

В. В. Семко, А. А. Поваженко, Б. К. Петрова, Т. И. Рыжова,
А. П. Неустроев, Е. В. Козырева, Л. Г. Пузанова

Иммунологическая реактивность акванавтов при работе в условиях повышенной микробной загрязненности водной среды под давлением до 5,1 МПа

*В ходе комплексного иммунологического и микробиологического исследования во время пяти экспериментальных погружений акванавтов методом длительного пребывания на глубинах 350—500 м установлено, что на фоне значительного увеличения микробной обсемененности в условиях гипербарии у большинства акванавтов изменяется спектр популяций лимфоцитов крови, продукции иммуноглобулинов класса G и антител к *Ps. aeruginosa*, а также неспецифических факторов резистентности. В ряде случаев выявленные изменения не исключают развития у испытуемых ситуационного ослабления иммунобиологической реактивности. Выявлены особенности развития иммунного ответа к *Ps. aeruginosa* у заболевших и здоровых акванавтов в гипербарических условиях.*

Введение

Ухудшение экологической ситуации, проявляющееся, в частности, в повышении микробиологической загрязненности воды морей и внутренних водоемов, привлекает внимание многих исследователей к проблеме предотвращения инфекционно-воспалительных и аллергических заболеваний у акванавтов при выполнении подводных работ методом длительного пребывания (ДП) под повышенным давлением. Проведение санитарно-гигиенических мероприятий в условиях барокомплекса имеет ряд существенных ограничений, что не позволяет рассчитывать на надежное обеззараживание среды обитания и водолазного снаряжения.

В связи с этим особое значение приобретают исследования, направленные на повышение иммунологической реактивности организма, а также на разработку способов его санации от наиболее опасных возбудителей.

Избранный методический подход обусловлен целесообразностью изучения не только общего функционального состояния иммунной системы, но и развития иммунного ответа у акванавтов в гипербарических условиях к конкретным микробным антигенам. В качестве тест-возбудителя нами были избраны синегнойные бактерии, которые, являясь условно патогенными возбудителями наряду с *Vibrio*, *Mycosoccus* и некоторыми другими, доминируют в сообществах микроорганизмов планктона, взвеси и перифитона морской экосистемы [2]. Бактерии рода *Pseudomonas* выделены из проб океанской воды, взятой на глубинах до нескольких тысяч метров [5]. Установлено, что наиболее часто встречающиеся инфекционно-воспалительные заболевания акванавтов — наружный отит и кожная патология — нередко вызываются этим возбудителем [6].

Изучение состояния защитных реакций организма человека в условиях гипербарии до последнего времени носило фрагментарный характер [10]. Высокая частота возникновения инфекционно-воспалительных заболеваний у акванавтов [8, 9] явилась основанием для проведения настоящего исследования.

© В. В. СЕМКО, А. А. ПОВАЖЕНКО, Б. К. ПЕТРОВА, Т. И. РЫЖОВА,
А. П. НЕУСТРОЕВ, Е. В. КОЗЫРЕВА, Л. Г. ПУЗАНОВА, 1991

Методика

Исследования проводили во время пяти экспериментальных погружений методом ДП в барокомплексе с гидробарокамерой под давлением 3,6—5,1 МПа в течение 10—24 сут и декомпрессии продолжительностью до 18—20 сут. В каждом из экспериментов участвовало по шесть акванавтов, практически ежедневно выполнявших подводные работы в гидробарокамере.

Функциональное состояние иммунной системы организма акванавтов оценивали по содержанию в крови субпопуляций Т-, В-, О-лимфоцитов и естественных киллерных клеток (КК), которое определяли методом проточной флуориметрии с использованием анализатора «ACR-1500» (фирма «Bruker Spectrospin», Франция) и моноклональных антител (фирма «Coultronics», Франция). Концентрацию иммуноглобулинов в крови испытуемых определяли методом радиальной иммунодиффузии с применением коммерческих наборов фирмы «Helena Laboratories» (США). Содержание основных типов лейкоцитарных клеток в крови акванавтов определяли с помощью анализатора «Coulter S plus J» (фирма «Coulter», США).

В ходе экспериментов изучали динамику содержания в сыворотке крови испытуемых антител к *Ps. aeruginosa* в реакции прямой гемагглютинации [3] формализированных эритроцитов, нагруженных антигенами экстрацеллюлярной слизи, которую получали при культивировании этого микроорганизма [1]. Одновременно оценивали фагоцитарную активность лейкоцитов крови акванавтов [4]. Бактерицидные свойства фагоцитирующих клеток исследовали с помощью теста восстановления нитросинего тетразолия (НСТ) с предварительной стимуляцией и без нее [7], используя при этом наборы реактивов фирмы «Sigma Chemical Co.» (США).

В ходе всех экспериментов осуществляли микробиологический мониторинг, позволявший контролировать общее содержание микроорганизмов и их качественный состав в среде барокомплекса, в том числе в воде гидробарокамеры, на водолазном снаряжении, а также на различных участках кожи и слизистых оболочек у акванавтов. Возбудителей идентифицировали на основе пролиферативных, пигментообразующих и биохимических критериев в соответствии с определителем Берджи и использованием селективных питательных сред [4].

В период ДП акванавтов под повышенным давлением венозную кровь забирали в барокомплексе с соблюдением мер асептики и антисептики. Декомпрессию образцов крови и микробиологических проб осуществляли по специально разработанной нами методике. Результаты предварительных исследований показали, что при ее применении декомпрессия не оказывает заметного влияния на изучаемые показатели.

За 5—7 сут до начала каждого эксперимента тщательно дезинфицировали гидробарокамеру и заполняли ее водой с минимальным микробным загрязнением. Во время экспериментальных погружений гидробарокамеру не дезинфицировали, поскольку нет безопасных способов обеззараживания больших объемов воды в гипербарических условиях. В «сухих» отсеках барокомплекса в период ДП частичное обеззараживание производили ежедневно, а комплексную дезинфекцию — через каждые 5—6 сут.

Результаты и их обсуждение

Обследования перед началом каждого экспериментального погружения показали, что микробиологическая загрязненность среды барокомплекса, водолазного снаряжения и воды в гидробарокамере была минимальной. В пробах преобладали непатогенные штаммы стафилококков, микрококков и коринебактерий, а общее число бактерий в смывах с поверхностей, как правило, не превышало $1,5 \cdot 10^2$. Ни в одном случае, включая анализы аутофлоры акванавтов, не было выявлено наличия

патогенных и условно патогенных возбудителей. Все исследуемые показатели иммунологической реактивности у акванавтов не выходили за границы среднестатистической нормы.

Через 2—3 сут после подъема давления в воде гидробарокамеры выявлялись определенные количества синегнойных бактерий, а на 5—7-е сутки ДП под максимальным давлением после первого цикла ежедневных подводных работ общее число микроорганизмов в пробах из барокомплекса возрастало в 10—1000 раз. Качественный состав сообщества микроорганизмов в среде, а также аутофлоры, локализуемой в наружных слуховых проходах, на коже и слизистых оболочках у акванавтов, характеризовался появлением и быстрым увеличением числа грам-отрицательных бактерий, прежде всего *Ps. aeruginosa*, в меньшей мере — возбудителей рода *Klebsiella*, а также различных видов грибковой микрофлоры. В последующем, включая период декомпрессии, в пробах из различных точек среды барокомплекса, водолазного снаряжения и, особенно, в воде гидробарокамеры практически постоянно выявлялись синегнойные бактерии. Дезинфекционные мероприятия были эффективны только в течение 1—3 сут между циклами еженедельных подводных работ.

Изменения функционального состояния иммунной системы организма человека на фоне неблагоприятной динамики микробного загрязнения характеризовались выраженной тенденцией к снижению содержания в крови Т-лимфоцитов, несущих маркеры CD2 и CD3. Эти изменения наиболее отчетливо проявлялись у акванавтов во время трех первых экспериментальных погружений на глубины 350—450 м и сопровождалась значительным уменьшением содержания Т-хелперных клеток в сочетании с достоверным увеличением субпопуляции Т-супрессоров (таблица). Подобная динамика соотношения между содержанием основных субпопуляций Т-лимфоцитов в комплексе с повышением числа циркулирующих активированных клеток этого класса, несущих маркеры HLA-DR, от $6,1 \pm 1,26$ до $15,7 \pm 1,07$ % ($P > 0,99$), может расцениваться как признак напряженного функционирования иммунной системы в условиях выраженной антигенной стимуляции.

Увеличение числа О-лимфоцитов в крови акванавтов в условиях гипербарии более чем на 40 % ($P > 0,95$) сопровождалось трехкратным повышением содержания естественных КК, что свидетельствует об усилении неспецифического эффекторного звена клеточного иммунитета, а также об изменениях дифференцировки лимфоидных клеток.

Усиление гуморальных иммунных реакций у акванавтов при ДП в условиях гипербарии проявлялось в достоверном повышении концентрации иммуноглобулинов G в сыворотке крови испытуемых. Содержание циркулирующих В-лимфоцитов в период экспериментального погружения на глубину 400 м заметно повышалось, а в остальных слу-

Влияние длительного пребывания под давлением 5,1 МПа на некоторые показатели функционального состояния иммунной системы у акванавтов ($M \pm m$)

Показатель	До компрессии (фон)	Гипербария, 7-е сутки	После декомпрессии
Относительное содержание, %			
Т-лимфоцитов			
CD 4 (хелперы)	$56,4 \pm 1,57$	$39,2 \pm 3,30^*$	$54,8 \pm 3,27$
CD 8 (супрессоры)	$18,8 \pm 2,62$	$31,7 \pm 1,53^*$	$25,3 \pm 3,53$
HLA-DR (активные)	$6,1 \pm 1,26$	$15,7 \pm 1,07^*$	$15,5 \pm 1,29^*$
киллерных клеток	$8,8 \pm 1,70$	$24,5 \pm 1,34^*$	$24,5 \pm 3,53^*$
В-лимфоцитов (CD 19)	$11,2 \pm 2,30$	$11,1 \pm 1,37$	$7,1 \pm 1,43$
Концентрация иммуноглобулинов G, г/л	$8,9 \pm 1,29$	$13,0 \pm 0,93^*$	$15,1 \pm 0,82^*$
Содержание антител к <i>Ps. aeruginosa</i> , In титра 10	$4,7 \pm 0,30$	$6,0 \pm 0,38^*$	$8,3 \pm 0,23^*$

* Достоверность различий по сравнению с фоном ($P > 0,95$); содержание антител представлено натуральным логарифмом их титра.

чаях остав
таблицу).
антител к
среднем н
за и не с
цитарной
первых не
не давлени
компенсато
тами, что
о повыше
ванном ва
формазана
предварит
>0,99). В
тала и в
новую, од
НСТ-тест
шались д

Гуморальн
акванавтов
заболеваем
вания под

соответст
рующих
гипербар

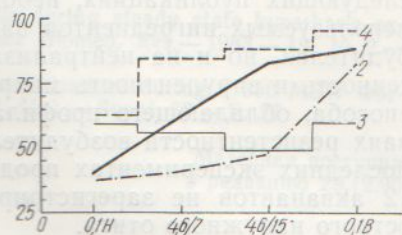
Во в
450 м зар
рых нару
установле
по типу о
нижних к
следнего
всех оста
вовало ув
превыша

Сравни
навов, п
левших в
что у пре
активност
поза в кр
функция
пербарии
цию к ос
мальным
хранялос
всего экс
цитарная
ДП; 2, 4
ные забо
опыта: 0,
но ДП п
ординат
антител

Как
заболеван
ряде слу
жений [6

чаях оставалось стабильным в течение всего периода наблюдений (см. таблицу). К 7—10-м суткам ДП под давлением 5,1 МПа содержание антител к *Ps. aeruginosa* в сыворотке крови акванавтов возросло в среднем на 27,6 % ($P > 0,95$), а к концу второй недели — почти в 2 раза и не снижалось вплоть до окончания декомпрессии. Индекс фагоцитарной активности у испытуемых достоверно уменьшался в течение первых нескольких суток пребывания в условиях гипербарии в диапазоне давлений 3,6—5,1 МПа. Как правило, эти изменения сопровождались компенсаторным усилением генерации свободных радикалов лейкоцитами, что выявлялось при проведении НСТ-теста и свидетельствовало о повышении бактерицидного потенциала этих клеток. В нестимулированном варианте НСТ-теста число нейтрофилов, содержащих гранулы формазана, при этом возрастало от $11,2 \pm 0,83$ до $18,8 \% \pm 1,37$ %, а с предварительной стимуляцией — от $27,8 \pm 2,56$ до $43,9 \% \pm 4,17$ % ($P > 0,99$). В последующем фагоцитарная активность значительно возрастала и в ряде случаев превышала фоновую, однако значения показателей НСТ-теста при этом достоверно уменьшались до $9,2 \pm 1,07$ и $22,1 \% \pm 2,33$ %

Гуморальный иммунный ответ и фагоцитоз у акванавтов в зависимости от неспецифической заболеваемости в период длительного пребывания под давлением 4,6 МПа.



соответственно. Фазовые изменения функциональных свойств фагоцитирующих клеток крови отмечались на фоне закономерных для условий гипербарии лейко- и гранулоцитопений.

Во время трех экспериментальных погружений на глубины 350—450 м зарегистрировано семь случаев возникновения у акванавтов острых наружных отитов, четыре — острых респираторных инфекций неустановленной этиологии, по одному случаю аллергической реакции — по типу отека Квинке, десквамационного дерматита кожных покровов нижних конечностей и стафилодермии кожи лица. За исключением последнего заболевания, а также острых респираторных инфекций, во всех остальных случаях развитию патологических процессов предшествовало увеличение локальной обсемененности *Ps. aeruginosa* до уровня, превышающего 10^3 бактерий на тампон.

Сравнительный анализ динамики показателей иммунитета у акванавтов, перенесших перечисленные заболевания (1-я группа) и не болевших в период ДП в условиях гипербарии (2-я группа), показал, что у представителей 1-й группы значительно повышалась фагоцитарная активность, достигавшая 94—96 %, а содержание антител к *Ps. aeruginosa* в крови увеличивалось лишь к концу периода ДП. Фагоцитарная функция лейкоцитов крови у испытуемых 2-й группы в условиях гипербарии оставалась стабильной или испытывала некоторую тенденцию к ослаблению, однако к 5—7-м суткам пребывания под максимальным давлением содержание антител достоверно возрастало и сохранялось на уровне, значительно превышавшем фоновый, в течение всего эксперимента (рисунок: 1, 2 — содержание антител; 3, 4 — фагоцитарная активность; 1, 3 — группа акванавтов, не болевших в период ДП; 2, 4 — группа акванавтов, перенесших инфекционно-воспалительные заболевания в условиях гипербарии; по оси абсцисс — условия опыта: 0,1 Н — фон; 4,6/7 и 4,6/15 — на 7-е и 15-е сутки соответственно ДП под давлением 4,6 МПа; 0,1 В — после декомпрессии; по оси ординат — относительная фагоцитарная активность (%) и содержание антител (ln титра 10)).

Как известно, острый наружный отит — одно из наиболее частых заболеваний, возникающих у акванавтов в условиях гипербарии и в ряде случаев являющихся причиной прерывания глубоководных погружений [6, 8]. В связи с этим во время первых трех погружений нами

испытан способ профилактики этого заболевания с помощью периодического введения в наружные слуховые проходы акванавтов марлевых тампонов, пропитанных 2 %-ным раствором гентамицина, к которому синегнойные бактерии чувствительны в тестах *in vitro*. Введение этого препарата на 1,5—2,0 ч приводило к практически полному уничтожению возбудителя, однако продолжительность санирующего эффекта не превышала 24 ч. В связи с этим надежного предотвращения возникновения острых наружных отитов у акванавтов в период ДП под повышенным давлением достичь не удалось. По-видимому, недостаточная эффективность широко используемых ушных капель «Domeboro» объясняется сходным образом [10]. Во время последующих двух экспериментальных погружений на глубину 500 м был использован новый способ профилактики этого заболевания, обеспечивающий пролонгированный санирующий эффект в течение, как минимум, 72 ч. Его описание выходит за рамки настоящего сообщения и будет приведено в последующих публикациях, необходимо лишь подчеркнуть, что действие используемых ингредиентов направлено не только на элиминацию возбудителей, но и на нейтрализацию факторов, обуславливающих патогенность и вирулентность микроорганизмов. На фоне применения этого способа, обладающего профилактической эффективностью даже в случаях резистентности возбудителей к бактерицидным веществам, в двух последних экспериментах продолжительностью 35 и 40 сут с участием 12 акванавтов не зарегистрировано ни одного случая возникновения острого наружного отита.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что в период ДП под давлением 3,6—5,1 МПа с выполнением большого объема подводных работ увеличивается микробное загрязнение среды барокомплекса с преимущественным распространением грамотрицательных бактерий и грибковой микрофлоры. В этих условиях иммунные механизмы организма акванавтов функционируют с большим напряжением, что повышает вероятность развития их ситуационной несостоятельности. Замедленная продукция антител к *Ps. aeruginosa* у акванавтов в условиях гипербарии, вероятно, одно из проявлений ослабления антиинфекционной резистентности организма, которое полностью не компенсируется максимальной активизацией фагоцитарной функции. В связи с этим, по нашему мнению, необходимо расширение исследований по разработке способов модуляции иммунологической реактивности организма акванавтов при ДП в гипербарических условиях.

V. V. Semko, A. A. Povazhenko, B. K. Petrova, T. I. Ryzhova,
A. P. Neustroev, E. V. Kozyreva, L. G. Puzanov

IMMUNOLOGICAL REACTIVITY OF AQUANAUTS WORKING UNDER CONDITIONS OF HIGH MICROBIC CONTAMINATION OF WATER ENVIRONMENT UNDER PRESSURE UP TO 5.1 MPa

The complex investigation of immune and nonspecific reactivity of 30 aquanauts was carried out during five experimental saturation divers up to 350-500 m accompanied by an increase of microbic contamination in water of the hyperbaric chamber. Peculiarities of humoral immune response and phagocyte functions were found to depend on the inflammatory disease of aquanauts. It is concluded that the situational transitory immune deficiency development under the influence of hyperbaric factors is possible and changes in the microbe spectrum are real.

Experimental Diving Center of Rescue Service
of Soviet Navy, Leningrad

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Александров А. Д., Анцеферова Н. Г., Жмырина Т. И. и др. Антигенные комплексы слизи *Pseudomonas aeruginosa*: выделение и некоторые биологические свойства // Журн. микробиол.—1984.— № 1.— С. 14—19.

2. Горбен...
3. Имму...
4. Лаб...
5. Марки...
6. Alcock...
7. Feigin...
8. Godecl...
9. Nichol...
10. Pacior...

Испыт. це
Поисково-

УДК 612.01

С. И. Тит

Состоя
систем
в гипер

После
давлени
ной (ас
поненто
ционные
ких — Л
мика во
ции исч
гетативн
риода
сти у а
являются
сти выд
проходи

Введени

Разрабо
ДП при
баричес
не имек
к качес
времени
века и

© С. И. Т

ISSN 020

2. Горбенко Ю. А., Крышев И. И. Статистический анализ динамики морской экосистемы микроорганизмов.— Киев: Наук. думка, 1985.— 144 с.
3. Иммунологические методы / Под ред. Х. Фримеля: Пер. с нем.— М.: Мир, 1979.— 516 с.
4. Лабораторные методы исследования в клинике / Под ред. В. В. Меншикова.— М.: Медицина, 1987.— 368 с.
5. Маркиз Р., Мацумура П. Жизнь микроорганизмов в условиях повышенного давления // Жизнь микробов в экстремальных условиях / Под ред. Д. Кашнера: Пер. с англ.— М.: Мир, 1981.— С. 124—185.
6. Alcock S. R. Acute otitis externa in divers working in the North Sea: a microbiological survey of seven saturation dives // J. Hyg. (Cambridge).— 1977.— 78, № 6.— P. 395—408.
7. Feigin R. D., Shackelford P. G., Choi S. C. et al. Nitroblue tetrazolium dye test as an aid in the differential diagnosis of febrile disorders // J. Pediatr.— 1971.— 78, № 2.— P. 230—236.
8. Godecken J., Gohr L., Schmidt K. Safety aspects in design and operation practice of GKSS Underwater Simulation Plant GUSI // Espace et mer: Colloq. Marseille, 24—27 nov. 1987.— Paris, 1988.— P. 155—159.
9. Nichols G., Goad R. F., Page B. Skin antiseptic during steady state hyperbaric exposure and subsequent decompression // Undersea Biomed. Res.— 1983.— 10, № 2.— P. 115—122.
10. Paciorek J. A. Immunoglobulin production and maintenance during a 350 MSW working saturation chamber dive // Ibid.— 1984.— 11, № 1.— Suppl. 57.— P. 37.

Испыт. центр подвод. исследований
Понсково-спасат. службы ВМФ, Ленинград

Материал поступил
в редакцию 29.12.90

УДК 612.014.41:616.1/8

С. И. Титков, В. Л. Уставщиков, А. Е. Кругляк, В. Ф. Ковалев

Состояние основных функциональных систем человека после длительного пребывания в гипербарической среде

После длительного пребывания (ДП) в гипербарической среде под давлением 4,6 МПа у акванавтов основные сдвиги отмечаются в нервной (астеноневротические расстройства с вегетативно-сосудистым компонентом), сердечно-сосудистой (гиперкинемия миокарда, реполяризационные нарушения) и дыхательной (снижение жизненной емкости легких — ЖЕЛ, объема форсированного выдоха — ОФВ₁) системах. Динамика восстановления носит двухфазный характер: симптомы астенизации исчезают к 10-м суткам, параллельно увеличивается дисбаланс вегетативного гомеостаза. Восстановление происходит к 30-м суткам периода последействия. При многолетней профессиональной деятельности у акванавтов в дыхательной и сердечно-сосудистой системах появляются приспособительные нарушения (увеличение ЖЕЛ, максимальной скорости выдоха) и дизадаптационные нарушения (снижение бронхиальной проходимости, развитие системной артериальной гипертензии).

Введение

Разработка и внедрение в практику глубоководных погружений метода ДП привели к существенному изменению комплекса факторов гипербарической среды обитания, появлению экстремальных воздействий, не имеющих аналогов при кратковременных спусках, а следовательно, к качественно новым ответным реакциям организма. До настоящего времени при изучении закономерностей реагирования организма человека и животных на ДП в гипербарических условиях основное внима-

© С. И. ТИТКОВ, В. Л. УСТАВЩИКОВ, А. Е. КРУГЛЯК, В. Ф. КОВАЛЕВ, 1991

ISSN 0201-8489. Физиол. журн. 1991. Т. 37, № 4

7—1-331

97