

ВЕСЦІ

НАЦЫЯНАЛЬНАЯ АКАДЭМІЯ НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ МЕДЫЦЫНСКІХ НАВУК 2011 № 3

ИЗВЕСТИЯ

НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

СЕРИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК 2011 № 3

ЗАСНАВАЛЬНІК – НАЦЫЯНАЛЬНАЯ АКАДЭМІЯ НАВУК БЕЛАРУСІ

Часопіс выдаецца са студзеня 2004 г.

Выходзіць чатыры разы ў год

ЗМЕСТ

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА

Сидорович Р. Р., Смяеювич А. Ф. Результаты оперативных вмешательств на структурах плечевого сплетения при последствиях его травматического повреждения	5
Мойсеёнок А. Г., Пеховская Т. А., Омелянчик С. Н., Лукиенко Е. П., Коваленчик И. Л., Онуфриев М. В., Моисеева Ю. В., Лазарева Н. А., Степанович М. Ю., Гуляева Н. В. Изменение показателей редокс-сигнального каскада и их модуляция производными пантотената в мозге крыс при воспалении.	17
Никандров В. Н., Пыж А. Э. Действие неорганических соединений и оксидоредуктантов <i>in vitro</i> на гемолитическую активность патогенного штамма <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25
Кириллов В. А., Емельянова О. А., Фридман М. В. Степень агрегированности тироцитов как критерий злокачественной природы опухоли фолликулярного строения.	29
Харкевич О. Н., Семенчук В. Л., Клецкий С. К., Сахаров И. В. Анатомическое и гистологическое строение монохориальных и бихориальных плацент у беременных двойней.	35
Емельянова А. А., Якубовский С. В., Чайка Л. Д. Применение мексидола для лечения заболеваний поджелудочной железы в эксперименте.	44
Рутковская Ж. А., Котович И. Л., Таганович А. Д. Влияние гипероксии на состояние антиоксидантной системы эритроцитов у новорожденных морских свинок.	50
Турлюк Д. В., Татур А. А., Кардис В. И., Янушко В. А., Янушко А. В., Бондарев И. Г. Проблемы хирургического лечения трахео-брахиоцефального свища.	55
Висмонт А. Ф., Висмонт Ф. И. Антипиретическое действие L-валина в условиях эндотоксиновой лихорадки в эксперименте	62
Харламова А. Н., Хрыщанович В. Я., Горанов В. А., Третьяк С. И. Оптимизация выделения клеток паразитовидной железы человека	68

Мацюк Я. Р., Михальчук Е. Ч., Зинчук В. В., Горецкая М. В. Влияние урсофалька на неспецифическую резистентность и перекисное окисление липидов у крысят, родившихся в условиях холестаза (экспериментальное исследование)	73
Хотянович М. О. Разнонаправленный эффект равнодействующей силы на пролиферативную активность клеток крысиной глиомы С6 и фибробластов человека.	79
Бизунок Н. А., Дубовик Б. В., Полозов Г. И., Сорокин В. Л., Шадыро О. И. Антиоксидантный потенциал серосодержащих производных фенола на модели генерации активных форм кислорода фагоцитами	83
Стрижак И. В. Анализ поведенческой активности крыс после интраназальной аппликации эндотоксина	89
Тарасов Ю. А., Лелевич В. В., Сатановская В. И., Величко М. Г., Тарасов В. Ю. Влияние гипокортицизма на уровень эндогенного этанола в тканях крыс при введении цианамиды	94
Глазкова С. Э., Титов Л. П., Синюк К. В., Тулин С., Унемо М. Аллельное разнообразие и филогения генов домашнего хозяйства изолятов <i>N. meningitidis</i> , циркулирующих на территории Республики Беларусь	99

АГЛЯДЫ

Евстигнеев В. В., Кистень О. В. Базовые механизмы эпилептогенеза и эпилепсии	106
Девялтовская М. Г., Перцова Н. В. Применение биологической обратной связи для восстановления двигательной функции	115

ВУЧОНЫЯ БЕЛАРУСІ

Матюхин Владимир Александрович (К 80-летию со дня рождения).	120
---	-----

ИЗВЕСТИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ 2011 № 3

Серия медицинских наук

на русском, белорусском и английском языках

Тэхнічны рэдактар М. В. Савіцкая

Камп'ютарная вёрстка Л. В. Харытонава, Л. І. Кудзёрка

Здадзена ў набор 21.07.2011. Падпісана ў друк 18.08.2011. Выхад у свет 24.08.2011. Фармат 60×84¹/₈. Папера афсетная. Ум. друк. арк. 14,88. Ул.-выд. арк. 16,4. Тыраж 57 экз. Заказ 195.

Кошт нумару: індывідуальная падпіска – 19 380 руб., ведамасная падпіска – 49 174 руб.

Рэспубліканскае ўнітарнае прадпрыемства «Выдавецкі дом «Беларуская навука». ЛІ № 02330/0494405 ад 27.03.2009. Вул. Ф. Скарыны, 40, 220141, г. Мінск. Пасведчанне аб рэгістрацыі № 393 ад 18.05.2009.

Надрукавана ў РУП «Выдавецкі дом «Беларуская навука».

© Выдавецкі дом «Беларуская навука»
Весці НАН Беларусі, серыя медыцынскіх навук, 2011

УДК 612.822:576.535:577.322.5

В. Н. НИКАНДРОВ¹, А. Э. ПЫЖ²

**ДЕЙСТВИЕ НЕОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ И ОКСИДОРЕДУКТАНТОВ
IN VITRO НА ГЕМОЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ПАТОГЕННОГО ШТАММА
*PSEUDOMONAS AERUGINOSA***

¹Институт физиологии НАН Беларуси, Минск,

²Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии,
Минск, Беларусь

(Поступила в редакцию 18.04.2011)

Введение. *Pseudomonas aeruginosa* – один из наиболее частых возбудителей нозокомиальных инфекций, характеризующихся тяжелым течением и высокой летальностью. По данным Национальной системы контроля за нозокомиальными инфекциями США (NNIS), *P. aeruginosa* – самый частый возбудитель нозокомиальной пневмонии, один из ведущих возбудителей инфекций мочевыводящих путей и хирургических инфекций [1, 2]. При хроническом инфицировании легких *P. aeruginosa* практически невозможно добиться эрадикации инфекции доступными антибиотиками [3]. При псевдомонадной бактериемии летальность достигает 18–39% [4]. В связи с высокой летальностью при нозокомиальных псевдомонадных инфекциях стратегическое значение имеет адекватная антибактериальная терапия. Промедление с ее назначением ведет к увеличению летальности [5]. Однако большинство штаммов *P. aeruginosa*, выделяемых у больных в отделениях реанимации и интенсивной терапии, полирезистентны [6]. В настоящее время не являются редкостью и панрезистентные штаммы синегнойной палочки – описаны вспышки нозокомиальных инфекций, вызванных такими штаммами [7].

Разработку эффективных средств борьбы с инфекциями, обусловленными вирулентными псевдомонадами, существенно осложняет их чрезвычайно высокая резистентность к воздействию ряда факторов внешней среды, неблагоприятных для других микроорганизмов. Поэтому особое значение приобретает подавление образования и активности факторов патогенности данных микроорганизмов. Представления о наборе таких факторов и их патогенетическом значении также остаются далекими от полной ясности.

Среди факторов патогенности штаммов *P. aeruginosa* важное место занимают протеиназы и гемолизины [8]. Однако природа и закономерности образования гемолизин псевдомонад до сих пор являются предметом дискуссий. Так, различают гемолизины термолабильный – фосфолипазу С и термоустойчивый – рамнолипид, появляющийся в старых культурах в результате автолиза [9]. Ранее мы сообщали о наличии у ряда патогенных штаммов микроорганизма внеклеточной терморезистентной гемолитической активности, отличавшейся по своим свойствам от таковой рамнолипида [10]. Позднее было установлено, что эта гемолитическая активность обусловлена пигментами псевдомонад – пиовердином и пиоцианином (принципиально новое свойство этих пигментов, неизвестное ранее) [11, 12]. Эта гемолитическая активность пигментов полностью подавлялась специфическим перехватчиком супероксидного радикала – нитротетразолиевым синим [12]. Однако последний, являясь дефицитным и дорогостоящим реактивом, вызывающим гибель клеток, не относится к разряду фармацевтических препаратов. Это делает невозможным использование нитротетразолиевого синего в качестве ингибитора гемолизинов *P. aeruginosa* для лечебных целей. В мировой же литературе отсутствуют данные о действии лекарственных средств на гемолитическую активность *P. aeruginosa*.

Цель настоящей работы – изучить влияние ряда фармацевтических препаратов и хинона на активность уже образовавшихся внеклеточных гемолитических субстанций госпитального штамма *P. aeruginosa* в динамике развития культуры на жидкой питательной среде.

Материалы и методы исследования. Исследования проведены на штамме 23/2_{гоб2} (любезно предоставленном сотрудниками ЦНИЛ Белгосмедуниверситета), отличающимся от других штаммов рабочей коллекции быстрым ростом на питательных средах и высокой гемолитической активностью: 0,6%-ная суспензия эритроцитов барана полностью лизировалась под действием 0,5 мл культуральной жидкости в течение 3 мин [12].

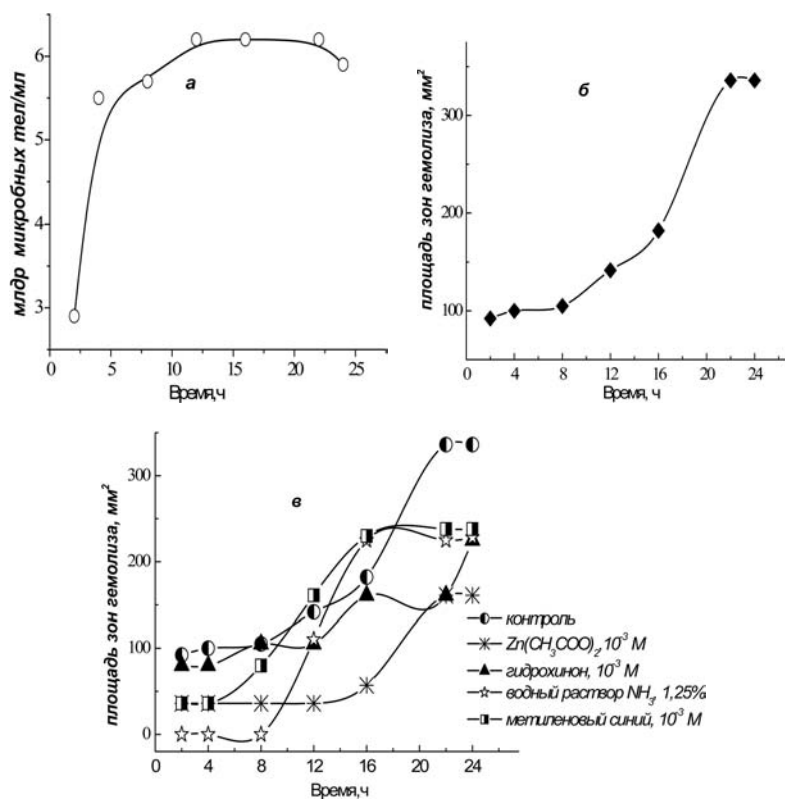
Культуру микроба поддерживали на мясопептонном агаре (*Himedia*, Индия), затем проводили периодическое культивирование в колбах Эрленмейера с питательным бульоном (ГРМ-бульон, НПО «Питательные среды», Махачкала) в течение суток на термостатируемой качалке при $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$. В процессе роста в аликвотах культуральной жидкости учитывали рост биомассы турбидиметрически по величине абсорбции 600 нм.

Биомассу отделяли путем центрифугирования, для определения гемолитической активности использовали супернатанты. Гемолитическую активность определяли на эритроцитарном агаре [13] по площади зон гемолиза и выражали в мм^2 .

В качестве эфффекторов использовали гидрохинон, метиленовый синий, CuSO_4 , CaCl_2 и $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ в концентрации 10^{-3} М, 0,05%-ный спиртовой раствор йода (I_2), 1,25%-ный водный раствор аммиака (нашатырный спирт), аскорбиновую кислоту (10^{-5} М), которые вносили в эритроцитарный агаровый гель.

Все эксперименты выполнены не менее чем четырехкратно. Результаты обработаны с использованием статистического модуля непараметрической статистики программы Statistica 6.0.

Результаты и их обсуждение. Сопоставление динамики нарастания биомассы и гемолитической активности показало, что интенсивное повышение уровня гемолитической активности происходит уже через 8 ч – в стационарную фазу развития микробной культуры (см. рисунок, а, б). Между тем максимальная удельная скорость накопления фосфолипазы С отмечена нами через 3 ч, тогда как в стационарной фазе основной вклад в гемолитическую активность вносили накапливающиеся пигменты – пиоцианин и пиовердин [14].



Накопление биомассы (а), гемолитической активности (б) и влияние различных соединений на гемолитическую активность супернатантов культуральной жидкости (в) штамма 23/2_{гоб2} *in vitro* в динамике роста культуры

Добавление к бесклеточным супернатантам культуры исследуемого штамма водного раствора аммиака вызвало полное подавление гемолитической активности на протяжении первых 8 ч роста культуры (см. рисунок, в). Через 12 ч от начала роста водный раствор аммиака угнетал гемолитическую активность лишь на 17%, а через 22–24 ч этот эффект возрастал до 37% ($P < 0,05$). Это позволяет предположить, что подавление данным препаратом гемолитической активности обусловлено в большей мере воздействием на активность фосфолипазы.

В отличие от этого, ацетат цинка на протяжении первых 16 ч роста культуры подавлял гемолитическую активность супернатантов на 70%, а через 22–24 ч этот эффект составил 52% ($P < 0,05$).

Промежуточное положение занимали оксидоредуктанты – метиленовый синий и гидрохинон. В начальный период роста (через 2–4 ч) метиленовый синий и гидрохинон вызывали снижение гемолитической активности супернатантов на 65 и 25% соответственно, супернатантов 22–24-часовой культуры – на 31 и 55% соответственно.

Лишь добавление к супернатантам спиртового раствора йода (I_2) вызвало полное подавление гемолитической активности супернатантов на всем протяжении роста культуры этого штамма псевдомонад (не показано).

Хлорид кальция снижал гемолитическую активность (в пределах 15%) на протяжении всего периода роста микробной культуры. Аналогичный эффект регистрировали и в экспериментах с аскорбиновой кислотой, тогда как сульфат меди подавлял гемолитическую активность на 30% лишь в стационарной фазе, т. е. начиная уже с 12 ч (не показано).

Таким образом, отдельные из исследованных нами фармацевтических препаратов (спиртовой раствор йода, водный раствор аммиака, метиленовый синий) способны в значительной мере угнетать гемолитическую активность супернатантов бульонной культуры патогенного штамма *P. aeruginosa* 23/2_{гоб2}. Эффект зависел от фазы роста культуры и применяемого препарата (за исключением йода). Причины неоднотипного эффекта препаратов в динамике роста культуры обусловлены разным вкладом в общую гемолитическую активность фосфолипазы и сине-зеленых пигментов. Причем и гидролаза, и пигменты (особенно пиовердин) ввиду присущей им молекулярной гетерогенности на разных стадиях роста культуры могут существовать в различных молекулярных формах. Полученные результаты позволили нам предложить способы ингибирования внеклеточных гемолизинов патогенных штаммов *P. aeruginosa* [15–18].

Заключение. Изложенные результаты однозначно свидетельствуют о возможности подавления уже образовавшихся гемолитических субстанций патогенных псевдомонад отдельными фармацевтическими препаратами, не относящимися в группе антибиотиков. Это диктует необходимость дальнейших исследований в направлении расширения спектра фармацевтических препаратов, а также необходимость выяснения действия таковых на образование культурами патогенных штаммов псевдомонад гемолитических субстанций и на способность подобных штаммов адаптироваться к фармацевтическим препаратам.

Литература

1. Richards M. J., Edwards J. R., Culver D. H. et al. // Crit. Care Med. 1999. Vol. 27, N 5. P. 887–892.
2. Rossolini G. M., Mantengoli E. // Clin. Microbiol. Infect. 2005. Vol. 11. Suppl. 4. P. 17–31.
3. Mugabe C., Azghani A. O., Omri A. // J. Antimicrob. Chemother. 2005. Vol. 55, N 2. P. 269–271.
4. Kang C. I., Kim S. H., Kim H. B. et al. // Clin. Infect. Dis. 2003. Vol. 37. P. 745–751.
5. Micek S. T., Lloyd A. E., Ritchie D. J. et al. // Anti-microb. Agents Chemother. 2005. Vol. 49. P. 1106–1111.
6. Mesaros N., Nordmann P., Plesiat P. et al. // Clin. Microbiol. Infect. 2007. Vol. 13. P. 560–578.
7. Wang C. Y., Jermg J. S., Cheng K. Y. et al. // Clin. Microbiol. Infect. 2006. Vol. 12. P. 63–68.
8. Синегнойная инфекция / Под ред. А. Ф. Мороз. М., 1988.
9. Berk R. S. // J. Bacteriol. 1962. Vol. 84. P. 1041–1048.
10. Пыж А. Э., Никандров В. Н. // Тр. Нац. науч.-исслед. ин-та мед. профилактики Минздрава Респ. Азербайджан. Баку, 2007. Т. 1. С. 196–202.
11. Никандров В. Н., Пыжова Н. С., Пыж А. Э. // Совершенствование осуществления государственного санитарного надзора в Республике Беларусь: материалы XI съезда гигиенистов и эпидемиологов Респ. Беларусь. Минск, 2007. С. 205–211.

12. Н и к а н д р о в В. Н., П ы ж о в а Н. С., П ы ж А. Э. // Материалы Междунар. Евро-Азиат. конгр. по инфекц. болезням. Т. I: Актуальные вопросы инфекционной патологии. Витебск, 2008. С. 24–26.
13. Е в ч е н к о Т. А., Л ю т о в А. Г., А л е ш к и н В. А. // Актуальные вопросы разработки, производства и применения иммунобиологических и фармацевтических препаратов: материалы конф. Уфа, 2000. Ч. 1. С. 148–152.
14. П ы ж А. Э., Н и к а н д р о в В. Н. // Новости мед.-биол. наук. 2009. № 3. С. 70–75.
15. Н и к а н д р о в В. Н., П ы ж А. Э. // Заявка на изобрет. № a20090967 от. 30.06.2009.
16. Н и к а н д р о в В. Н., П ы ж А. Э. // Заявка на изобрет. № a20090968 от. 30.06.2009.
17. Н и к а н д р о в В. Н., П ы ж А. Э. // Заявка на изобрет. № a20091000 от. 06.07.2009.
18. Н и к а н д р о в В. Н., П ы ж А. Э. // Заявка на изобрет. № a20091001 от. 06.07.2009.

V. N. NIKANDROV¹, A. E. PYZH²

**EFFECT OF INORGANIC COMPOUNDS AND OXYDOREDUCTANS
ON HEMOLYTIC ACTIVITY OF *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* PATHOGENIC STRAIN *IN VITRO***

¹Institute of Physiology of NAS of Belarus, Minsk,

²Republican Scientific-Practical Center of Epidemiology and Microbiology, Minsk, Belarus

Summary

The effect of additions of 10^{-3} M of hydroquinone, methylene blue, CuSO_4 , CaCl_2 and $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$; 0.05% spirituous iodine solution, 1.25% ammonia aqueous solution, 10^{-5} M of ascorbate on the synthesized hemolytic activity of cultural fluid supernatants of *Pseudomonas aeruginosa* strain 23/2_{gob2} was studied. Some peculiarities of these drugs were manifested. The strong inhibitory properties of the 0.05% spirituous iodine solution were demonstrated. The obtained results demonstrated the possibility of suppression haemolysins of pathogenic Pseudomonads by pharmaceutical preparations except antibiotics.