

117.01

27.12.2002

На правах рукописи



ЧАБАШВИЛИ ТАТЬЯНА ГРИГОРЬЕВНА

**Влияние редуцированного питания
на видовой состав микробиоценозов
различных биотопов тела человека**

03.00.16 - экология

**Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук**

Ижевск – 2002

Работа выполнена на кафедре микробиологии
Ижевской государственной медицинской академии

Научные руководители: доктор медицинских наук,
профессор А.М.Яковлев
доктор биологических наук,
профессор В.Н.Марков

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук,
профессор Э.С.Горовиц
кандидат биологических наук,
доцент И.В.Меньшиков

Ведущая организация: Мордовский государственный
университет им.Н.П.Огарева

Защита состоится «14» мая 2002 г. в 15.00 часов
на заседании диссертационного совета КМ 212.075.05
Удмуртского государственного университета по адресу: 426034,
г. Ижевск, ул. Университетская, 1, корпус 1, ауд. 119 (факс
755866)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке при
Удмуртском государственном университете по адресу: г.Ижевск,
ул.Университетская, 1, корп.1

Автореферат разослан «12» апреля 2002г.

Ученый секретарь
диссертационного совета О.Г.Баранова
доктор биологических наук

E 942, 1, 0
E 485, 0

Общая характеристика работы

Актуальность работы. Особое место среди глобальных задач современности занимают проблемы будущего человека, обеспечения оптимальных условий его всестороннего развития, современного состояния взаимоотношений человека с меняющимися условиями окружающей среды (Казначеев, 1988). Питание является одним из важнейших экологических факторов, определяющих здоровье отдельного человека и населения в целом. Правильное питание обеспечивает нормальный рост и развитие организма, способствует профилактике заболеваний и создает условия для адаптации к окружающей среде. Питание, как наиболее существенный и постоянно действующий фактор внешней среды, оказывает выраженное влияние на формирование микробиоценоза тела человека.

Изменения в количественном и качественном составе пищи могут способствовать нарушению равновесия между микроорганизмами биоценозов тела и макроорганизмом в целом. Одним из важнейших аспектов концепции сбалансированного питания на современном этапе является разработка микробиологического подхода к оценке состояния здоровья.

В последнее десятилетие состояние здоровья населения России характеризуется негативными тенденциями. У большинства граждан нашей страны выявляются нарушения питания, обусловленные как недостаточным потреблением пищевых веществ, так и нерациональным их соотношением. В связи с этим в 1997 году МЗ РФ принята концепция Государственной политики в области здорового питания населения, одним из основных направлений которой выделено «осуществление постоянного наблюдения за состоянием питания, пищевым статусом, распространенностью алиментарно-зависимых заболеваний различных групп населения во всех регионах Российской Федерации. Уточнение потребностей различных возрастных групп в пищевых веществах и энергии и разработка на их основе рекомендаций по питанию».

Изучение микробиоценоза тела человека и его иммунного статуса имеет большое значение при разработке различных диет и специальных рационов потому, что, во-первых, изменения в характере питания сопровождаются нарушениями иммунологической реактивности организма, что может привести к болезни. Во-вторых, изменения в микробиоценозах тела человека могут явиться причиной воспалительных заболеваний и усугублять изменения в иммунологических показателях. Поэтому наиболее важным является установление тех параметров редуцированных пищевых рационов, при которых снижение уровня потребления пищи не оказывает существенного влияния на микробиоценоз и иммунологический статус организма человека.

Цель и задачи исследования: изучить влияние количественно и качественно измененного питания на видовой состав микробиоценозов кожи, носоглотки и кишечника здорового человека.

Для достижения указанной цели в работе поставлены и решены следующие задачи:

1. Определить количественный и качественный состав микробиоценозов различных биотопов тела здоровых людей.
2. Изучить характер взаимоотношений между компонентами микробиоценозов и иммунобиологическими показателями в экологической системе «макроорганизм - микроорганизмы».
3. Оценить характер и степень влияния низкоэнергетических рационов питания с различным уровнем белка на состояние микроэкологии тела человека.

Научная новизна: Впервые проведено комплексное исследование видового состава микробиоценозов различных биотопов тела человека и его иммунобиологической реактивности под воздействием редуцированных по белку и энергосодержанию пищевых рационов. Установлены взаимозависимые изменения в микроэкологии и иммунном статусе организма человека при конкретных пищевых режимах. Подобраны простые и доступные микроэкологические и иммунологические критерии оценки воздействия редуцированного питания на организм человека.

Практическая значимость: Дана оценка опытных рационов питания по их степени влияния на видовой состав микробиоценозов и иммунной системы организма человека. Определены микроэкологические и иммунологические показатели, ранее всего реагирующие на изменения в питании, которые могут быть использованы для контроля состояния организма человека при разработке или применении специальных пищевых рационов. Полученные данные могут быть использованы для составления рекомендаций по рациональному питанию человека и для создания специальных редуцированных рационов для различных групп людей (работников экстремальных профессий, больных и др.).

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Редуцированное по белку и энергосодержанию питание в течение ограниченного времени приводит к определенным изменениям в видовом составе микробиоценозов тела человека.
2. Переход с нормального питания на редуцированное и наоборот сопровождается изменением корреляционных взаимоотношений в экологической системе: «макроорганизм – микроорганизмы». При этом влияние макроорганизма на микробиоценозы обусловлено сдвигами в иммунобиологических механизмах поддержания гомеостаза.

Апробация работы. Результаты работы доложены на российских и республиканских конференциях: «Внешняя среда и здоровье населения» (Ижевск, 1991); молодых ученых, посвященной 60-летию ИГМИ (Ижевск, 1993); «Состояние окружающей среды и здоровье детей в регионах проживания угрофинских народов» (Ижевск, 1995); «Региональные проблемы здоровья населения (Ижевск, 1999), биохимиков Урала, Поволжья и Западной Сибири «Актуальные проблемы теоретической и прикладной биохимии» (Ижевск, 2001), заседаниях общества физиологов УР (Ижевск, 1999, 2000, 2001 гг.), межкафедральной конференции кафедр нормальной физиологии, микробиологии, имму-

нологии и вирусологии, биологии, биохимии, патологической физиологии ИГМА, ботаники УДГУ(2002).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 9 научных работ.

Внедрение в практику. Результаты работы используются в работе микробиологической лаборатории кафедры микробиологии ИГМА. Материалы диссертации используются при проведении научно-исследовательской работы и в преподавании на кафедрах нормальной физиологии, микробиологии, иммунологии и вирусологии, биологии, патологической физиологии Ижевской государственной медицинской академии, кафедре микробиологии, вирусологии и иммунологии Пермской государственной медицинской академии.

Декларация личного участия автора: Автором проведено 4410 посевов на питательные среды, изучено 3670 микропрепаратов. Кроме того, исследовано 105 сывороток на определение уровня лизоцима, комплемента, иммуноглобулинов, Т-лимфоцитов, а также 105 порций слюны на содержание лизоцима и иммуноглобулинов классов А, G, М.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, списка литературы, включающего 237 источников, из которых 89 на иностранных языках. Работа изложена на 162 страницах, содержит 27 таблиц и 16 рисунков.

Материал и методы исследования. Объектом исследования являлись микробиоценозы кожных покровов, слизистой носоглотки и толстого кишечника практически здоровых людей в условиях измененного гомеостаза вследствие редуцированного питания. В испытании принимали участие молодые мужчины – добровольцы в возрасте от 20 до 40 лет массой тела 68-79 кг, прошедшие предварительно комплексное медицинское обследование и признанные практически здоровыми.

Молодые мужчины в течение определенного срока получали экспериментальные пищевые рационы. В зависимости от используемого в испытании пищевого рациона, обследуемые были разделены на 6 групп по 6 человек в каждой (из первой группы был исключен один человек из-за появившихся у него симптомов острой респираторной вирусной инфекции). Состав пищевых рационов и продолжительность их применения вытекали из конкретных производственных задач разработки аварийных рационов НИИ Гигиены Морского Транспорта г. Санкт-Петербурга. Эксперимент проходил в строго контролируемых условиях стационара данного учреждения и включал три периода: фоновый период - первые 7 суток до назначения экспериментальных рационов, опытный период – 15 суток приема экспериментальных рационов и восстановительный период – 5 последующих суток после отмены опытных рационов питания. В фоновый и восстановительный периоды испытуемые получали обычный рацион питания из натуральных продуктов, содержащий белка - 106,7г., жиров - 104,6г., углеводов – 382,0г., что создавало энергообеспеченность в 12,9 МДж. Используемые в экспериментальном периоде пищевые рационы различались по энергосодержанию и уровню белка, состав жиров во

всех рационах был стабильным, а разница в энергосодержании компенсировалась за счет углеводов. Все экспериментальные рационы по своей энергетической ценности были малокалорийными, то есть составляли 25-50% от среднесуточной энергетической потребности взрослого человека. По обеспеченности белком первые два варианта используемых рационов были практически безбелковыми, 3 и 4 рациона содержали 80 г белка, что является нижней границей суточной нормы для взрослых людей, а 5 и 6 рациона содержали по 45 г белка, что составляет половину нормального суточного потребления белка взрослого человека.

Условия и схема испытания были идентичны во всех группах. Во все периоды эксперимента строго регламентировались энерготраты организма. В ходе испытаний в конце каждого периода эксперимента проводился комплекс исследований для оценки состояния микроэкологии макроорганизма и его механизмов поддержания гомеостаза. Микрофлору кожных покровов изучали по Клемпарской (1966) с помощью посевов-отпечатков стандартными бакпечатками площадью 6,25 см², предварительно покрытыми питательной средой (Эндо, Сабуро, кровяной агар, желточно-солевой агар). Подсчитывали общее количество выросших колоний, с дифференциацией различных видов микроорганизмов, количество которых выражали в КОЕ/см². Микроэкологию слизистой оболочки носоглотки изучали методом посева мазков из зева и носа на дифференциально-диагностические среды: Эндо, кровяной агар и желточно-солевой агар. Проводили подсчет колониеобразующих клеток различных видов микроорганизмов: гемолитических форм, патогенных стафилококков и стрептококков. Все показатели микробного обсеменения слизистой носоглотки выражали в lg КОЕ/тампон.

Изучение микробного биоценоза толстого кишечника проводили по методике, предложенной В.Г.Петровской и О.П.Марко (1976). Оценивали количественный и качественный состав аэробной и анаэробной микрофлоры фекалий. Для этого исследуемый материал разводили стерильным физиологическим раствором и готовили ряд серийных разведений до 1:10⁹. Из каждого разведения производили высев мерного количества на дифференциально-диагностические и элективные питательные среды. Оценивали морфологические, культуральные, биохимические признаки общепринятыми микробиологическими методами, по которым микроорганизмы, имеющие наибольшее значение, определялись до вида, остальные микробы идентифицировались до рода. Количество выделенных микроорганизмов выражали в десятичных логарифмах колониеобразующих единиц на грамм – lgКОЕ/г.

Состояние неспецифической защиты организма оценивали по концентрации лизоцима в сыворотке крови и в слюне на спектрофотометре СФ-25. Количество фермента устанавливали по степени изменения мутности суспензии тест-культуры под действием лизоцима крови (или слюны в разведении 1:10) в определенный интервал времени. Уменьшение оптической плотности расценивалось как мера энзиматической активности, которую выражали в мкг/мл путем

сопоставления полученных данных с калибровочной таблицей, приготовленной с кристаллическим лизоцимом куриного яйца.

Уровень комплемента в сыворотке крови определяли гемолитическим методом. За титр комплемента принимали наименьшее количество сыворотки, которое вызывало 50% гемолиз сенсibilизированных эритроцитов. Титр комплемента выражали в условных единицах - СН50.

Концентрацию иммуноглобулинов в различных биологических жидкостях (сыворотке крови и слюне) выявляли методом простой радиальной иммунодиффузии. В исследованиях применялись коммерческие сыворотки к IgA, IgM и IgG человека и стандартная сыворотка крови человека Московского НИИВС им. И.И.Мечникова. Уровень иммуноглобулинов выражали в г/л.

Количество Т-лимфоцитов в периферической крови определяли методом розеткообразования (Е-РОК). Реакцию учитывали в световом микроскопе. «Розеткой» считалась лимфоцитарная клетка, связавшая не менее 4 эритроцитов. Функциональная активность лимфоцитов периферической крови оценивалась с помощью постановки реакции бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ). В культуральную среду вносили по $1,0 \cdot 10^6$ лимфоцитов, добавляли митоген ФГА-II (Reanal, Венгрия) в субоптимальной дозе 0,625 мкг/мл и инкубировали 72 часа. Параллельно готовили контрольные культуры лимфоцитов без митогенов, которые исследовали в те же сроки, что и опытные. Реакцию учитывали радиометрическим методом с использованием тимидина - ^3H активностью $37 \cdot 10^{10}$ Бк. После очистки нуклеиновых кислот кислотонерастворимый преципитат осадили на миллиметровых фильтрах (Chtematol, Чехия) с диаметром пор 0,4 мкм. Радиоактивность измеряли в жидкостном сцинтиляционном β -спектрометре (Mark II Nuclear Chicago Corp.). Результат опыта выражали числом импульсов за $1 \text{ мин} \cdot 10^3$. Изучение общего анализа крови и биохимических показателей проводили в клинической лаборатории стационара НИИ Гигиены Морского Транспорта г.Санкт - Петербурга общепринятыми методами.

Статистическая обработка проводилась методами вариационной статистики, с использованием параметрического критерия Стьюдента, а также методом корреляционного анализа. Обработка данных осуществлялась с помощью ЭВМ с использованием программы «Биостат» (Гланц, 1999).

Результаты и их обсуждение.

Организм человека входит в сложную экологическую систему, состоящую из макроорганизма, микроорганизмов, заселяющих его биотопы, внешней среды, в которой обитает сам человек. Между этими составляющими устанавливаются определенные экологические связи, а динамическое равновесие между ними определяет гомеостаз всей экосистемы (Дедю, 1989). Биотическим компонентом данной экологической системы являются микробиоценозы всех биотопов тела человека, которые составляют его нормальную микрофлору.

До назначения опытных рационов питания показатели микробиоценозов всех изученных биотопов соответствовали общепринятым нормам для здорового человека данной возрастной группы (табл. 1).

Таблица 1

**Состав микробиоценозов различных биотопов тела
у волонтеров до испытания (n=35).**

| Показатели микробиоценозов | M±m | Нормы |
|--|------------|---------|
| <u>Кожа (КОЕ/см²):</u> | | |
| 1. Общее микробное число – ОМЧ | 2,81±0,34 | 0-8,0 |
| 2. Гемолитические формы – ГФ | 0,15±0,04 | 0-0,15 |
| 3. Золотистый стафилококк – ЗС | 0,06±0,03 | 0 |
| <u>Слизистая носа (lg КОЕ/г):</u> | | |
| 1. Эпидермальный стафилококк – КОС | 3,84±0,05 | 4,8 |
| 2. Золотистый стафилококк – КПС | 0,83±0,20 | 0-2,5 |
| 3. Гемолитические формы – ГФ | 0,33±0,09 | 0-1,8 |
| <u>Слизистая зева (lg КОЕ/г):</u> | | |
| 1. Общее микробное число – ОМЧ | 3,22±0,06 | 1,0-3,0 |
| 2. Гемолитические формы – ГФ | 0,48±0,10 | 0-0,5 |
| 3. Streptococcus pyogenes | 0,30 ±0,09 | 0-0,5 |
| 4. Staphylococcus aureus | 0 | 0-0,5 |
| <u>Толстый кишечник (lg КОЕ/г):</u> | | |
| 1. Bifidobacterium | 9,17±0,28 | 9-10 |
| 2. Lactobacillus | 7,31±0,13 | 7-8 |
| 3. Enterococcus | 7,26± 0,09 | 7-8 |
| 4. Escherichia coli Lac ⁺ | 8,44± 0,06 | 7-8 |
| 5. Escherichia coli Hem ⁺ | 0,98± 0,38 | ≤4 |
| 6. Saphylococcus epidermidis | 4,86± 0,08 | 3-5 |
| 7. Saphylococcus aureus | 0,46±0,17 | ≤2 |
| 8. Clostridium | 3,83±0,35 | 5-8 |
| 9. Candida | 2,33± 0,30 | ≤4 |
| 10. Klebsiella | 1,12±0,22 | ≤4 |
| 11. Proteus | 0 | ≤4 |

Применение низкоэнергетических рационов питания вызвало изменения во всех звеньях микробиологической системы человека. Так, в глубокой микрофлоре кожи увеличилось общее микробное обсеменение и количество условно-патогенных бактерий, таких как гемолитические формы и золотистый стафилококк (рис.1). Эти изменения были более выраженными при использовании безбелковых рационов питания.

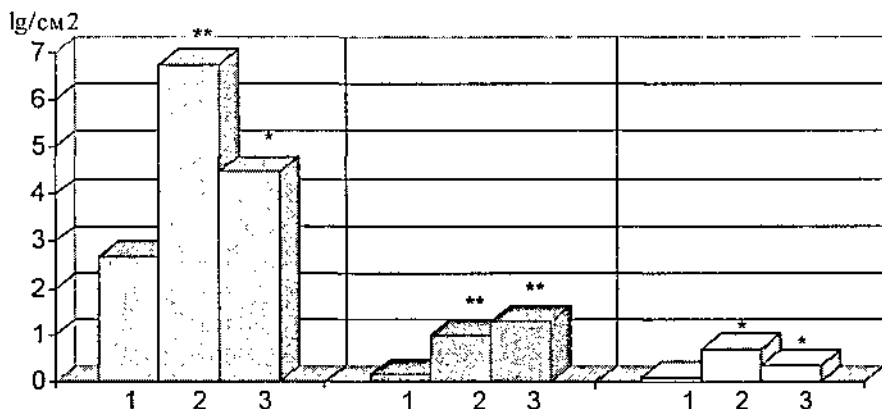


Рис.1. Характеристика кожного микробиоценоза у молодых людей при редуцированном питании (n=35)

□ ОМЧ ▨ Гемолитические формы □ Золотистый стафилококк

По оси абсцисс: периоды эксперимента - 1 - фон; 2 - испытание; 3 - восстановление.
 ** - $p < 0.01$, * $p < 0.05$.

В микробиоценозе слизистой полости носа наблюдалось достоверное снижение числа эпидермального стафилококка и увеличение содержания золотистого стафилококка и гемолизующих бактерий. При этом установлено не только нарастание числа условно патогенных бактерий, но, в некоторых случаях, их появление при отсутствии до испытания. Переход волонтеров на обычное питание не привел к восстановлению нарушенного микробного баланса. Как и в микробиоценозе кожи, эти изменения были самыми значительными у лиц, получавших безбелковые рационы. Подобные изменения наблюдались в микробиоценозе слизистой зева: снижение общего микробного обсеменения сопровождалось увеличением не только количества, но и частоты выявления условно-патогенных бактерий. Патогенный стафилококк до испытания не высеивался ни у одного обследуемого, а в конце испытательного периода он определялся у 17 человек, и после восстановительного периода сохранялся у 16 (45,6%). Гемолизующие бактерии в фоновый период высеивались у 15 из 35 человек, к концу испытания - у 31, что в 2 раза чаще, чем до приема опытных рационов (рис.2).

Приведенные результаты свидетельствуют о снижении местной резистентности в данных биотопах под воздействием опытных рационов питания. По-видимому, недостаточное энергообеспечение пищи приводит к усиленному катаболизму собственных белков организма, в том числе и факторов местной гуморальной защиты, что способствует изменениям в соответствующих микробиоценозах.

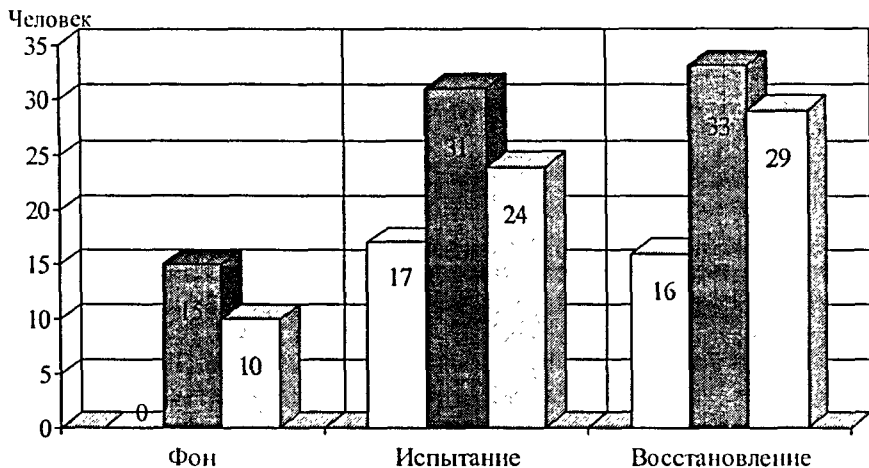


Рис.2. Частота выявления патогенных микробов в зеве людей при редуцированных рационах питания (n=35)

- Патогенный стафилококк
- Гемолитические формы
- Гемолитический стрептококк

В кишечном микробиоценозе также выявлены количественные и качественные изменения. Представители резидентной флоры – бифидобактерии, лактобациллы, эшерихии определялись в низких титрах или даже отсутствовали после испытания. Достоверное снижение количества этих бактерий не восстановилось и после 5 дней нормального питания. При этом снижение количества кишечных палочек сопровождалось изменением их ферментативных свойств – во всех группах обследуемых наблюдалось увеличение количества гемолизующих эшерихий.

На фоне снижения количества представителей резидентной микрофлоры наблюдается возрастание, как количества, так и частоты обнаружения условно-патогенных микробов. Например, золотистый стафилококк в конце испытания определялся в 4 раза чаще, чем в фоновом периоде. Подобные изменения отмечались и в содержании других микроорганизмов, таких как клостридии, клебсиеллы, дрожжеподобные грибы рода Кандида. При этом следует отметить, что колебания их количественных показателей, хотя и были статистически досто-

верными, не выходили за пределы физиологической нормы для здоровых людей данной возрастной группы.

Применение редуцированного питания вызвало изменения не только в количественных и качественных показателях, но, в большей степени, в состоянии межвидовых взаимоотношений внутри микробиоценозов изучаемых биотопов. Проведенный корреляционный анализ показал, что прием низкоэнергетических рационов питания приводит к изменению силы и направленности корреляционных взаимосвязей в каждом микробиоценозе. Так, в глубокой микрофлоре кожи отсутствие взаимосвязи между общим микробным числом и гемолитическими формами сменилось на положительную взаимосвязь и указывает на то, что увеличение обсеменения кожи происходит, главным образом, за счет гемолитических форм бактерий. В носоглоточном микробиоценозе отрицательная взаимосвязь эпидермального стафилококка с гемолитическими формами меняется на положительную. А это означает, что высокое содержание эпидермального стафилококка, как основного представителя резидентной флоры, сдерживает размножение в данном биотопе условно-патогенных форм бактерий. В микрофлоре зева отрицательная взаимосвязь между показателями общего микробного числа и гемолитическими формами теряется в период испытания и отражает то, что размножение гемолитических форм происходит на фоне снижения резидентных представителей данного биотопа. Положительная взаимосвязь между гемолитическими формами и золотистым стафилококком указывает на одновременное нарастание их количества в периоды испытания и восстановления.

В микробиоценозе кишечника до испытания выявлена сильная положительная взаимосвязь только между уровнем бифидобактерий и лактобацилл, которая сохраняется во все периоды эксперимента. После применения редуцированных рационов питания многие корреляционные взаимосвязи меняют не только силу, но и свою направленность. Это наблюдается между содержанием бифидобактерий и энтерококков, бифидобактерий и грибов Кандида, уровнем эшерихий и стафилококков и других видов бактерий (рис.3). Все это говорит о том, что снижение содержания резидентных форм бактерий способствует размножению условно-патогенных микроорганизмов и, в какой-то мере, подтверждает правило обязательного заселения экологической ниши. Возникшие изменения в кишечном биоценозе не проходят за 5 дней обычного питания, а некоторые продолжают усиливаться. По-видимому, для нормализации состояния аутофлоры кишечника требуется более длительное время, чем 5-дневный срок. Представленные данные свидетельствуют о снижении местной колонизационной резистентности в различных биотопах тела человека, в поддержании которой участвуют и гуморальные факторы защиты макроорганизма. Содержание иммуноглобулинов является одним из важных показателей, характеризующих состояние гуморального иммунитета. Нами установлено, что недостаточное по белку и энергосодержанию питание сопровождается развитием дисиммуноглобулинемии, затрагивающей все классы иммуноглобулинов, кото-

рая у каждого человека носит индивидуальный характер. При этом у одних волонтеров уровень их повышается, у других – понижается, а у третьих – остается неизменным. Подобные колебания сохраняются и после нормализации питания. Вероятно, мы сталкиваемся здесь с разными фазами одной и той же адаптационной реакции, когда на каком-то этапе происходит снижение уровня иммунных белков, а затем их компенсаторное увеличение. Однако эти фазы у разных людей не совпадают по времени. Подтверждением этому является динамика содержания белковых фракций сыворотки крови, где увеличение общего белка, главным образом за счет альбуминов, сопровождается снижением уровня глобулинов и гамма - глобулинов. По-видимому, в ответ на ограниченное поступление белков и энергии извне организм включает компенсаторные механизмы, направленные на использование собственных резервов энергии. Косвенно об этом свидетельствуют результаты оценки массы тела волонтеров, снижение которой было статистически достоверным во всех группах обследованных, но, не превышало в среднем 8% от фоновых показателей и не выходило за границы адаптационной реакции.

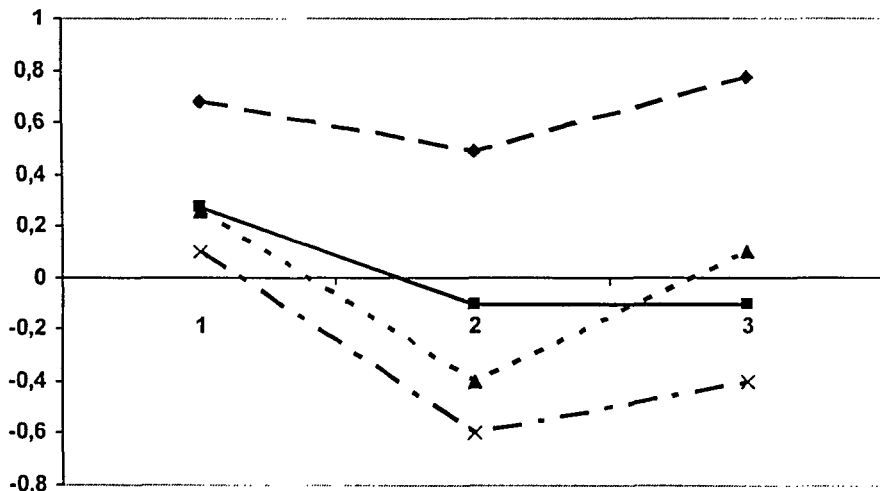


Рис.3. Корреляционные взаимосвязи в микробиоценозе толстого кишечника у волонтеров при редуцированном питании в различные периоды эксперимента.

- ◆— бифидобактерии - лактобациллы
- бифидобактерии - энтерококки
- ▲- -лактобациллы- кластридии
- ×— эшерихии Lac+ - эндермальный стафилококк

По оси ординат: коэффициент корреляции (r);
по оси абсцисс: периоды эксперимента – 1-фон; 2- испытание; 3 - восстановление

Известно, что при определенных функциональных нагрузках макроорганизм включает в процесс лишь часть структурных компонентов отдельных систем, тем самым, обеспечивая ширину диапазона функционирования всей экосистемы. При этом малое число корреляционных связей между показателями определенной системы свидетельствует о стабильном и равновесном ее состоянии, а высокое число - служит признаком большого функционального напряжения. Проведенный нами корреляционный анализ среди показателей гуморальных факторов защиты организма человека позволил установить изменения силы и направленности их взаимосвязей в различные периоды эксперимента. Например, между уровнем комплемента и лизоцимом крови при фоновых исследованиях не выявлено корреляционной взаимосвязи, а после приема опытных рационов питания между ними устанавливается положительная корреляционная взаимосвязь, которая сохраняется и после восстановительного периода. Это свидетельствует о том, что низкоэнергетическое питание приводит к снижению, как уровня комплемента, так и уровня лизоцима в крови человека. Отрицательная корреляционная взаимосвязь между уровнями альбуминов и глобулинов в фоновый период и смена ее силы и направленности в другие периоды эксперимента указывает на то, что используемые пищевые рационы приводят к перераспределению белков в сыворотке крови, в результате напряжения адаптационных механизмов.

В восстановительный период характер корреляционных взаимосвязей между показателями гуморальной защиты организма ни в одной из корреляционных пар не соответствовал их фоновым значениям. Это еще раз подтверждает наше предположение, что пятидневный период является недостаточным для восстановления изменений, возникающих в гуморальном звене иммунологической защиты под влиянием используемых низкоэнергетических рационов питания.

На основании полученных результатов можно заключить следующее.

В связи с тем, что организм человека представляет собой не только среду обитания для собственной микрофлоры, но и сам является частью экологической системы «микроорганизмы – макроорганизм - внешняя среда», любые изменения в одном из звеньев этой системы приводят к сдвигам во всей цепочке взаимоотношений. Проведенные исследования показывают, что на редуцированные по белку и энергии пищевые рационы организм человека отвечает совокупностью систем, включающих как микрoэкологические, так и иммунологические механизмы. В первую очередь реагируют факторы неспецифической резистентности макроорганизма. Известно, что микрoэкологическая система организма человека относится к одному из факторов его неспецифической защиты, отвечающей за формирование и поддержание колонизационной резистентности. Применение редуцированных пищевых рационов питания сопровождается изменениями в микробиоценозах кожи и слизистых носоглотки и кишечника. Эти микрoэкологические изменения в различных биотопах тела человека носят однонаправленный характер, что проявляется в снижении количества

резидентных форм бактерий и увеличении или появлении условно-патогенных и патогенных представителей транзитной флоры.

Наиболее выраженные изменения выявлены в кишечном микробиоценозе, где наблюдаются признаки дисбиотического состояния. Снижение количества основных представителей резидентной флоры - бифидобактерий и лактобацилл, а в некоторых случаях их полное исчезновение и разрастание условно-патогенных бактерий, в какой-то мере, отражает правило обязательного заселения экологической ниши. Эти дисбиотические изменения могут быть связаны, в первую очередь, со снижением при данных условиях эксперимента уровня гуморальных факторов, отвечающих за поддержание местной колонизационной резистентности. Количественные изменения в микробиоценозах подтверждаются результатами корреляционного анализа, более полно отражающего межвидовые взаимоотношения на уровне каждого биотопа. При этом отсутствие каких-либо клинических проявлений позволяет говорить о том, что выявленные изменения, хотя и носят достоверный характер, но не выходят за границы адаптационной реакции и отражают, скорее всего, фазу напряжения.

Необходимо отметить, что более выраженные изменения в микробиоценозах наблюдались у лиц, исходно имеющих некоторые отклонения в видовом и количественном составе аутомикрофлоры. Из этого следует заключить, что у профессиональных групп и других категорий людей необходимо оценивать и микробиологические показатели резистентности организма с обязательной санацией носителей условно-патогенных и патогенных бактерий. Результаты микробиологических исследований влияния редуцированного питания на организм здорового человека позволяют утверждать, что дисбиотические изменения не ограничиваются одним биотопом и однотипно проявляются на других участках тела. Следовательно, о функционировании всей микрoэкологической системы организма, с известной долей вероятности, можно судить по состоянию наиболее доступных биотопов, таких как кожа и слизистая носоглотки.

Состояние микробиоценозов во многом регулируется самим макроорганизмом, его иммунобиологическими механизмами. На редукцию питания в первую очередь реагируют неспецифические факторы гуморальной защиты. Это проявляется снижением уровня содержания лизоцима и белков комплементарной системы крови (рис. 4).

Более выраженные изменения наблюдаются в содержании лизоцима в слюне испытуемых, что позволяет рекомендовать использование этого показателя для оценки состояния неспецифической резистентности организма без внутривенных вмешательств. Использование малокалорийных рационов питания оказывает влияние и на специфический гуморальный ответ, то есть на содержание иммуноглобулинов различных классов. Редуцированное питание приводит к развитию дисиммуноглобулинемии, которая по-разному проявляется у каждого индивидуума и, скорее всего, отражает адаптационную реакцию организма в ответ на редукцию питания, что подтверждается результатами исследования белковых фракций крови, где наблюдаются сходные колебания.

Увеличение содержания общего белка крови, главным образом за счет альбуминов, происходит на фоне снижения уровня глобулиновой фракции. Можно предположить, что это связано с включением компенсаторных механизмов, направленных на использование собственных резервов энергии, что косвенно подтверждается достоверным снижением массы тела во всех группах испытуемых.

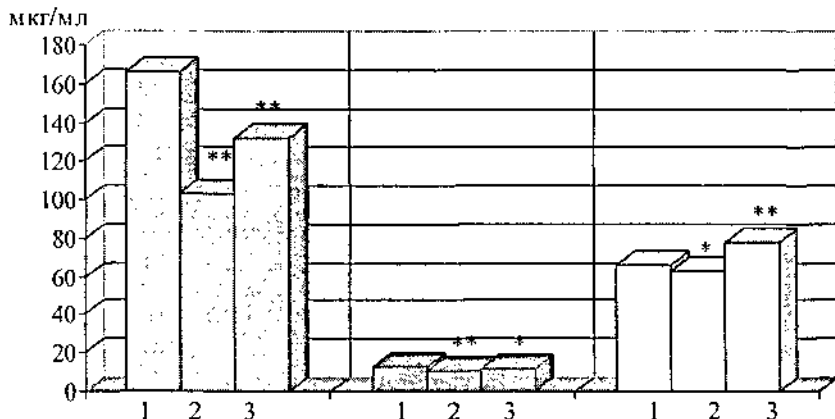


Рис.4. Уровень показателей гуморальной неспецифической резистентности организма при редуцированном питании (n=35)

□ Лизоцим слюны ▨ Лизоцим сыворотки ▤ Комплекмент

По оси абсцисс: периоды эксперимента - 1 - фон; 2 - испытание; 3 - восстановление.
 ** - $p < 0.01$, * $p < 0.05$.

Все это позволяет заключить, что система гуморального иммунитета при данных условиях эксперимента является способной к поддержанию нормально функционального состояния за счет перераспределения иммуноглобулинов в крови. Заметное снижение уровня содержания секреторных иммуноглобулинов в слюне, скорее всего, связано с изменениями в состоянии носоглоточного андропоноза.

Показатели клеточного звена иммунобиологической резистентности организма также претерпевают определенные изменения под воздействием низкокалорийных рационов питания. В периферической крови наблюдаются незначительный нейтрофильный лейкоцитоз и лимфопения, которые, однако, не выходят за границы нормативных показателей. Динамика показателей количества Т-лимфоцитов и синтеза ими ДНК при индукции митогенами позволяют говорить о том, что в данных условиях алиментарного воздействия иммунная система здорового организма способна поддерживать необходимый уровень функциональной активности иммунокомпетентных клеток, даже при некотором снижении их количества.

Следует отметить, что при безбелковых рационах питания выявленные изменения некоторых показателей микробиологической и иммунологической систем защиты организма были более выраженными и носили статистически достоверный характер. Следовательно, при возможности выбора лучше использовать рационы, содержащие белок хотя бы в половине суточной нормы. Переход на обычное питание через 5 дней не привел к полной нормализации изучаемых показателей. При этом некоторые из них, главным образом микробиологические, продолжали изменяться. Поэтому для восстановления исходного состояния микробиологических и иммунологических показателей резистентности организма требуется более длительное время и применение препаратов, нормализующих микробиологический дисбаланс.

Состояние здоровья человека и его работоспособность в необычных условиях определяются мощностью адаптационных резервов (Преображенский с соавт., 1988). Комплексное изучение результатов исследования и корреляционного анализа дает основание полагать, что при воздействии редуцированных по белку и энергии пищевых рационов микробиологическая и иммунологическая системы организма здорового человека испытывают высокое функциональное напряжение, но за счет мобилизации резервов поддерживают гомеостаз макроорганизма. Все это позволяет рекомендовать использование данных рационов питания для определенных категорий людей и профессиональных групп, но сроком, не более 2-3 недель с обязательным приемом препаратов, корригирующих микробиологические изменения в организме человека.

Выводы.

1. Показатели микробиоценозов различных биотонов тела волонтеров соответствуют общепринятым нормам для здорового организма данной возрастной группы. Они характеризуются определенной видовой спецификой: в глубокой микрофлоре кожи преобладают эпидермальные стафилококки, в микрофлоре носоглотки - непатогенные стрептококки, в кишечном микробиоценозе доминирующее положение занимают бифидобактерии и лактобациллы.
2. Динамика изменения микробиоценозов в различных биотопах тела человека при редуцированном питании носит однотипный характер: снижение численности резидентных форм бактерий и увеличение числа условно-патогенных и патогенных видов.
3. Более выраженное воздействие на микробиологические показатели человека оказывают безбелковые рационы питания. Снижение энергетической ценности пищи практически не влияет на количественные и качественные показатели микробиоценозов тела здорового человека.
4. Изменение видового состава микробиоценозов происходит на фоне снижения факторов, отвечающих за местную резистентность. Из иммунологических показателей на редукцию питания в большей степени реагируют неспецифические механизмы и В-звено иммунной системы.

5. Для восстановления видового состава микробиоценозов и иммунобиологических показателей резистентности организма человека после воздействия редуцированного по белку и энергии питания пятидневный период является недостаточным.
6. Для оценки гомеостаза организма и мониторинговых исследований состояния питания людей можно рекомендовать изучение микробиоценозов кожи и зева, как наиболее доступные и быстро реагирующие на внешние воздействия.
7. Изменения в видовом составе микробиоценозов тела здорового человека и его иммунобиологических факторов при использовании опытных рационов питания отражают стадию напряжения адаптационных механизмов.

Практические рекомендации.

1. При отборе категории лиц, считающихся практически здоровыми, кроме общепринятых биохимических и иммунологических показателей необходимо оценивать и состояние микробиоценозов тела человека.
2. При необходимости применения редуцированных рационов питания (лечебное питание, коррекция веса, профессиональные группы и т.д.) лучше использовать белок содержащие рационы, хотя бы с половиной суточной нормы белка и назначать препараты, нормализующие состояние микробиоценозов тела человека.

Список основных работ, опубликованных по теме диссертации.

1. Добровольская Н.Г., Жураковский Г.Н., Смирнова К.И., Заболотская Т.Г. Аутофлора организма, как один из факторов естественной резистентности организма в условиях редуцированного питания //Факторы естественного иммунитета при различных физиологических и патологических состояниях: Тез. докл. VI науч. конф.-Челябинск, 1982.-С.36-37.
2. Яковлев А.М., Жураковский Г.Н., Степанова Э.А., Анненкова И.Д., Велкосельцева Л.Г., Ищенко Л.М., Хоружко А.П., Заболотская Т.Г. Иммунологические сдвиги у лиц с редуцированным питанием //Факторы естественного иммунитета при различных физиологических и патологических состояниях: Тез. докл. VI науч. конф.-Челябинск, 1982.-С.155-157.
3. Заболотская Т.Г. Изучение аутофлоры кишечника, как показателя иммунобиологической реактивности, при редуцированном питании //Иммунологические исследования в клинике и эксперименте: Сб. науч. трудов. - Ленинград, 1984. - С.79-85.
4. Заболотская Т.Г. Изучение факторов неспецифической резистентности при дефиците питания //Факторы клеточного и гуморального иммунитета при различных физиологических и патологических состояниях: Тез. докл. VII научн. конф. - Челябинск, 1984.-С.46.
5. Чабашвили Т.Г. Микрофлора кожи человека при редуцированном питании //Внешняя среда и здоровье населения: Тез. докл. юбил. научн. конф. ВНОЭМП МЗ УР.- Ижевск, 1991.-С.129-130.

6. Чабашвили Т.Г. Безбелковое питание и реакция на него кожного микробиоценоза у молодых людей //Российские морфологические ведомости.- 1999.-№3-4.- С.180-182.
7. Чабашвили Т.Г., Марков В.Н. Влияние редуцированного питания на микробиоценоз зева у молодых людей //Труды ИГМА.- Ижевск, 2000.- Т.38. - С.22-24.
8. Чабашвили Т.Г., Марков В.Н. Влияние редуцированного питания на содержание лизоцима в биологических жидкостях и микробиоценоз ротоглотки человека //Актуальные проблемы теоретической и прикладной биохимии: Матер. конф. биохимиков Урала, Поволжья и Западной Сибири. - Ижевск,2001.-С.138-140.
9. Чабашвили Т.Г., Марков В.Н. Некоторые показатели клеточного иммунитета у людей с дефицитом питания //Труды ИГМА. - Ижевск: Экспертиза, 2001.-Т.39.-С.35-37.