрия.

При исследовании исходного уровня ЭЛА у здоровых лиц нами были отмечены колебания этого показателя в пределах от 18 до 88% (табл. 2).

Исследование электрофизиологической активности клеток фарингеального эпителия после экспозиции сухого высокодисперсного аэрозоля хлорида натрия показало значимое увеличение числа активных клеток у всех испытуемых ($p < 0,01$) (рис. 1). Среднее значение показателя ЭЛА клеток по группе до и после воздействия имело достоверные различия — $33,9 \pm 7,4$ и $54,9 \pm 6,0\%$ соответственно ($p < 0,05$). ЭЛА клеток фарингеального эпителия после воздействия аэрозолем 0,9% раствора хлорида натрия (контроль) существенно не изменилось ($29,6 \pm 3,1\%$; $p > 0,05$).

При исследовании адгезивной активности тест-штамма пневмококка к клеткам фарингеального эпителия до и после обработки слизистой сухим аэрозолем хлорида натрия выявлено значительное снижение пока-

зателя ИА по сравнению с исходным уровнем ($29,3 \pm 4,3$ и $8,3 \pm 4,1$ соответственно, $p < 0,01$). Показатели ИА у тех же испытуемых после ингаляций физиологического раствора существенно не изменились (среднее значение $27,9 \pm 5,6$; $p > 0,05$).

Таблица 2

Показатели электрокинетической активности клеток фарингеального эпителия у взрослых доноров

Обследованные	Возраст	Число тестов	% эпителиоцитов с подвижными структурами (ЭЛА), $M \pm m$
1	57	5	$21,0 \pm 1,2$
2	45	5	$18,0 \pm 1,3$
3	47	5	$20,8 \pm 3,2$
4	31	5	$25,4 \pm 1,7$
5	25	5	$27,2 \pm 1,9$
6	36	5	$20,1 \pm 2,4$
7	40	5	$25,2 \pm 3,4$
8	18	5	$87,6 \pm 5,1$
9	25	5	$58,4 \pm 1,8$
10	47	5	$35,5 \pm 2,8$

При изучении взаимосвязи электрофизиологической активности клеток фарингеальной слизистой с показателями колонизации обнаружена обратная корреляционная зависимость между показателями ЭЛА, адгезивной и колонизационной активностью тест-штаммов *S. pneumoniae* ($r = -1,0$ и $-1,0$ соответственно). Для

дальнейшего сопоставления с показателями ИА были использованы три условных уровня ЭЛА: низкий — $< 20\%$, средний — $20-50\%$ и высокий — $> 50\%$. Так, адгезивная и колонизационная активность тест-штаммов пневмококка к клеткам фарингеального эпителия с высоким уровнем ЭЛА была минимальной и составила $4,3 \pm 3,6$ и $1,9 \pm 0,7$ соответственно, и наоборот, при низком уровне ЭЛА эти показатели для пневмококка были максимальными и составили $103 \pm 1,2$ и $57,2 \pm 0,7$ соответственно (рис. 2). Полученные данные свидетельствуют о взаимосвязи ЭЛА клеток фарингеального эпителия с показателями колонизационной активности микрофлоры.

Обсуждение

Экспериментально установлено, что аэродисперсная среда сухого аэрозоля хлорида натрия с преобладающей респираторной фракцией частиц оказывает ингибирующий эффект на жизнеспособность *S. pneumoniae*, наиболее значимого микроорганизма в развитии инфекционного процесса дыхательных путей. Под действием аэрозоля выжившие микроорганизмы изменяют свои тинкториальные и культуральные свойства, теряют капсулу, трансформируясь в R-формы. Процесс диссоциации и потери капсулы сопровождается снижением их вирулентности и гиалуронидазной активности и повышением адгезивной активности [12]. Основываясь на физических свойствах активного сухого высокодисперсного аэрозоля хлорида натрия, можно утверждать, что процесс его воздействия на клетки пневмококка сопровождается обезвоживанием последних и усилением их гидрофобных свойств.

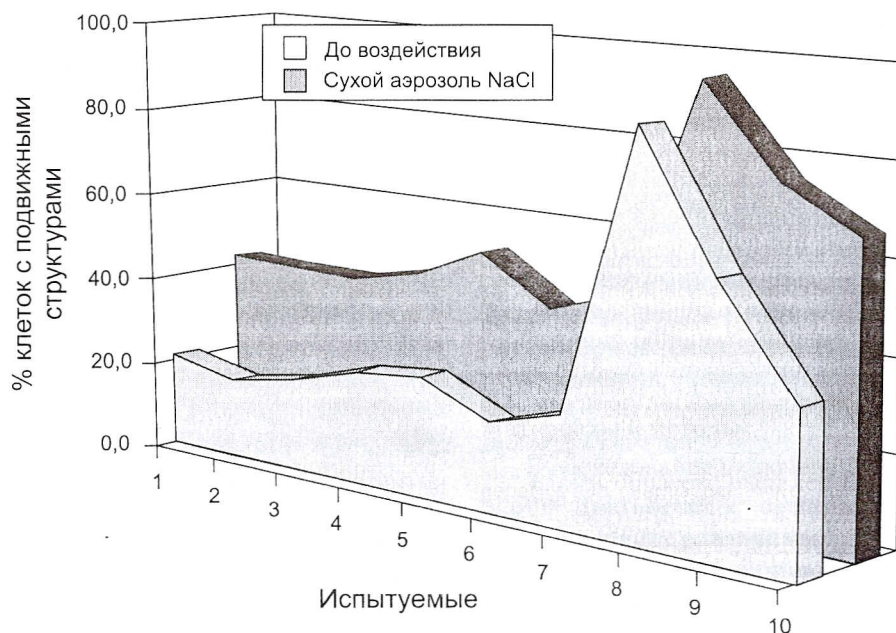


Рис. 1. Электрокинетическая подвижность клеток фарингеального эпителия при воздействии сухого высокодисперсного аэрозоля хлорида натрия

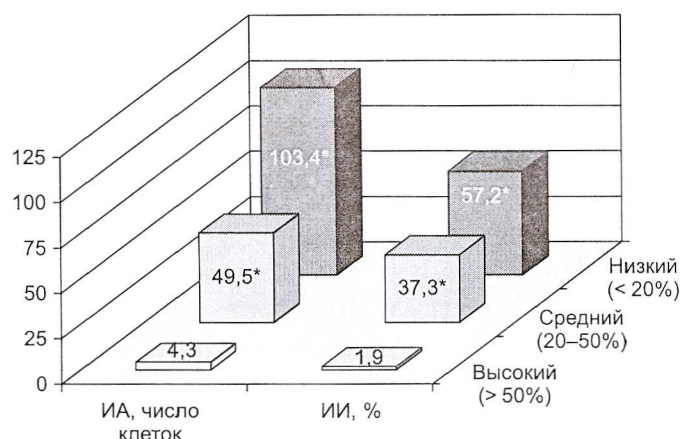


Рис. 2. Колонизационная активность *S. pneumoniae* к клеткам фарингеального эпителия с различным уровнем электрокинетической активности (ЭЛА)

Гидрофобность — фактор, который имеет важное значение для клетка-клеточного взаимодействия. Известно, что бескапсульные формы бактерий обладают высокой гидрофобностью; капсулирование придает бактериальной клетке гидрофильные свойства. Установлено, что чем выше степень гидрофобности, тем больше способность бактериальных клеток к прикреплению к клеткам-мишеням [12, 29]. При этом гидрофобные участки бактериальной поверхности обладают выраженным сродством к соответствующим структурам на клетке-мишени, что придает образовавшимся связям достаточную прочность [9]. Ключевая роль гидрофобности бактериальных клеток заключается еще и в том, что это свойство микроорганизма является значимым в самом начале каскада молекулярно-генетической взаимосвязи возбудителя с клеткой хозяина. Гидрофобные свойства поверхности клеток бактерий дают им возможность преодолеть электростатический барьер эпителия и обуславливают таким образом первый неспецифический этап их взаимодействия с эукариотическими клетками [7, 10, 11].

Изменение гидрофобности и связанных с ней адгезивных свойств сохранившихся в процессе действия сухого высокодисперсного аэрозоля хлорида натрия микроорганизмов в биологическом смысле можно рассматривать как адаптационный процесс при взаимодействии «паразит–хозяин». Именно поэтому весьма значимой являлась оценка влияния изучаемого лечебного аэрозольного фактора на состояние клеток эпителия слизистой респираторного тракта. В настоящее время большинством исследователей признается, что почти все бактерии не прикрепляются к интактным, функционально активным клеткам эпителия респираторного тракта [3, 13, 15, 25]. Электрофизиологическая активность клеток эпителия слизистой, наряду с гидрофобной активностью бактериальных клеток, имеет определяющее значение на начальных этапах неспецифического взаимодействия эпителиоцита с микробной клеткой.

Бактериальная клетка и клетки эукариот имеют отрицательный заряд. Казалось бы, в основе их взаимодействия должны лежать силы отталкивания. Однако изучение анатомии бактериальных клеток показало, что на их поверхности имеются фимбриальные структуры, которые снижают отрицательный заряд клетки и способствуют уменьшению электростатических сил отталкивания [23]. Гидрофобные участки бактериальной поверхности обладают более выраженным сродством к соответствующим структурам эпителиоцита со сниженной ЭЛА, что способствует более прочному прикреплению возбудителя к эпителиоцитам [2]. Наличие заряда на поверхности частицы приводит к образованию двойного электрического слоя из зарядов частицы и зарядов противоионной атмосферы вокруг частицы [8]. По современным представлениям, на клеточной поверхности существует мозаика из зарядов катионных и анионных групп. Общий отрицательный заряд клеток есть результат суммирования 107–108 отрицательных зарядов, приходящихся на одну клетку, и 106–107 положительных зарядов [26, 30]. Предполагается, что изменение способности к миграции, фагоцитозу, устойчивости к адгезии, переходу из крови в ткани связаны с изменением заряда клеточной мембраны [24]. Причины возникновения заряда на границе раздела фаз «частица–среда» могут быть различными. Величина заряда частиц зависит от физико-химической структуры на поверхности: от собственного заряда, возникающего из-за диссоциации ионогенных групп под влиянием полярной дисперсной среды, от ионов, адсорбированных на поверхности частицы в случае разных коэффициентов адсорбции, а также от концентрации и валентности ионов, добавленных к дисперсионной среде [8].

В связи с этим представляла интерес оценка воздействия сухого высокодисперсного аэрозоля хлорида натрия, имеющего отрицательный заряд частиц, на электрофизиологическое состояние клеток слизистой эпителия. Полученные нами данные свидетельствуют о значительном повышении электрофизиологической активности эпителиальных клеток после экспозиции сухого высокодисперсного аэрозоля хлорида натрия, что может быть связано с физическими свойствами этого аэрозоля, его высоким ионным потенциалом и особенностями взаимодействия с клетками эпителия.

В настоящем исследовании нашел подтверждение факт существования взаимосвязи электрофизиологической активности клеток эпителия с адгезивными свойствами микроорганизмов. Ранее было показано, что электрофизиологическое состояние клеток буккального эпителия является фактором, отражающим уровень неспецифической резистентности организма, и влияет на длительность бактерионосительства токсигенных коринебактерий дифтерии [2]. По нашим данным, электрофизиологическая активность клеток фарингеального эпителия имела тесную взаимосвязь с показателями колонизационной резистентности к пневмококку и от-

ражала устойчивость эпителия к адгезии и колонизации пневмококка. Чем больше активных клеток, тем лучше эпителий защищается от микроорганизмов. Полученные данные подтверждают, что показатель ЭЛА является одним из маркеров колонизационной резистентности фарингеального эпителия к пневмококковой инфекции. Результаты исследования указывают на определенную роль электрофизиологического состояния клеток слизистого эпителия в обеспечении неспецифической резистентности макроорганизма.

Заключение

Таким образом, можно заключить, что сухой высокодисперсный аэрозоль хлорида натрия оказывает влияние на клетки микро- и макроорганизма. Ингибирую-

щий эффект на рост и жизнеспособность микробов сопровождается процессом потери ими патогенных свойств и адаптацией к изменившимся условиям, которая выражается, в связи с потерей жидкости, усилением гидрофобных свойств, способствующих прикреплению к клеткам эпителия. Однако активации процессов адгезии микробов не происходит вследствие усиления электрофизиологической функциональной активности эпителиальных клеток. Более того, колонизационная резистентность клеток эпителия усиливается под влиянием сухого высокодисперсного аэрозоля хлорида натрия, что свидетельствует о его благоприятном воздействии на защитные свойства клеток респираторного тракта и повышении неспецифической защиты организма.