

МЕТОДИ І МЕТОДИКИ

© С. И. Похил, О. Н. Коляда, А. В. Тупотилов, Е. А. Дмитриева*, Т. И. Коляда

УДК 504:616. 21:579. 61

С. И. Похил, О. Н. Коляда, А. В. Тупотилов, Е. А. Дмитриева*, Т. И. Коляда

МЕТОДЫ ВЕРИФИКАЦИИ ОСНОВНОГО ЭТИОЛОГИЧЕСКОГО ФАКТОРА ЭКЗОГЕННЫХ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ АЛЬВЕОЛИТОВ В Г. КОМСОМОЛЬСКЕ

ГУ «Институт микробиологии и иммунологии

им. И. И. Мечникова НАМН Украины» (г. Харьков)

*** «Украинский научно-исследовательский институт экологических проблем**

(УкрНИИЭП) министерства экологии и природных ресурсов Украины» (г. Харьков)

Данное исследование является фрагментом договорной научно-исследовательской работы УкрНИИЭП №4.4.855 «Комплекс эколого-медицинских исследований заболеваний в г. Комсомольске альвеолитами и технические решения по изменению условий водозабора и корректировке технологической схемы подготовки питьевой воды».

Вступление. Высокий уровень территориальной концентрации ресурсоемких, «грязных» и опасных производств, стремительное устаревание промышленных технологий и оборудования являются основными причинами накопления негативных последствий загрязнения окружающей среды, влияющих на условия жизнедеятельности населения и уровень заболеваемости в Украине. Растущая техногенная нагрузка на окружающую среду проявляется, прежде всего, в загрязнении поверхностных вод, почв и воздуха широким спектром химических соединений. Как следствие, на протяжении последних десятилетий отмечается увеличение антропогенного эвтрофирования водоемов, в том числе используемых для питьевого водозабора, которое рассматривается как одна из важнейших причин их «цветения» [4]. Изучение воздействия на здоровье человека и животных метаболитов цианобактерий, их токсических и аллергических свойств, признано одним из приоритетных направлений исследований, как во всем мире, так и в Украине [3, 10, 12, 13, 15]. Имеются прямые свидетельства о роли цианобактерий в этиологии широкого спектра заболеваний, в частности легочных аллергозов [7, 8, 9, 11, 14].

В некоторых случаях вспышки заболеваний, связанных с антропогенным, техногенным загрязнением окружающей среды, приобретают эпидемиологический характер, что приводит к возникновению ряда масштабных медицинских проблем. При этом особую важность приобретает наличие методов верификации этиологии таких заболеваний для проведения эффективного специфического лечения. Так, исследование токсических свойств цианобактерий позволило создать методы экспресс-диагностики

для выявления токсической компоненты в этиологии заболеваний. В то же время наличие у метаболитов цианобактерий также и аллергических свойств, требует разработки методов достоверной и своевременной верификации соответствующих этиологических факторов, приводящих к развитию патологии.

Одним из самых известных в Украине случаев подобной эпидемиологической вспышки, стал так называемый «синдром г. Комсомольска». В 1995-2000гг. среди населения г. Комсомольска Полтавской области Украины наблюдались массовые случаи заболевания органов дыхания неизвестной этиологии, сходные по своим клиническим характеристикам с альвеолитами. Было установлено, что динамика заболеваемости имеет четкий сезонный ход с максимумом, который приходится на период поздней осени и начала зимы. Клиническая картина свидетельствовала о развитии острого экзогенного альвеолита, который нередко имел тяжелое течение, были зарегистрированы отдельные летальные случаи.

Несмотря на значительный объем выполненных в период с 1995 по 2005г. исследований, результатам которых был посвящен ряд публикаций [1, 2, 5], этиология заболевания так и не была окончательно установлена. Было показано, что «синдром г. Комсомольска» представляет собой аллергоз, а не какую-либо иную форму заболевания легких, имитирующую истинную аллергию. Последнее могло иметь место, например, в случае парааллергического генеза заболевания. Были получены данные, позволившие утверждать, что случаи аллергического альвеолита, которые наблюдались в г. Комсомольске, по своей иммунологической характеристике укладываются в границы представлений о первом и третьем типе гиперчувствительности в рамках классификации Coombs и Gell. Однако ответ на ключевой вопрос о природе аллергена требовал проведения дальнейших исследований.

Целью нашего исследования была проработка гипотезы об аллерго-токсическом воздействии

метаболитов цианобактерий из мест водозабора как об основном этиологическом факторе возникновения вспышки экзогенных аллергических альвеолитов в г. Комсомольске. В подтверждение этой гипотезы говорило сразу несколько обстоятельств: сезонный ход развития цианобактерий в водоемах совпадал с динамикой заболеваемости альвеолитами; ситуация в г. Комсомольске обладала чертами явной схожести с эпидемиологическими вспышками легочных аллергий, связанных с поступлением в атмосферу микробных аллергенов, которые образуются в процессе производства белково-витаминных комплексов заводами БВК [6]; повышенная заболеваемость альвеолитами лиц, живущих вблизи химических комбинатов и употребляющих воду из водоемов, заселенных цианобактериями; выявление у цианобактерий из мест водозабора токсических свойств, ассоциируемых с токсическими метаболитами.

Таким образом, для верификации основного этиологического фактора заболевания и уточнения природы вызвавшего его аллергена были поставлены следующие задачи: получить цианобактериальные антигены различного состава из «пасты» цианобактерий; изучить чувствительные свойства различного состава эндотоксинов (липополисахаридов) цианобактерий и эритроцитарного цианобактериального диагностикума; определить уровень специфических антицианобактериальных антител в сыворотках больных альвеолитом жителей г. Комсомольска и людей из групп сравнения.

Объект и методы исследования. Объектом исследования были больные альвеолитами жители г. Комсомольска в период ремиссии (20 чел.) и в период обострения заболеваний (23 чел.). В качестве групп сравнения были выбраны клинически здоровые люди (24 чел.), больные с ревматоидным артритом (10 чел.), больные с бронхиальной астмой в стадии обострения без проведения медикаментозной десенсибилизирующей терапии (26 чел.)

Цианобактериальные антигены (ЦАг) получали путем обработки препарата «пасты» цианобактерий и полученного из нее ацетонового порошка цианобактерий (АПЦ) в параллельных экспериментах. «Паста» цианобактерий представляла собой клетки цианобактерий с доминированием в составе (до 90-95%) вида *Microcystis aeruginosa*, свежевыделенные из различных мест водозабора в водохранилище возле г. Комсомольска и в р. Днепр, отмытые с помощью калибровочного сачка и очищенные от микробных форм контаминантов методом разделительного центрифугирования в стерильной дистиллированной воде на малых скоростях.

Для выделения ЦАг были использованы следующие методы экстракции: водно-термальной по Kauffman (ВТЦАг), термальной буферно-солевой (БСТЦАг) по Roberts, по Boivin (БУАВЦАг), термальной водно-феноловой по Westphal (ВЕСТЦАг), а также по Freeman с модификацией по Захаровой (ФРИМЦАг).

В качестве диагностических реакций для исследования чувствительных свойств различных по составу ЦАг были использованы реакция пассивной гемагглютинации (РПГА) и реакция угнетения пассивной гемагглютинации (РУПГА). Учет результатов проводили морфологически, по четырехкрестовой системе.

Эталонная антицианобактериальная кроличья сыворотка была получена путем гипериммунизации кроликов культурой *Microcystis aeruginosa* по стандартной схеме с последующим ее титрованием РПГА. Приготовление эритроцитарных диагностикумов проводилось по стандартной методике.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Microsoft Excel 2007.

Результаты исследований и их обсуждение.

Для исследования специфичности антител была проведена дополнительная работа по созданию препаратов ЦАг, эритроцитарных диагностикумов и эталонных сывороток, необходимых для проведения лабораторных анализов.

Методы выделения антигена (ЛПС-комплекса) цианобактерий подбирались таким образом, чтобы оценить способность различных структурных компонентов клеток цианобактерий выступать этиологическим фактором патологических процессов у перенесших альвеолит жителей г. Комсомольска, а также экстраполировать процесс получения цианобактериальных эндотоксинов в эксперименте на геохимические, биохимические, биологические процессы, происходящие как в естественных условиях в источниках водоснабжения, так и на различных этапах водоподготовки. Так, технология получения БСТЦАг во многом сопоставима с технологией предварительной очистки и подготовки горячей воды для хозяйственно-питьевого использования (в обоих случаях имеются факты внесения химических минеральных компонентов, их присутствия в воде в процессе ее подогрева).

Препарат БСТЦАг в большей степени обогащен водорастворимыми, ионзависимыми компонентами клеток цианобактерий, чем сходный по структуре ВТЦАг. Антиген ВЕСТЦАг содержит достаточно чистый ЛПС с незначительной примесью РНК и полисахаридов (если они первоначально экстрагировались), ФРИМЦАг характеризуется высокой степенью очистки полисахаридов с небольшой молекулярной массой, а БУАВЦАг практически лишен компонентов из внутриклеточных органоидов, что позволяет оценить роль компонентов клеточной стенки в индукции патологических реакций.

Исследование стандартной антицианобактериальной кроличьей сыворотки и сывороток больных альвеолитом жителей г. Комсомольска показало, что РПГА с эритроцитарными диагностикумами и сенситинами ВЕСТЦАг и ФРИМЦАг была во всех случаях отрицательной, что указывает на отсутствие гемосенситивной активности у этих антигенов.

Однако препараты ВЕСТЦАг и ФРИМЦАг не обладали и свойствами полных и неполных антигенов. Их внесение в реакционную смесь даже в целомом

виде не влияло на титр антицианобактериальных агглютинов выявленный в РПГА, то есть РУПГА с использованием этих препаратов была отрицательна. В противоположность этому факту антигены ВТЦАг и, особенно, БСТЦАг обладали наибольшей гемосенситивной активностью и проявляли свойства полных антигенов. Внесение их в цельном виде и даже в разведении 1:100 по объему в реакционную смесь при постановке РУПГА полностью угнетало процесс специфической гемагглютинации.

Препарат, полученный из клеток цианобактерий по методу Voivín (БУАВЦАг), характеризуется существенно более низким уровнем гемосенситивной активности и сохраняет в невысокой степени свойства антигена (полного или неполного). Внесение цельного препарата БУАВЦАг в реакционную смесь при постановке РУПГА снижало титр специфических гемагглютининов в стандартной антицианобактериальной кроличьей сыворотке и сыворотке больных альвеолитом жителей г. Комсомольска в 2-4 раза.

Специфическая биологическая активность БУАВЦАг была существенно ниже, чем других «грубых» экстрактов из цианобактерий. Это обстоятельство может быть связано с тем, что в препаратах, полученных по методу Voivín, концентрация биологически активных комплексов 0-антигена цианобактерий ниже, чем в водно- и буферно-солевых термальных экстрактах, либо с тем, что специфическая биологическая активность обусловлена не только эндотоксическим ЛПС-комплексом мембранных структур клетки, но и другими макромолекулярными структурами клеток цианобактерий. Кроме того, в естественных условиях открытых водоемов геохимические и биологические процессы приводят к образованию не «чистых» макромолекул типа 0-антигена Voivín, а смесей содержащих огромное количество супрамакромолекулярных комплексов в различных комбинациях с элементами биотического и абиотического происхождения.

При получении препарата БУАВЦАг клетки цианобактерий остаются интактными, а экстракция происходит «мягким» способом из наружной мембраны клеточной стенки. Клетки цианобактерий содержат большое количество внутриклеточных органоидов, структурным компонентом которых также являются мембраны, сходные по устройству с наружной мембраной клеточной стенки, а соотношение внешней площади наружной мембраны клеточной стенки к площади мембран внутриклеточных органоидов составляет 1:1000 и более. Логично предположить, что при использовании методов выделения неочищенных экстрактов цианобактерий с разрушением их клеток, выход биологически активных веществ будет значительно увеличен.

Кроме того, наличие в составе экстрактов, полученных разными методами, нескольких разнородных по химической структуре биологически активных веществ обычно проявляется (при условии, что они обладают гемосенситивной активностью и способностью связывать цианобактериальные агглютинины) в нетипичных вариантах результатов РПГА

и РУПГА (наличии «мертвой зоны», проскоков, «избытком» титра, «обрыва» титра и др.), чего ни разу не наблюдалось нами в экспериментах.

При изучении сенситивных свойств антигенов было показано, что повышение температуры при экстракции биологически активных препаратов из клеток цианобактерий сильно влияет на уровень этой активности. Эта зависимость имеет прямо пропорциональный характер – с повышением температуры прогрева массы цианобактерий и АПЦ возрастает гемосенситивная активность экстрактов и их способность связывать антицианобактериальные агглютинины. При этом наблюдается резкий скачок интенсивности нарастания такой активности в зоне температур 55-75°C, в момент «закипания» суспензии, обусловленной выходом из клеток цианобактерий воздушных вакуолей и, очевидно, значительной части содержимого клеток. Использование буферно-солевой среды при термальной экстракции из клеток цианобактерий биологически активных соединений неоспоримо доказывает активизацию процесса экстракции комплексов при повышении осмотического давления в жидкой фазе суспензионной системы. Препараты экстрактов, полученные при таком типе экстракции, были в 4 раза активнее таких же препаратов, полученных методом водно-термальной экстракции при тестировании в РПГА со стандартной антицианобактериальной кроличьей сывороткой, а среднее арифметическое титров антицианобактериальных агглютининов в сыворотках больных альвеолитом жителей г. Комсомольска, взятых в эксперимент с соответствующими эритроцитарным диагностикумом, составило 1:112 и 1:56 соответственно. Таким образом, за счет ионно-осмотических сил в среде при прочих равных условиях, процесс освобождения биологически активных экстрактов цианобактерий при прогревании их клеток усиливается.

Для проверки предположения о природе аллергена было проведено определение уровня специфических антицианобактериальных антител в сыворотках больных альвеолитом жителей г. Комсомольска и групп сравнения (клинически здоровых людей, больных с системными поражениями и ярко выраженным аллергическим компонентом) методом РПГА. Всего в результате реакции РПГА с цианобактериальным диагностикумом были определены специфические агглютинины в 103 сыворотках, в т. ч. : в 43 сыворотках от больных альвеолитом и 60 сыворотках от людей из групп сравнения – клинически здоровых, больных с ревматоидным артритом, больных с бронхиальной астмой (табл.).

Показатели титров цианобактериальных агглютининов, имеющих диагностическое значение (уровень >1:64), в группе больных аллергическим альвеолитом были обнаружены в 12% сывороток, показатели на уровне <1:32 отмечались в 79% случаев, а в 9% сывороток значения титров находились в диапазоне от 1:32 до 1:64. В группе больных бронхиальной астмой, значение титров ниже 1:32 были отмечены в 92%, в диапазоне от 1:32 до 1:64 – в 8%,

Таблиця

**Частота встречаемости титров
цианобактериальных агглютининов
в группе больных аллергическим
альвеолитом жителей г. Комсомольска
и группах сравнения**

Титр цианобактериальных агглютининов (i:x)	Частота встречаемости (абсолютный показатель)				
	Больные с альвеолитом	Клинически здоровые	Больные с ревматоидным артритом	Больные с бронхиальной астмой	Всего в группах сравнения
0	4	4	1	2	7
2	6	2	2	8	12
4	5	9	5	6	20
8	3	7	1	4	12
10	12	1	1	0	2
16	0	1	0	4	5
20	4	0	0	0	0
32	0	0	0	2	2
40	4	0	0	0	0
80	3	0	0	0	0
160	2	0	0	0	0
Число наблюдений	43	24	10	26	60

титры выше 1:64 не определялись. В группах больных ревматоидным артритом, и клинически здоровых людей значения титров цианобактериальных агглютининов во всех сыворотках было ниже 1:32.

Выводы. Полученные результаты позволили сделать ряд выводов о возможной роли структурных компонентов клеток цианобактерий в этиологии экзогенных аллергических альвеолитов, об условиях, способствующих высвобождению из цианобактериальных клеток биологически активных экстрактов.

Был сделан вывод о том, что деградированный полисахарид ЛПС-комплекса наружной мембраны

1. Литература
2. Алергічні захворювання у жителів промислового регіону України, розробка та здійснення заходів по їх своєчасному виявленню, попередженню та лікуванню [Текст] : дис. . . канд. мед. наук: 14. 01. 29 / Ковпак Аліна Володимирівна ; Вінницький національний медичний ун-т ім. М. І. Пирогова. – Вінниця, 2004. – 135 арк. – С. 112-135.
3. Балан Г. М Экологические и профессиональные аспекты экзогенных аллергических альвеолитов (Обзор) [Текст] / Г. М. Балан, В. А. Бабич, Г. Н. Проданчук // Современные проблемы токсикологии. – 2002. – № 1. – С. 58-61.
4. Волошко Л. Н. Токсины цианобактерий (Cyanophyta, Cyanobacteria) / Л. Н. Волошко, А. В. Плющ, Н. Н. Титова // Аллергология. – 2008. – № 18(1). – С. 3-20.
5. Дмитрієва О. О. Екологічно безпечне водокористування у населених пунктах України / О. О. Дмитрієва. – К. : Рада по вивченню продуктивних сил України НАН України, 2008. – 459 с.
6. Пухлик Б. М. Провідні причини алергічних та бронхообструктивних захворювань дихальних шляхів в м. Комсомольську / Б. М. Пухлик [та ін.] // Український пульмонологічний журнал. – 2002. – № 3. – С. 26-32.

цианобактерий *Microcystis aeruginosa* не является самостоятельным этиологическим фактором патологического процесса у больных альвеолитом жителей г. Комсомольска. В природных условиях водных экосистем и при технологической обработке воды для хозяйственно-питьевого использования деградированный полисахарид в «чистом» виде не накапливается, а вероятнее всего входит в качестве структурного компонента в состав более сложных макромолекулярных образований со специфической биологической активностью, таких как цианобактериальный O-антиген БУАВЦАг. Относительно неповрежденный, такой эндотоксический комплекс, содержащий все компоненты полноценного O-антигена (ЛПС, фосфолипид, белок), обладал в определенной степени гемосенситивной активностью и был способен связывать (угнетать РПГА) специфические антицианобактериальные антитела как в стандартной антицианобактериальной кроличьей сыворотке, так и сыворотке больных альвеолитом жителей г. Комсомольска.

Таким образом, наибольшая гемосенситивная активность была выявлена у антигенного комплекса, полученного методом буферно-солевой термальной экстракции. Нагревание воды в присутствии различных минеральных элементов в процессе технологической водоподготовки, которая предварительной очисткой (коагуляцией, отстаиванием, фильтрацией и др.) лишена практически всех клеток и крупных детритных элементов цианобактерий, простейших, многоклеточных водорослей, но содержит достаточно высокие концентрации водорастворимых комплексов эндотоксинов цианобактерий, резко активизирует специфические биологические свойства этих эндотоксинов и может рассматриваться как важный техногенный компонент целого комплекса патогенетических факторов развития аллергического альвеолита.

Перспективы дальнейших исследований.

Исследования природы, свойств и условий образования антигенных комплексов различного состава являются перспективными для усовершенствования технологии наработки эритроцитарных цианобактериальных диагностикумов и верификации этиологических факторов развития экзогенных аллергических альвеолитов, а также улучшения технологии подготовки воды для питьевого водоснабжения населения.

7. Хоменко А. Г. Экзогенный аллергический альвеолит / А. Г. Хоменко, С. Мюллер, В. Шиллинг. – М. : Медицина, 1990. – 220 с.
8. Bernstein J. Cyanobacteria: An unrecognized ubiquitous sensitizing allergen? / J. A. Bernstein [et al.] // Allergy and Asthma Proceedings. – 2011. – Vol. 32(2). – P. 106-110.
9. Genitsaris S. Airborne algae and cyanobacteria: occurrence and related health effects / S. Genitsaris, K. A. Kormas, M. Moustaka-Gouni // Frontiers in Bioscience (Elite ed.). – 2011. – Vol. 3. – P. 772-787.
10. Hosen H. Lake algae as an specific allergen in respiratory allergy / H. Hosen // Review of Allergy. – 1968. – Vol. 22(5). – P. 477-492.
11. Merel S. State of knowledge and concerns on cyanobacterial blooms and cyanotoxins / S. Merel [et al.] // Environment International. – 2013. – Vol. 59. – P. 303–327.
12. Mittal A. Respiratory allergy to algae: clinical aspects / A. Mittal, M. K. Agamal, D. N. Shivpuri // Annals of Allergy. – 1979. – Vol. 42(4). – P. 250-256.
13. Palikova M. In vivo effects of microcystins and complex cyanobacterial biomass on rats (*Rattus norvegicus* var. *alba*): Changes in immunological and haematological parameters / M. Palikova [et al.] // Toxicon. – 2013. – Vol. 73. – P. 1-8.
14. Teneva I. Cytotoxicity and Apoptotic Effects of Microcystin-LR and Anatoxin-a in Mouse Lymphocytes / I. Teneva, R. Mladenov, N. Popov, B. Dzhabazov // Folia Biologica. – 2005. – Vol. 51. – P. 62-67
15. Torokne A. Allergenic (sensitization, skin and eye irritation) effects of freshwater cyanobacteria – experimental evidence / A. Torokne, A. Palovics, M. Bankine // Environmental Toxicology. – 2001. – Vol. 16(6). – P. 512–516
16. Toxic cyanobacteria in water: A guide to their public health consequences, monitoring and management / ed. by I. Chorus, J. Bartram – Taylor & Francis, 2002. – 432 p.

УДК 504:616. 21:579. 61

МЕТОДИ ВЕРИФІКАЦІЇ ОСНОВНОГО ЕТІОЛОГІЧНОГО ФАКТОРА ЕКЗОГЕННОГО АЛЕРГІЧНОГО АЛЬВЕОЛІТУ У М. КОМСОМОЛЬСЬК

Похил С. І., Коляда О. М., Тупотілов О. В., Дмитрієва О. О., Коляда Т. І.

Резюме. Метою дослідження була верифікація етіологічного фактора екзогенних алергічних альвеолітів у м. Комсомольську та його зв'язку з алерго-токсичним впливом метаболітів ціанобактерій з місць водозабору. Сучасні дослідження токсичних властивостей ціанобактерій дозволили створити ефективні методи експрес-діагностики для виявлення токсичної компоненти в етіології захворювань. У той же час, наявність у метаболітів ціанобактерій також і алергічних властивостей, вимагає розробки методів достовірної та своєчасної верифікації відповідних етіологічних факторів, що призводять до розвитку патології.

Були запропоновані методи виділення антигенів ціанобактерій, що дозволили оцінити здатність різних структурних компонентів клітин ціанобактерій виступати етіологічним фактором патологічних процесів, а також екстраполювати процес отримання ціанобактеріальних ендотоксинів в експерименті на геохімічні, біохімічні, біологічні процеси, що відбуваються як в природних умовах в джерелах водопостачання, так і на різних етапах водопідготовки. Дослідження сенситивних властивостей отриманих антигенних препаратів із застосуванням ціанобактеріального еритроцитарного діагностикуму показало суттєву залежність цих властивостей від різних методів екстракції.

Отримані результати дозволили зробити висновок про те, що деградований полісахарид ЛПС-комплексу зовнішньої мембрани ціанобактерій *Microcystis aeruginosa* не може виступати самостійним етіологічним фактором патологічних процесів. У природних умовах водних екосистем і при технологічній обробці води для господарсько-питного використання деградований полісахарид в «чистому» вигляді не накопичується, а найімовірніше входить в якості структурного компоненту до більш складних макромолекулярних утворень зі специфічною біологічною активністю, таких як ціанобактеріальний O-антиген. Відносно неушкоджений, такий ендотоксичний комплекс, що містить всі компоненти повноцінного O-антигену, має певну гемосенситивну активність і здатний зв'язувати специфічні антиціанобактеріальні антитіла.

Ключові слова: ціанобактерії, алергія, альвеоліт, методи виділення антигенів, сенситивні властивості антигенів.

УДК 504:616. 21:579. 61

МЕТОДЫ ВЕРИФИКАЦИИ ОСНОВНОГО ЭТИОЛОГИЧЕСКОГО ФАКТОРА ЭКЗОГЕННЫХ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ АЛЬВЕОЛИТОВ В Г. КОМСОМОЛЬСКЕ

Похил С. И., Коляда О. Н., Тупотілов А. В., Дмитриева Е. А., Коляда Т. И.

Резюме. Целью исследования была верификация этиологического фактора экзогенных аллергических альвеолитов в г. Комсомольске и его связи с алерго-токсическим воздействием метаболитов цианобактерий из мест водозабора. Современные исследования токсических свойств цианобактерий позволили создать эффективные методы экспрес-диагностики для выявления токсической компоненты в этиологии заболеваний. В то же время, наличие у метаболитов цианобактерий также и аллергических свойств, требует разработки методов достоверной и своевременной верификации соответствующих этиологических факторов, приводящих к развитию патологии.

Были предложены методы выделения антигенов цианобактерий, позволившие оценить способность различных структурных компонентов клеток цианобактерий выступать этиологическим фактором

патологических процессов, а также экстраполировать процесс получения цианобактериальных эндотоксинов в эксперименте на геохимические, биохимические, биологические процессы, происходящие как в естественных условиях в источниках водоснабжения, так и на различных этапах водоподготовки. Исследование чувствительных свойств полученных антигенных препаратов с применением цианобактериального эритроцитарного диагностикума показало существенную зависимость этих свойств от различных методов экстракции.

Полученные результаты позволили сделать вывод о том, что деградировавший полисахарид ЛПС-комплекса наружной мембраны цианобактерий *Microcystis aeruginosa* не может выступать самостоятельным этиологическим фактором патологических процессов. В естественных условиях водных экосистем и при технологической обработке воды для хозяйственно-питьевого использования деградировавший полисахарид в «чистом» виде не накапливается, а скорее входит в качестве структурного компонента в более сложные макромолекулярные образования со специфической биологической активностью, такие как цианобактериальный O-антиген. Относительно неповрежденный, такой эндотоксический комплекс, содержащий все компоненты полноценного O-антигена, имеет определенную гемосенсибилизующую активность и способен связывать специфические антицианобактериальные антитела.

Ключевые слова: цианобактерии, аллергия, альвеолит, методы выделения антигенов, чувствительные свойства антигенов.

UDC 504:616. 21:579. 61

Methods of Verification of Main Etiological Factor of Exogenic Allergic Alveolitis in Komsomolsk City
Pokhil S. I., Kolyada O. N., Tupotilov A. V., Dmitrieva E. A., Kolyada T. I.

Summary. The research purpose was to verify the etiologic factor of exogenic allergic alveolitis in Komsomolsk city of Poltava region of Ukraine and its relationship to allergotoxic influence of metabolites of cyanobacteria in places of water intakes. Modern researches of toxic properties of cyanobacteria allowed to create the effective methods of express diagnostics for defining of toxic components in the diseases etiology. At the same time the metabolites of cyanobacteria also possess allergic properties and this requires a development of methods of verification of the proper etiologic factors that lead to the disease occurrence.

We have offered the methods of isolation of cyanobacterial antigens allowed to estimate the ability of the various structural components of cells of cyanobacteria to act as etiologic factor of pathological processes and to extrapolate the process of obtaining of cyanobacterial endotoxins during the experiment to the geochemical, biochemical, biological processes occurring naturally in water sources and also at various stages of water treatment. The research of sensitizing properties of the acquired antigen specimens revealed the significant dependence of these properties on the various methods of extraction. A temperature increase during the extraction of biologically active specimens from the cells of cyanobacteria strongly brings influence on the level of their activity. This dependence had directly proportional character – since the temperature of cyanobacterial cells and dry cyanobacterial specimen rises while warming up, the hemossensitizing activity of extracts and their ability to bind anticyanobacterial agglutinins increases. The extracts specimens isolated by the method of thermal extraction in salt buffer solution were four times more active than the same specimens isolated by the method of water thermal extraction during testing in RDGA with standard anticyanobacterial rabbit serum.

We have drawn the conclusion that water heating in the presence of various mineral elements during the process of water treatment sharply activates specific biological properties of these endotoxins and can be considered as important technogenic component of the whole complex of pathogenetic factors of allergic alveolitis occurrence.

We have defined the level of specific anticyanobacterial antibodies in serums of Komsomolsk residents sick with alveolitis and of comparison groups (clinically healthy people, patients with systemic diseases and a pronounced allergic component) by the RDGA method. Indicators of cyanobacterial agglutinins level having a diagnostic value were found in 12% of serums of patients sick with allergic alveolitis. The values of level of specific anticyanobacterial antibodies in all serums taken from groups of comparison were below diagnostic value.

The obtained results allowed to draw the conclusion that the degraded polysaccharide by LPS-complex of outer membrane of cyanobacteria *Microcystis aeruginosa* can not act as an independent causative factor of pathological process. In natural conditions of aquatic ecosystems and by water treatment for drinking and household use degraded polysaccharide in its “pure” form does not accumulate but it is rather included as a structural component to more complicated macromolecular complex with a specific biological activity, such as cyanobacterial O-antigen. Relatively intact, such endotoxin complex containing all the components of a full-fledged O-antigen has a hemossensitizing activity and is able to bind specific anticyanobacterial antibodies both in standard anticyanobacterial rabbit serum and in serums of Komsomolsk residents sick with alveolitis.

Key words: cyanobacteria, allergies, alveolitis, methods for antigens isolating, sensitizing properties of antigens.

Рецензент – канд. мед. наук Скляр Н. І.

Стаття надійшла 3. 09. 2013 р.