

крові щурів, яка викликана незбалансованим харчуванням, та можливості її корекції шляхом доповнення раціону харчовою домішкою (біополімер із тканин рапани (БР)). Встановлено, що використана харчова домішка в умовах *in vitro* виявляє значну антирадикальну активність. Показано, що застосування БР на тлі незбалансованого раціону приводить до нормалізації вмісту гідроперекисів ліпідів у крові та вірогідного зниження рівня цих продуктів ПОЛ у гепатоцитах щурів, до уповільнення зниження глутатіонпероксидазної активності в гепатоцитах і нормалізації супероксиддисмутазної активності в крові піддослідних тварин.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: прооксидантно-антиоксидантний баланс, незбалансоване харчування, біополімер із тканин рапани, щури

CORRECTION BY BIOPOLYMER FROM RAPANA TISSUES THE CHANGE OF PROOXIDANT-ANTIOXIDANT BALANCE STATE OF RAT ORGANISM UNDER UNBALANCED NUTRITION

*Yu.V. Nikitchenko¹, V.N. Dzyuba¹, T.N. Ovsyannikova¹, O.Ye. Bityutskaya², V.V. Bondar¹,
A.A. Sheremet¹, A.S. Popovich¹*

¹V.N. Karazin Kharkov National University, Kharkov, Ukraine

²South Scientific-research institute of marine fish industry and oceanography, Kerch, Ukraine

SUMMARY

The peculiarities of change of prooxidant-antioxidant balance in rat hepatocytes and blood serum under unbalanced nutrition and possibilities of its correction by means of supplement of ration by food addition (biopolymer from rapana tissues (BR)) were investigated. It was found out that the used food addition in conditions *in vitro* had revealed significant antiradical activity. It is shown that the use of BR against the background of unbalanced ration led to normalization of lipid hydroperoxides content in blood and significant decrease of the level of these LPO products in rat hepatocytes, to the slowing of glutathione peroxidase activity decrease in hepatocytes and normalization of superoxide dismutase activity in blood of experimental animals.

KEY WORDS: prooxidant-antioxidant balance, unbalanced nutrition, biopolymer from rapana tissues, rats

УДК: 616.98: 579.841.11.

АНТАГОНІСТИЧНА АКТИВНІСТЬ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* ПІД ВПЛИВОМ АКТИВАТОРІВ АЛОСТЕРИЧНИХ ФЕРМЕНТІВ

Т.П. Осолодченко, Н.І. Городницька, Л.Г. Штикер

Державна установа «Інститут мікробіології та імунології імені І.І. Мечникова АМН України»,
Харків, Україна

РЕЗЮМЕ

У роботі використовувались штами *Pseudomonas aeruginosa*, енхансери із груп похідних ізохінолінів та імідазолів. Досліджувалась дія енхансерів як окремо, так і в їх комбінаціях на антагоністичну активність *Pseudomonas aeruginosa*. В результаті проведених досліджень було встановлено, що при використанні активаторів алостеричних ферментів антагоністична активність збільшується в 2 рази. Відмічався взаємний антагонізм між клінічними штамми *P. aeruginosa* 15, 27 і 87 та вакцинним штамом *P. aeruginosa* 66-16, який використовується при виробництві вакцин.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: *Pseudomonas aeruginosa*, клінічні та вакцинні штами, енхансери, антагоністична активність.

Інфекційні захворювання за даними ВООЗ за смертністю населення знаходяться на першому місці. Представники виду *Pseudomonas aeruginosa* широко розповсюджені в природі і виділяються від сільськогосподарських тварин, людини, гризунів, птахів та інше. *P. aeruginosa* є збудником синьогнійної інфекції, яка широко розповсюджена в клініці. Штами *P. aeruginosa* є антибіотикорезистентними, тому вивчення відповідних біологічних властивостей має актуальне значення [1, 2]. Всі мікроорганізми *P. aerugino-*

sa мають подібні культуральні та морфологічні властивості, а відрізняються за біохімічними, серологічними, імунологічними та патогенними властивостями [3, 4]. Однак про антагонізм мікроорганізмів по відношенню до інших штамів мало що відомо.

Вперше антагонізм мікробів був відмічений Л. Пастером в 1887 р. В подальших дослідженнях було встановлено, що це явище широко розповсюджене у природі. Під впливом антагоністів мікроби припиняють зростати та розмножуватися, в інших випадках

лізуються клітини та гальмуються біохімічні процеси, наприклад дихання або синтез амінокислот. Найбільш виразно антагонізм виявляється у актиноміцетів, бактерій і грибів. Синьогнійна паличка активно пригнічує збудника чуми; актиноміцети, виробляючи ністатин, пригнічують зростання дріжджових організмів.

Механізм антагонізму різноманітний і незрозумілий в багатьох випадках. Найчастіше антагоністи діють на конкурентів продуктами свого обміну речовин, у тому числі антибіотиками, або витісняють конкурентів внаслідок більш інтенсивного розмноження чи збільшеного споживання поживних речовин. Мікроби-антагоністи широко використовуються в різних галузях: у фармакологічній – виробництво антибіотиків, у медицині та ветеринарії – застосування препаратів пробіотиків, у різних галузях харчової промисловості та сільському господарстві.

Робота виконана згідно НДР, яка виконується в лабораторії біохімії мікроорганізмів та поживних середовищ за темою: «Вплив похідних ізохінолінів та імідазолів на біологічні властивості мікроорганізмів на штучних поживних середовищах» (№ держреєстрації 0107U001641).

Метою роботи є дослідження здатності активаторів алостеричних ферментів впливати на антагоністичну активність *P. aeruginosa*.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Об'єктами дослідження були штами мікроорганізмів *P. aeruginosa*:

- 1) промисловий штам для виробництва вакцин – *P. aeruginosa* ІГН 66-16;
- 2) клінічні штами, які виділені від хворих з хірургічними втручаннями – *P. aeruginosa* 15, *P. aeruginosa* 27, *P. aeruginosa* 87.

Штами зберігались в напіврідкому середовищі. Життєздатність клітин підтримували методом пересівів на тверде поживне середовище – агар Мюллера-Хінтона (АМХ).

Були досліджені стимулятори росту мі-

кроорганізмів із групи алостеричних активаторів циклічного аденозинмонофосфату: ізохіноліни (А) та імідазоли (В) [5].

Вплив активаторів алостеричних ферментів досліджували в концентраціях 0,1% та 0,01%, окремо кожного та в їх комбінаціях на антагоністичну активність *P. aeruginosa* [6].

Антагоністичну активність культур синьогнійної палички вивчали методом агарових блочків: на МПА у чашки Петрі висівали газоном продуцент *P. aeruginosa* ІГН 66-16 та інкубували при 35°C упродовж 2 діб, після чого стерильним пробковим свердлом (діаметр 6 мм) вирізали агарові блочки з газоном *P. aeruginosa* 66-16 та переносили у чашки Петрі з АМХ, щойно засіяні клінічним мікробом. Далі навпаки, в якості продуцента використовували один із клінічних штамів. Агарові блочки розташовували на однаковій відстані один від одного, на відстані 1,5-2 см від краю чашки безпосередньо в лунки, які перед цим були вирізані свердлом такого ж діаметру. На одній чашці Петрі з тест-мікробом розміщували 4-5 агарових блочків із різним продуцентом. Чашки витримували 1 годину при кімнатній температурі для дифузії біологічно-активних метаболітів у товщу агару, після чого поміщали їх у термостат при температурі 35°C на 24 години [7].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили згідно статистичних методів за критерієм Стьюдента-Фішера у бактеріологічних дослідженнях [8]. Визначали: М – середнє значення діаметру зон затримки росту навколо агарового блоку з продуцентом, m – середнє відхилення, p – вірогідність результату.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

При чутливості мікроорганізмів до активних речовин, що виділяються продуцентом після інкубації, навколо агарового блоку створювалися зони затримки росту. Якщо штами були не чутливі, то по всій поверхні агару.

Таблиця 1

Зони затримки росту клінічних штамів *P. aeruginosa* 15,27 і 87 під впливом активних речовин *P. aeruginosa* 66-16 (M±m)

Продуцент	Клінічні штами мікроорганізмів <i>P. aeruginosa</i>		
	Зони затримки росту мікроорганізмів, мм, (p < 0,05)		
	<i>P. aeruginosa</i> 15	<i>P. aeruginosa</i> 27	<i>P. aeruginosa</i> 87
<i>P. aeruginosa</i> 66-16	0	15,2±0,2	14,1±0,2

Як свідчать дані, що представлені в таблиці 1, штам *P. aeruginosa* 66-16 володіє антагоністичною дією по відношенню до клінічних штамів *P. aeruginosa* 27 і 87. Зони затримки росту штаму *P. aeruginosa* 27 склали (15,2±0,2) мм, а штаму *P. aeruginosa* 87 – (14,1±0,2) мм.

Також було поставлено дослідження, чи володіють клінічні штами мікроорганізмів *P. aeruginosa* 15,27 і 87 антагоністичною активністю по відношенню до вакцинного штаму *P. aeruginosa* 66-16. Дані представлені в таблиці 2.

Зони затримки росту *P. aeruginosa* 66-16 під впливом активних речовин клінічних штамів *P. aeruginosa* 15, 27 і 87 (M±m)

Продукцент	Зони затримки росту <i>P. aeruginosa</i> ІГН 66-16, мм, (p <0,05)
<i>P. aeruginosa</i> 15	0
<i>P. aeruginosa</i> 27	12,2±0,1
<i>P. aeruginosa</i> 87	13,2±0,1

Як свідчать дані, що представлені в таблиці 2, клінічні штами *P. aeruginosa* 27 і 87 володіють антагоністичною активністю по відношенню до вакцинного штаму *P. aeruginosa* 66-16, а штам *P. aeruginosa* 15 не має такої дії. Зони затримки росту штаму *P. aeruginosa* 66-16 під впливом активних речовин *P. aeruginosa* 27 становили (12,2±

0,1) мм, а під впливом речовин *P. aeruginosa* 87 – (13,2±0,1) мм.

Під впливом енхансерів збільшується продукція активних речовин *P. aeruginosa* 66-16, що проявляється в підвищенні антагоністичного впливу на клінічні штами мікроорганізмів *P. aeruginosa* 15, 27 і 87 [9]. Дані представлені в таблиці 3.

Таблиця 3

Зони затримки росту клінічних штамів мікроорганізмів *P. aeruginosa* 15, 27 і 87 під впливом енхансерів та активних речовин *P. aeruginosa* 66-16 (M±m)

Продукцент <i>P. aeruginosa</i> 66-16	Клінічні штами мікроорганізмів <i>P. aeruginosa</i>		
	Зони затримки росту мікроорганізмів, мм, (p <0,05)		
	<i>P. aeruginosa</i> 15	<i>P. aeruginosa</i> 27	<i>P. aeruginosa</i> 87
Енхансер 0,01% А	12,2±0,2	17,2±0,3	15,6±0,4
0,01% В	0	16,1±0,2	14,3±0,2
0,001% АВ	13,5±0,3	18,1±0,2	17,1±0,3

Як свідчать дані, що представлені в таблиці 3, при додаванні стимуляторів росту А в концентрації 0,01% збільшувалися зони затримки росту клінічних штамів мікроорганізмів *P. aeruginosa* 15, 27 і 87 та складали: (12,2±0,2) – (17,2±0,3) мм. При додаванні енхансерів В в концентрації 0,01% спостерігався інтенсивний ріст штаму *P. aeruginosa* 15, а у штамів *P. aeruginosa* 27 та 87 відмічалася зони затримки росту: (14,3±0,2) – (16,1±0,2) мм. При додаванні комбінації енхансерів А і В в концентрації 0,001% антагоністична активність збільшувалася та зони затримки росту складали (13,5±0,3) – (18,1±0,2) мм.

Антагонізм бактерій вивчався давно, так як антибіотикоподібні речовини мають інтерес для науки в плані розробки препаратів з антибіотикоподібними властивостями [10, 11]. Виділення цих речовин можливе тільки при потрапленні мікроорганізмів в відповідні умови. Механізм продукції цих речовин до кінця не з'ясований. Тому вперше було проведено дослідження, чи будуть впливати стимулятори росту на продукцію антибіотикоподібних речовин, так як в попередніх роботах показано, що енхансери із груп похідних ізохінолінів та імідазолів впливають на метаболічні процеси в клітинах [12].

Встановлено, що клінічні штами *P. aeruginosa* 27, 87 та вакцинний штам *P. aeruginosa* 66-16 мають взаємний антагонізм, а між клінічним штамом *P. aeruginosa* 15 та вакцинним штамом *P. aeruginosa* 66-16 він відсутній. Додавання стимулятора росту А із класу ізохінолінів в незначній кількості сприяло появі зон затримки росту у клініч-

ного штаму *P. aeruginosa* 15, а також збільшувало діаметри зон затримки росту у клінічних штамів 27, 87. Про те додавання енхансерів В із класу імідазолів не затримувало ріст клінічного штаму *P. aeruginosa* 15, але збільшувало діаметр зон затримки росту клінічних штамів *P. aeruginosa* 27 і 87. Комбінація енхансерів А і В із груп ізохінолінів та імідазолів сприяла збільшенню антагоністичної активності штамів *P. aeruginosa*, що проявлялося в появі зон затримки росту у клінічного штаму *P. aeruginosa* 15 та збільшенні діаметру зон затримки росту штамів *P. aeruginosa* 27 і 87.

В результаті проведених досліджень було встановлено, що енхансери із груп похідних ізохінолінів та імідазолів є стимуляторами процесу по утворенню штамми *P. aeruginosa* антибіотикоподібних речовин, які впливають на співіснування мікроорганізмів.

ВИСНОВКИ

1. Культури *P. aeruginosa* 66-16 при додаванні енхансерів із груп алостеричних активаторів циклічного аденозинмонофосфату підвищують антагоністичну активність, а інші штами не володіють цими здібностями.
2. Культури *P. aeruginosa* 66-16 та клінічні штами 27 і 87 мають взаємний антагонізм, а з клінічним штамом 15 він відсутній.

Перспективи подальших досліджень направлені на встановлення взаємного антагоністичного впливу *P. aeruginosa* по відношенню до інших мікроорганізмів та можливості протікання цих інфекцій в асоціаціях.

ЛІТЕРАТУРА

1. Порт О.В. Адгезивні та колонізаційні властивості клінічно-значущих штамів *P. aeruginosa*: Автореферат дис. ... канд. мед. наук. - Х., 2006. - 24 с.
2. Осолодченко Т.П., Порт О.В., Городницька Н.І., др. // Лаб. діагностика. - 2007. - №3(41). - С. 54-57.
3. Городницька Н.І., Мартинов А.В., Осолодченко Т.П. // Вісник Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна. Серія «Медицина». - 2008. - № 797, вип. 15. - С. 9-12.
4. Езепчук Ю.В. Патогенность как функция биомолекул. -М.: Медицина, 1985. - С. 143-156.
5. Адлова Г.П., Денисова С.В., Имиджев А.К. и др. // ЖМЭИ. - 1998. - № 1. - С. 13-17.
6. Воронина Л.И., Десенко В.Ф., Кравченко В.И. и др. Руководство к лабораторным и семинарским занятиям по биологической химии. -Х.:Основа, 1996. - С.43.
7. Симонович В.М., Головачова Н.О., Доценко В.О. ін. // Збірник наук. праць ЛНАУ. - 2008. - № 92. - С. 191-194.
8. Ашмарин В. Математические методы в биологии. -М.:Мир. - 1964. - С. 203.
9. Иванкин А.Н. Биологически активные вещества из животной ткани и микроорганизмов. Методы получения и структурно-функциональные взаимосвязи: Автореф. дис. ... докт.хим.наук. -М., 1998. - С. 39
10. M. P. Crespo, N. Woodford, A. Sinclair, et al. // J. Clin Microbiol. - 2004. - Vol. 42(11). - P. 5094-5101.
11. Aruna Jahoor, Rashila Patel, Amanda Bryan, et al. // J. Bacteriol. - 2008. - Vol. 190, № 13. - P. 4408-4415.
12. Городницька Н.І., Мартинов А.В., Осолодченко Т.П. // Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю: «Фармацевтична тех-нологія та погляд у майбутнє». -Х.: Вид-во «ФаУ», 2008. - С. 241-250.
13. Beavchann C., Fridovich I. // Anal. Biochem. - 1971. - Vol. 44. - № 1. - P. 276-287.
14. Ademoglu E., Gokkusu C., Yarman S. et al // Pharmacol. Res. - 1998. - Vol. 38. - № 2. - P. 93-96.
15. Rogelj B., Popovic T., Ritonja A. et. al // Phytochemistry. - 1998. - Vol. 49, № 6. - P. 1645-1649.
16. Pier G. B. // J. Med. Microbiol. - 2007. - № 297(5). - P. 277-295.
17. Riegel. P., R. Heller., G. Prevat // Clin. microbiol. Rev. - 2005. - Vol. 7. - P. 1107-1111.
18. Green C.M., Carroll T.P., Smith S.G. et al // J. Immunol. - 2005. - Vol. 174. - P. 1638-1646.

АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ АКТИВАТОРОВ АЛОСТЕРИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ

Т.П. Осолодченко, Н.И. Городницкая, Л.Г. Штыкер

Государственное учреждение «Институт микробиологии и иммунологии имени И.И. Мечникова АМН Украины», Харьков, Украина

РЕЗЮМЕ

В работе использовались штаммы *Pseudomonas aeruginosa*, энхансеры класса изохинолинов и имидазолов. Исследовалось действие энхансеров как в отдельности, так и в их комбинациях на антагонистическую активность *Pseudomonas aeruginosa*. В результате проведенных исследований было установлено, что при использовании активаторов аллостерических ферментов антагонистическая активность увеличивается в 2 раза. Отмечался взаимный антагонизм между клиническими штаммами *P. aeruginosa* 15, 27, 87 и вакцинными штаммами *P. aeruginosa* 66-16, который используется в производстве вакцин.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: *Pseudomonas aeruginosa*, клинические и вакцинные штаммы, энхансеры, антагонистическая активность

ANTAGONIST ACTIVITY OF *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* UNDER THE INFLUENCE OF ALLOSTERIC FERMENT ACTIVATORS

T.P. Osolodchenko, N.I. Gorodnitskaya, L.G. Shtiker

State establishment «I.I. Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of the Academy of Medical Science of Ukraine», Kharkov, Ukraine

SUMMARY

Clinic and vaccine strains of *Pseudomonas aeruginosa* and enhancers of izohinolins and imidazols class have been used for this study. The study focuses on the effect that these enhancers, both separately and in combination, have on antagonist activity of *Pseudomonas aeruginosa*. As a result of research it was proved that the use of the allosteric ferment activators increases antagonist activity of *Pseudomonas aeruginosa* twice. Reciprocal antagonism was noted between clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa* 15, 27, 87 and vaccine strain of *Pseudomonas aeruginosa* 66-16, that is used to produce a vaccines.

KEY WORDS: *Pseudomonas aeruginosa*, clinic and vaccine strains, enhancer, antagonist activity