

вивчення загальної морфології зрізи, товщиною 5-7 мкм фарбували гематоксилином та еозином. Вуглеводневі детермінанти глікополімерів поверхні клітин ворсинок хоріона та їх внутрішньоклітинних компартментів вивчали методом лектин-пероксидазної техніки із використанням лектинів PNA, GNA, WGA та PFA. Огляд і фотографування гістологічних зразків проводились із використанням мікроскопа "Swift Instruments International", обладнаного камерою "Echoo-Imager 502 000", за допомогою комп'ютерної програми "TopView 3.2".

Загальноморфологічні дослідження показали зміну форми і структури ворсинок хоріона у досліджуваних зразках, у порівнянні із контрольними. На основі лектиногістохімічних досліджень виявили різне експонування рецепторів лектинів у структурних компонентах ворсинок хоріона 4-13-тижневих ембріонів людини. Найвища експресія рецепторів лектинів WGA, GNA та PFA виявлена у досліджуваній групі звиклого невиношування вагітності, що вказує на порушення кінцевих етапів гліколізування біополімерів внаслідок надмірної активації глікозидаз у порівнянні з групою спорадичних викиднів та контрольною групою.

**Ключові слова:** ворсинки хоріона, спорадичне невиношування, звичне не виношування, лектиногістохімія, ембріони людини.

Стаття надійшла 10.12.2014 р.

формалина. Для изучения общей морфологии срезы толщиной 5-7 мкм окрашивали гематоксилином и еозином. Углеводородные детерминанты поверхности клеток ворсинок хоріона и их внутриклеточных компартментов изучали методом лектин-пероксидазной техники с использованием лектинов лектинів PNA, GNA, WGA та PFA. Осмотр и фотографирование гистологических образцов проводились с использованием микроскопа "Swift Instruments International", оборудованного камерой "Echoo-Imager 502000", с помощью компьютерной программы "TopView 3.2".

Общеморфологические исследования показали изменение формы и структуры ворсинок хоріона в исследуемых образцах, по сравнению с контрольными. На основе лектиногистохимических исследований выявили разное экспонирование рецепторов лектинов в структурных компонентах ворсинок хоріона 4-13-недельных эмбрионов человека. Самая высокая экспресия рецепторов лектинов WGA, GNA и PFA обнаружена в исследуемой группе привычного невынашивания беременности, что указывает на нарушение конечных этапов гликозилирования биополимеров вследствие чрезмерной активации гликозидаз, по сравнению с группой спорадических выкидышей и контрольной группой.

**Ключевые слова:** ворсинки хоріона, спорадическое невынашивание, привычное невынашивание, лектиногистохимия, эмбрионы человека.

Рецензент Куц О.Г.

УДК 612.336:663.127

*М. В. Камінська, М. В. Стефанишин, С. В. Турал, В. В. Литвин*  
*Інститут біології тварин НААН України, м. Львів*

## МІКРОФЛОРА КИШЕЧНИКА ЩУРІВ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ АВТОКЛАВОВАНИХ КАРОТИНОВІСНИХ ДРІЖДЖІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ДИСБАКТЕРІОЗУ

У статті представлено результати дослідження впливу автоклявованої біомаси каротиновмісних дріжджів на стан мікробіоценозу кишечника щурів за умов експериментального дисбактеріозу, спричиненого введенням антибіотика. Показано, що при сумісному застосуванні автоклявованих дріжджів та доксицикліну нівелюється негативний вплив антибіотика на склад мікрофлори прямої кишки щурів та відбувається вирівнювання його до показників інтактних тварин.

**Ключові слова:** мікрофлора кишечника, автоклявовані каротиновмісні дріжджі, експериментальний дисбактеріоз.

*Робота є фрагментом НДР «Дослідити молекулярно-біологічні механізми дії біомаси дріжджів на мікробіоценоз кишечника тварин та розробити наукові основи використання дріжджовмісних пробіотиків у тваринництві» № ДР 0111U006142.*

Порушення екологічного стану навколишнього середовища проявляється і в негативних змінах у ендоекології кишечника людини та тварин. З відкриттям та широким застосуванням антибіотиків посилилося вивчення ролі мікрофлори кишечника у забезпеченні життєдіяльності макроорганізму. Так дослідження їх негативного впливу пов'язані, перш за все, із порушенням рівноваги у складі мікробіоценозу і виникненням передумов до розвитку інфекційних захворювань.

Для профілактики та лікування багатьох патологічних станів, що пов'язані із порушенням мікробіоти кишечника, широке застосування отримали пробіотики – препарати на основі живих клітин мікроорганізмів (лактобактерій, біфідобактерій, ентерококів, дріжджів) [4,5]. Основним завданням пробіотикотерапії було не знищення мікрофлори, а перерозподіл основних груп мікроорганізмів у екологічних нішах та забезпечення їх функціональної активності. Однак, потрапляючи у біотопи людини чи тварини, у жорсткі умови конкуренції із природною, добре адаптованою, мікрофлорою, комбінації штамів, вирощених у лабораторних умовах, гинули або значно знижували свою активність [8]. Тому у даний час, крім пробіотиків, для корекції мікробіоценозів шлунково-кишкового тракту застосовують пребіотичні речовини, що є селективними субстратами для окремих видів мікроорганізмів корисної мікрофлори кишечника. Найвідоміші з них фруктоолігосахариди, зокрема лактулоза [6]. Крім того, припускають, що при використанні пребіотиків відбувається посилений синтез коротколанцюгових жирних кислот

представниками мікробіоти, внаслідок чого підкислюється і частково оздоровлюється середовище у порожнині кишечника [2].

Широке застосування отримали також ентеросорбенти, що здатні адсорбувати та виводити із організму екзо- та ендотоксини, і тим самим забезпечувати нормальні умови для співіснування різних видів мікроорганізмів у мікробіоті кишечника. Одним із відомих природних сорбентів є клітини дріжджів, що здатні адсорбувати на своїй поверхні різноманітні токсини та патогенні мікроорганізми. Це відбувається через присутність у складі клітинних стінок глюканів та олігосахаридів. Тому дріжджова клітина може розглядатись не лише як ентеросорбент, але й пробіотик та пребіотик [7,9]. Однак є окремі повідомлення про виникнення кандидозів при застосуванні живих клітин дріжджів [3]. Тому виникло питання можливості застосування вбитих дріжджових клітин для корекції порушень мікробоценозу кишечника.

**Метою** роботи було оцінити можливість використання автоклавованих каротиновмісних дріжджів *Phaffia rhodozyma* як пробіотичного препарату за умов сумісного застосування із антибіотиком при експериментальному дисбактеріозі.

**Матеріал та методи дослідження.** Для реалізації поставленої мети нами було проведено дослід на самцях щурів лінії Вістар із початковою масою тіла 50-60 г (4-5 тижнів), яких утримували в стандартних умовах віварію Інституту біології тварин НААН України. Дослід тривав 14 днів. Тварин поділили на 3 групи (по 4 тварини): контрольна група (стандартний комбікорм; тварини, яким вводили фізіологічний розчин внутрішньошлунково); 1 дослідна група (тварини, яким при згодовуванні стандартного комбікорму моделювали дисбактеріоз введенням розчину доксицикліну внутрішньошлунково у кількості 1мг/добу/голову впродовж 5 діб); 2 дослідна група (тварини, яким моделювали дисбактеріоз введенням розчину доксицикліну внутрішньошлунково у кількості 1мг/добу/голову впродовж 5 діб та згодовували автоклавовану біомасу дріжджів *P. rhodozyma* штаму КНГ-1 (2% від маси раціону)). Забій тварин здійснювали під легким ефірним наркозом на 14-у добу після початку введення антибіотика. Для досліджень відбирали вміст прямої кишки. У зразках вмісту кишечника досліджували кількісний і якісний склад мікрофлори методом розведень та висіванням мікроорганізмів на селективні середовища (Ендо, Плоскирева, Сабуро, вісмут-сульфітне, Байрд-Паркера, Блаурока, кров'яний агар). Ідентифікацію їх проводили за морфологічними, культуральними, фізіологічними та біохімічними властивостями (середовища Олькеницького та Сімонса) [1].

Статистичну обробку результатів здійснювали за стандартними методиками варіаційної статистики з урахуванням відмінностей за t-критерієм Стьюдента із використанням програми Excel.

**Результати дослідження та їх обговорення.** У результаті введення антибіотика щурам дослідної групи виникли порушення у складі мікрофлори кишечника, тобто ми створили експериментальний дисбактеріоз. Основним його проявом було зменшення загальної кількості клітин кишкової палички у 2,2 рази ( $p < 0,05$ ), порівняно із показником у контрольній групі тварин (таб.).

Таблиця

**Склад мікрофлори вмісту прямої кишки щурів, (M±m, n=4)**

	Контрольна	1 дослідна	2 дослідна
	Облігатна мікрофлора		
Загальна к-ть <i>E. coli</i> , КУО/г	$(4,38 \pm 0,47) \times 10^6$	$(2,00 \pm 0,58) \times 10^6$ *	$(1,04 \pm 0,27) \times 10^8$
log10КУО/г	$6,58 \pm 0,06$	$6,26 \pm 0,14$	$7,98 \pm 0,11$ ***,+++
Біфідобактерії, КУО/г	108	108	108
log10КУО/г	8,00	8,00	8,00
Лактобактерії, КУО/г	108	108	108
log10КУО/г	8,00	8,00	8,00
	Факультативна мікрофлора		
Ентеробактерії (лас-), КУО/г	$(0,02-1) \times 10^4$	$(0,2-4) \times 10^4$	$(0,09-2) \times 10^4$
Стафілококи, КУО/г	$(1,25 \pm 0,15) \times 10^6$	$(0,19 \pm 0,08) \times 10^6$ ***	$(2,07 \pm 0,11) \times 10^6$ **,+++
- % від загальної кількості мікроорганізмів	34,02±5,24	12,22±5,35 *	3,10±1,72 **
- з них патогенні штами, %	0	0	0
Грибки <i>Candida</i> , КУО/г	$(3,44 \pm 0,61) \times 10^6$	$(2,22 \pm 0,79) \times 10^6$	$(1,98 \pm 0,48) \times 10^6$
log10КУО/г	$6,52 \pm 0,08$	$6,28 \pm 0,18$	$6,35 \pm 0,08$

Примітки: \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  – різниці достовірні відносно відповідного показника у контрольній групі; + –  $p < 0,05$ , ++ –  $p < 0,01$ , +++ –  $p < 0,001$  – різниці достовірні відносно відповідного показника у 1 дослідній групі.

Ці зміни відбулись за рахунок штамів із нормальною ферментативною активністю (лас+), кількість яких зменшилась на 28,9 % ( $p < 0,001$ ), порівняно із показником у контрольних щурів

(рис.). Співвідношення штамів із різною здатністю зброджувати лактозу ( $lac^+ : lac^\pm$ ) змінилась із 97:3 у контрольній групі тварин до 68:32 у першій дослідній групі, що негативно вплинуло на стан мікробіоценозу кишечника.

У той же час, кількості основних представників мікробіоти кишечника біфідобактерій та лактобактерій не зазнали змін і були високими (108 КУО/г) як у тварин контрольної, так і дослідної груп. У складі факультативної мікрофлори щурів 1-дослідної групи ми зафіксували меншу загальну кількість стафілококів (у 6,58 рази ( $p < 0,001$ )) та відносну кількість цих бактерій (на 21,8 % ( $p < 0,05$ )), порівняно із відповідними показниками у щурів контрольної групи. У той же час патогенних штамів стафілококів у вмісті прямої кишки щурів жодної із груп виявлено не було. Зменшення кількості клітин представників роду *Staphylococcus* та окремих штамів *E. coli* пов'язано із бактеріостатичною дією антибіотика доксицикліну, що належить до класу тетрациклінів, на клітини грампозитивних бактерій (стафілококи, пневмококи, стрептококи) та грамнегативних бактерій (менінго- та гонококи, ешерихії, сальмонели, шигели, ентеробактерії).

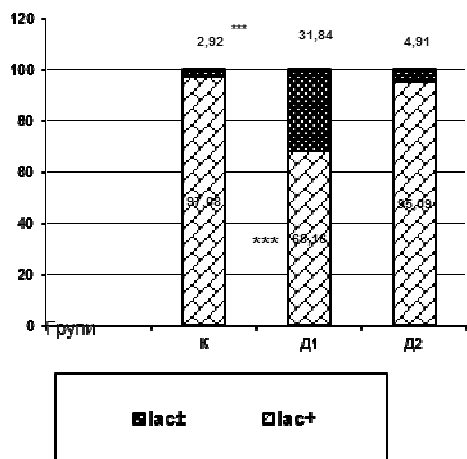


Рис.1 Співвідношення штамів *E. coli* з різною ферментативною активністю у вмісті прямої кишки щурів, %, (\*\*\*) –  $p < 0,001$ - різниця достовірна відносно показника у контрольній групі)

У складі мікрофлори вмісту прямої кишки щурів 2-дослідної групи, яким сумісно із антибіотиком згодовували автоклавовані дріжджі *Phaffia rhodozyma*, негативних змін порівняно із контрольною групою встановлено не було. Однак, зафіксовано більшу загальну кількість клітин кишкової палички на 1,72  $\log_{10}$ КУО/г ( $p < 0,001$ ) та на 1,4  $\log_{10}$ КУО/г ( $p < 0,001$ ) порівняно із показниками у 1-дослідній та контрольній групах відповідно (табл.1). Збільшення кількості *E. coli* у щурів 2-дослідної групи відбулось пропорційно за рахунок штамів із нормальною та слабкою ферментативними активностями (рис.). Так співвідношення між штамми із різною ферментативною активністю ( $lac^+ : lac^\pm$ ) у тварин цієї групи становило 95:5, у той час як у групі із експериментальним дисбактеріозом – 68:32.

Зазначимо, що це співвідношення було практично однаковим у тварин 2-дослідної та контрольної груп. Вміст біфідобактерій та лактобактерій не змінився.

У складі факультативної мікрофлори щурів 2-дослідної групи виявлено більшу абсолютну кількість стафілококів у 10,9 рази ( $p < 0,001$ ) та у 1,7 рази ( $p < 0,01$ ) порівняно із показником у тварин 1 дослідної та контрольної груп відповідно. Однак відносна кількість стафілококів (% від загальної кількості мікроорганізмів) у групі, де застосовували автоклавовані дріжджі, була найменшою серед усіх груп тварин, а у порівнянні із 1-дослідною нижчою на 9,12 % ( $p < 0,01$ ). Патогенних штамів роду *Staphylococcus* не виявлено.

Присутність у раціоні щурів біомаси автоклавованих каротиносинтезуючих дріжджів позитивно вплинула на мікробіоту кишечника за експериментального дисбактеріозу. Так, на відміну від тварин 1-дослідної групи, не виявлено ознак порушень складу мікрофлори вмісту прямої кишки щурів 2-дослідної групи, спричинених введенням антибіотика доксицикліну.

### Висновок

Введення у раціон щурів автоклавованих каротиновмісних дріжджів *Phaffia rhodozyma* запобігає порушенням складу мікрофлори прямої кишки тварин за умов експериментального дисбактеріозу спричиненого доксицикліном.

**Перспективи подальших досліджень.** У подальшому планується отримувати клітинні стінки каротиновмісних дріжджів іншими методами та досліджувати можливість їх застосування як біосорбентів за умов дисбактеріозу у продуктивних тварин та птиці.

### Список літератури

1. Krasnogolovec V. N. Disbakterioz kischechnika / V. N. Krasnogolovec // – М.: Medicina, - 1989.– 208s.
2. Sidorenko S. V. Infekcionnyj process kak «dialog» mezhdju hozjainom i parazitom / S. V. Sidorenko// Klin. mikrobiol. antimikrob. himioterapija. – 2001. – Т. 3, № 4. – S. 301-315.
3. Haritonova L. A. Formirovanie mikrojekologii kischechnika i sposoby korekcii narushenij mikrobiocenoza u detej rannego vozrasta / L. A. Haritonova // Pediatrija. - 2007. - № 2. - S. 108-113.
4. Auclair E. Yeast as an example of the mode of action of probiotics in monogastric and ruminant species / E. Auclair.

5. Fioramonti J. Probiotics and their effect on gut physiology / J. Fioramonti, V. Teodorou, L. Bueno // Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol. – 2003. – 17. – P. 711-724.
6. Gardiner K. R. Lactulose as an antidiarrhoeal in experimental colitis / K. R. Gardiner, P. J. Erwin, N. H. Anderson [et al.] // Brit. J. Surg. – 1995. – Vol. 82. – P. 469-472.
7. Kurugöl Z. Effects of *Saccharomyces boulardii* in children with acute diarrhoea / Z. Kurugöl, G. Koturoğlu // Acta Paediatr. – 2005. – Vol. 94, № 1. – R. 44-47.
8. Ouwehand A. C. Adhesion of probiotic microorganisms to intestinal mucus / A. C. Ouwehand, P. V. Kirjavainen, M. M. Gronlund [et al.] // Int. Dairy J. – 1999. – Vol. 9. – P. 623-630.
9. Villarruel G. *Saccharomyces boulardii* in acute childhood diarrhoea: a randomized, placebo-controlled study / G. Villarruel, D. Rubio // Acta Paediatr. – 2007. – Vol. 96, №4. – R. 538-541.

### Реферати

**МИКРОФЛОРА КИШЕЧНИКА КРЫС ПРИ ПРИМЕНЕНИИ АВТОКЛАВИРОВАННЫХ КАРОТИНОСОДЕРЖАЩИХ ДРОЖЖЕЙ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ДИСБАКТЕРИОЗЕ**  
Камінська М. В., Стефанишин М. В., Гураль С. В., Литвин В. В.

В статье представлено результаты исследования влияния автоклавированной биомассы каротиносодержащих дрожжей на состояние микробиотоза кишечника крыс при экспериментальном дисбактериозе, вызванном введением антибиотика. Показано, что при совместном использовании автоклавированных дрожжей и доксициклина нивелируется негативное влияние антибиотика на состав микрофлоры прямой кишки крыс и происходит выравнивание его к показателям интактных животных.

**Ключевые слова:** микрофлора кишечника, автоклавированные каротинсодержащие дрожжи, экспериментальный дисбактериоз.

Статья надійшла 10.12.2014 р.

**RAT INTESTINAL MICROFLORA IN APPLYING AUTOCLAVED CAROTENED YEAST IN EXPERIMENTAL DYSBIOSIS**  
Kaminska M.V., Stefanyshyn M., Gural S.V., Lytvyn V.

The results of investigations of autoclaved carotened yeast biomass on the rats intestine microbiocenosis under the experimental dysbiosis caused by the introduction of antibiotics were presented. It is shown that combined use of autoclaved carotened yeast and doxycycline level the negative impact of antibiotics on the microflora composition in rats colon and its alignment to the indices for intact animals.

**Key words:** intestinal microflora, autoclaved carotened yeast, experimental dysbiosis.

Рецензент Куш О.Г.

УДК616-092.9+599.323.4:615.849

С. С. Костюк

ІНД фізіології та екоімунології тварин і птиці ДНУВМ та БУ ім. С.З. Гжицького, м. Львів

### ПОКАЗНИКИ КРОВІ БІЛИХ ЩУРІВ ПІД ВПЛИВОМ ІОНІЗУЮЧОЇ РАДІАЦІЇ ЗА ВПЛИВУ ПІРИДОКСИНУ

У статті доведено, що радіація негативно впливає на лейкограму крові щурів та гематологічні показники. Застосування піридоксину зменшує негативний вплив гама-випромінювання, що відбивається на відсотковому вмісті окремих форм лейкоцитів, збільшує кількість еритроцитів, лейкоцитів та концентрацію гемоглобіну.

**Ключові слова:** гама-випромінювання, щурі, еритроцити, лейкоцити, лімфоцити, нейтрофіли, піридоксин.

Вивчення характеру біологічної дії різних доз опромінення на живий організм, діагностика захворювання та профілактика опромінення залишаються актуальними і на сьогодні, особливо, коли існує загроза опромінення за різних аварійних ситуацій на інших атомних електростанціях України. Ефективне використання тварин в умовах інтенсифікації тваринництва вимагає глибокого розуміння особливостей фізіологічних процесів тварин і птиці, а також змін, які виникають в організмі під впливом різноманітних факторів зовнішнього середовища, серед яких є іонізуюча радіація. Через інтенсивне випробування ядерно: енергетики, виникнення аварій на атомних електростанціях постають нові завдання щодо вивчення особливостей дії іонізуючого випромінювання на живий організм і пошук речовин, які зменшували б шкідливий вплив іонізуючої радіації на нього. Серед них суттєву роль як радіопротектор відіграє піридоксин (вітамін В<sub>6</sub>) [1 - 6].

**Метою** роботи було вивчення гематологічних показників білих щурів під впливом іонізуючої радіації за дії піридоксину.

**Матеріал та методи дослідження.** Дослідження проводилося на 40 білих щурах - самцях лінії Вістар, вагою 150-200 г. Тварини були розділені на дві групи. Перша група - контрольна, друга - дослідна, якій тиждень перед і кожний день після опромінення вводили внутрішньом'язово піридоксину монохлорид в дозі 600 мг на кг маси тіла. Дослід тривав три місяці. Щурів опромінювали рентгенівськими променями DL=50, яка складала 500 рентген –190 кв, А - 20 mA, фокусна відстань - 62 см, фільтри Cu - 0,5, Al - 1 мм., потужність 20 P /хв. З метою фільтрації м'яких променів застосовувались алюмінієвий та мідний фільтри. Опромінювання