

УДК 615.282.576.5

О. О. Гончар, О. А. Назарчук, Д. В. Палий, І. В. Коваленко, О. В. Яцула, В. М. Буркот
 Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, м. Вінниця

ДОСЛІДЖЕННЯ ДІЇ ДЕКАМЕТОКСИНУ ТА ЙОГО ЛІКАРСЬКИХ ФОРМ НА АДГЕЗІЮ БАКТЕРІЙ

В роботі наведені нові дані щодо дії лікарських антисептичних препаратів декаметоксину® аурідексану, горостену®, декасану® на адгезивні властивості штамів стафілококів і ешерихій. Встановлено, що на адгезію *S. aureus* та *E. coli* суттєво впливали відповідні мінімальні бактеріостатичні та бактерицидні концентрації декаметоксину® (0,48–1,90 мкг/мл; 1,90–15,20 мкг/мл); аурідексану та горостену® (0,96–7,60 мкг/мл; 3,80–15,20 мкг/мл); декасану® (1,90–3,80 мкг/мл; 3,80–15,20 мкг/мл), які можуть забезпечити надійний профілактичний та лікувальний ефект.

Ключові слова: адгезія, стафілококи, ешерихії, декаметоксин®, аурідексан, горостен®, декасан®.

Інфекційні захворювання розглядають як результат взаємодії збудників з клітинами організму хазяїна. Відомо, що однією з ранніх стадій інфекційного процесу є адгезія збудника в тканинах. Адгезія та колонізація служать пусковими механізмами інфекційного процесу. Мікроорганізми, активно долаючи природні захисні бар'єри макроорганізму, прикріплюються до поверхні клітин шкіри, слизових оболонок за допомогою адгезинів, що взаємодіють з клітинами макроорганізму. Специфічна адгезія відбувається внаслідок молекулярної взаємодії між адгезинами мікробної клітини та рецепторами клітин господаря (ліганд-рецепторна взаємодія). Адгезини належать до поверхневих структур мікробних клітин, до складу яких входять макромолекули лектинів, протеїнів і здатні зв'язувати карбогідрати. Рецептори адгезинів знаходяться на поверхні клітин у вигляді білкових фрагментів [4].

У грамнегативних мікроорганізмів адгезини входять до складу ворсинок, фімбрій, пілей. Їх називають фімбріальними адгезинами. Грампозитивні бактерії здійснюють адгезію за допомогою афімбріальних адгезинів. Структура афімбріальних адгезинів представлена білковими молекулами, що тісно зв'язані з цитоплазматичною мембраною бактеріальної клітини. Рецепторами для адгезинів грампозитивних бактерій є фібронектин, білки міжклітинного матриксу. Мікроорганізми прилипаючи, колонізують епітелій дихальних шляхів, кишкового тракту, сечовидільної системи. В процесі інфекційного ураження адгезини мікроорганізмів запускають патологічний процес, розмноження збудників у тканинах [5].

Оскільки провідна роль в здійсненні взаємодії мікроорганізмів із мішенями належить процесам міжмембранної адгезивної взаємодії, науковці зосереджують увагу на вивченні адгезії для вдосконалення нових методів діагностики, лікування, профілактики інфекційних захворювань. Відомо, що протимікробні лікарські засоби діють на структурні елементи клітинної стінки мікроорганізмів. Їх називають адгезинами. Доведено, що лікарські антисептичні препарати локалізують збудники в рані; гальмують їх проникнення в кров і лімфу; блокують адгезію мікроорганізмів до клітин ранового ложа; пригнічують патогенність, гальмують проникнення, розмноження бактерій в тканинах пацієнтів. Антисептики можуть блокувати адгезію мікроорганізмів і суттєво впливати на перебіг інфекційного процесу в організмі людини. Пошук протимікробних засобів, які суттєво впливають на адгезію збудників захворювань продовжується та залишається актуальним і важливим [1, 2, 3].

Метою роботи було дослідити вплив декаметоксину®, аурідексану, горостену®, декасану® на адгезивну здатність стафілококів, ешерихій.

Матеріал та методи дослідження. В якості тест-мікроорганізмів використовували музейні штами *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* 27; *E. coli* M-17, *E. coli* ATCC 25922. Для дослідження застосовували лікарські антисептичні препарати декаметоксин® (ДКМ®) аурідексан (АД), горостен® (ГС®), декасан® (ДС®). Вплив бактеріостатичних (МБСК) і бактерицидних (МБЦК) доз досліджували у ДКМ®, АД, ГС®, ДС® на адгезію клітин *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* 27, *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* M-17.

Дослідження адгезивних властивостей мікроорганізмів проводили за загальноприйнятою методикою з використанням формалінованих еритроцитів людини О (І) групи Rh (+). Еритроцити застосовували в якості універсальної моделі. Вони несуть на своїй поверхні глікофорин – речовину ідентичну глікокаліксу епітеліальних клітин. Під мікроскопом на 100 еритроцитах розраховували індекс адгезивності мікроорганізмів (ІАМ) – кількість адгезованих клітин стафілококу, кишкової палички на одному еритроциті, що приймав участь в адгезії. Суттєвими вважали відмінності, які відрізнялись від контролю на 20 %. В контрольних дослідах

встановлено участь в адгезії еритроцитів (100%) О (I) групи Rh (+). В дослідях вивчали дію мінімальних бактериостатичних концентрацій; мінімальних бактерицидних концентрацій ДКМ®, аурідексану, горостену®, декасану®. Показник адгезії в контрольній системі (інтактні клітини) приймали за 100%. Ступінь адгезії в присутності ДКМ®, АД, ГС®, ДС®, СФ підраховували відносно контролю [1, 2].

Результати дослідження та їх обговорення. Бактерії можуть прикріплюватися до клітин макроорганізму завдяки наявності пілей, лектиноподібних структур, водневих зв'язків, сил Ван-дер-Ваальса, а також електростатичної взаємодії. Лікарські антисептичні засоби мають властивість інактивувати біохімічні, фізіологічні процеси мікроорганізмів. Антимікробні препарати здатні порушувати життєдіяльність збудників інфекційних захворювань завдяки ефективним механізмам впливу. Зокрема, вони спричиняють порушення структури клітинної стінки, цитоплазматичної мембрани та структур, які приймають участь в адгезії мікроорганізмів; порушенні синтезу білка в рибосомах; блокуванні процесів метаболізму в збудників; порушенні реплікації, синтезу нуклеїнових кислот в клітинах мікроорганізмів. На підставі результатів досліджень встановлено, що ДКМ®, АД, ГС®, ДС® в різних МБсК, МБцК суттєво діяли на адгезивну здатність стафілококів, ешерихій (табл. 1 – 4).

Таблиця 1

Показники дії ДКМ® на адгезію стафілококів, ешерихій

Мікро-організми	Контроль			Дослід (МБсК)				Дослід (МБцК)			
	Кількість бактерій на 100 еритроц.	IAM*	%	Доза препарату, мкг/мл	Кількість бактерій на 100 еритроц.	IAM*	%	Доза препарату, мкг/мл	Кількість бактерій на 100 еритроц.	IAM*	%
S. aureus ATCC 25923	518	5,18	100	0,96	310	3,10	59,84	1,90	136	1,36	26,25
S. aureus 27	517	5,17	100	0,48	298	2,98	57,64	3,80	126	1,26	24,37
E. coli ATCC 25922	524	5,24	100	1,90	358	3,58	68,32	7,60	128	1,28	24,42
E. coli M-17	526	5,26	100	3,80	348	3,48	66,15	15,20	116	1,16	22,05

*- кількість адгезованих клітин стафілококу, кишкової палички на одному еритроциті, який приймав участь в адгезії

Таблиця 2

Показники дії аурідексану на адгезію стафілококів, ешерихій

Мікро-організми	Контроль			Дослід (МБсК)				Дослід (МБцК)			
	Кількість бактерій на 100 еритроц.	IAM*	%	Доза препарату, мкг/мл	Кількість бактерій на 100 еритроц.	IAM*	%	Доза препарату, мкг/мл	Кількість бактерій на 100 еритроц.	IAM*	%
S. aureus ATCC 25923	520	5,20	100	1,90	295	2,95	56,73	7,60	120	1,20	23,07
S. aureus 27	528	5,28	100	0,96	300	3,0	56,81	7,60	126	1,26	23,86
E. coli ATCC 25922	510	5,10	100	3,80	320	3,20	62,74	15,20	108	1,08	21,17
E. coli M-17	518	5,18	100	3,80	314	3,14	60,61	15,20	110	1,10	21,23

*- кількість адгезованих клітин стафілококу, кишкової палички на одному еритроциті, який приймав участь в адгезії

Таблиця 3

Показники дії горостену® на адгезію стафілококів, ешерихій

Мікроорганізми	Контроль			Дослід (МБсК)				Дослід (МБцК)			
	Кількість бактерій на 100 еритроц.	IAM*	%	Доза препарату, мкг/мл	Кількість бактерій на 100 еритроц.	IAM*	%	Доза препарату, мкг/мл	Кількість бактерій на 100 еритроц.	IAM*	%
S. aureus ATCC 25923	510	5,10	100	0,96	280	2,80	54,90	7,60	186	1,86	36,47
S. aureus 27	515	5,15	100	0,96	296	2,96	57,48	7,60	194	1,94	37,66
E. coli ATCC 25922	496	4,96	100	3,80	266	2,66	53,62	15,20	158	1,58	31,85
E. coli M-17	488	4,88	100	3,80	270	2,70	55,32	15,20	164	1,64	33,60

*- кількість адгезованих клітин стафілококу, кишкової палички на одному еритроциті, який приймав участь в адгезії

Показники дії декасану® на адгезію стафілококів, ешерихій

Мікро-організми	Контроль			Дослід (МБсК)			Дослід (МБцК)				
	Кількість бактерій на 100 еритроц.	IAM*	%	Доза препарату, мкг/мл	Кількість бактерій на 100 еритроц.	IAM*	%	Доза препарату, мкг/мл	Кількість бактерій на 100 еритроц.	IAM*	%
S. aureus ATCC 25923	500	5,0	100	1,90	298	2,98	59,60	3,80	114	1,14	22,80
S. aureus 27	496	4,96	100	1,90	290	2,90	58,46	3,80	110	1,10	22,17
E. coli ATCC 25922	396	3,96	100	3,80	310	3,10	78,28	15,20	105	1,05	26,51
E. coli M-17	389	3,89	100	3,80	296	2,96	76,09	15,20	103	1,03	26,48

*- кількість адгезованих клітин стафілококу, кишкової палички на одному еритроциті, який приймав участь в адгезії

В контрольних дослідах клітини грампозитивних (стафілокок), грамнегативних (ешерихії) бактерій в 100% адгезувались на формалінованих еритроцитах людини. Доведено, що в присутності МБсК антисептиків відсоток адгезованих бактеріальних клітин стафілококів зменшився в присутності ДКМ®(0,48 – 0,96 мкг/мл) на 57,64 – 63,07 % відповідно; в присутності аурідексану (0,96 – 1,9 мкг/мл) на 56,73 – 56,87 % відповідно; в присутності горостену® (0,96 мкг/мл) на 53,87 – 57,48 % відповідно, в присутності декасану® (1,9 мкг/мл) 58,46 – 59,60 % відповідно. Встановлено, що в присутності мінімальних бактериостатичних концентрацій лікарських препаратів відсоток бактеріальних клітин ешерихій, стафілококів суттєво зменшився у присутності ДКМ® (3,8 мкг/мл) на 31,68 – 42,36 % відповідно; аурідексану (3,8 мкг/мл) на 37,26 – 43,27 % відповідно; горостену® (3,8 мкг/мл) на 42,52 – 46,38 % відповідно; декасану® (3,8 мкг/мл) на 21,72 – 41,54 % відповідно (табл. 1 – 4).

Доведено, що мінімальні бактерицидні концентрації лікарських антибактеріальних препаратів значно інтенсивніше пригнічували адгезивний процес ешерихій в наступних межах. В присутності ДКМ® (7,5 – 15,2 мкг/мл) пригнічували адгезію ешерихій на 22,05 – 24,42 %), аурідексан 15,2 мкг/мл (21,17 – 21,23 %), горостен® (15,2 мкг/мл) на 31,85 – 33,6 %, декасан® (15,2 мкг/мл) 26,48 – 26,51 % відповідно. Найнижчий відсоток адгезованих бактерій визначили в присутності мінімальних бактерицидних концентрацій аурідексану.

Висновок

Антисептичний препарат ДКМ®, його лікарські форми (АД, ГС®, ДС®) ефективно діють на адгезію стафілококів, ешерихій. Доведено, що ДКМ®, АД, ГС®, ДС® в досліджуваних МБсК (0,48 – 3,8 мкг/мл), МБцК (7,6 – 15,2 мкг/мл) забезпечують потужну дію на адгезію бактерій, що може забезпечити високий профілактичний, лікувальний ефект в процесі застосування цих лікарських протимікробних засобів.

Список літератури

1. Жорняк О. І. Вплив антисептичних препаратів на адгезивні властивості мікроорганізмів / О. І. Жорняк, О. К. Стукан // Буковинський медичний вісник. – 2010. – Т. 14, № 4. – С. 122-124.
2. Жорняк О. І. Дія антисептичних засобів на патогенні механізми бактерій / О. І. Жорняк, О. К. Стукан, В. В. Сухляк // Annals of Mechnikov Institute. – 2010. – № 4. – С. 53 – 58.
3. Ковальчук В. П. Доклінічне вивчення ефективності нових адгезивних лікарських засобів для протимікробного захисту полімерних виробів медичного призначення / В. П. Ковальчук, В. М. Кондратюк, Д. І. Гадлевська // Ліки – людині : Сучасні проблеми створення, дослідження та апробації лікарських засобів : Матеріали XXVI наук.-практ. конф. з міжнародною участю, 12 бер. 2009 р. : тези доп. – Х., - 2009. – С. 47.
4. Мавзютов А. Р. Факторы патогенности оппортунистических энтеробактерий и их роль в развитии диареи / А. Р. Мавзютов, В. М. Бондаренко, Н. Ю. Жеребцова [и др.] // Журнал микробиологии. – 2007. – № 1. – С. 89 – 97.
5. Мироненко Л. Г. Адгезивні властивості ентерококів, ізольованих від хворих на нейрохірургічну патологію / Л. Г. Мироненко, О. Г. Перетятко, І. С. Великий // Вісник проблем біології і медицини. – 2012. – Вип. 4. – Т. 1, № 96. – С. 180 – 183.

Реферати

ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ ДЕКАМЕТОКСИНА И ЕГО ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ НА АДГЕЗИЮ БАКТЕРИЙ

Гончар О. О., Назарчук А. А., Палий Д. В., Коваленко І. В., Яцула О. В., Буркот В. М.

В работе приведены новые данные в отношении действия лекарственных антисептических препаратов декаметоксина® аурідексана, горостена®, декасана® на

THE RESEARCH OF THE ACTIVITY OF DECAMETHOXIN AND ITS MEDICINAL FORMS ON ADHESION OF BACTERIA

Gonchar O. O., Nazarchuk O. A., Paliy D. V., Kovalenko I. V., Yatsula O. V., Burkot V. M.

In the research there were presented the new data of activity of antiseptic remedies decamethoxin®, auridexan, horosten®, decasan® on adhesive qualities of strains of

адгезивные свойства штаммов стафилококков и эшерихий. Установлено, что на адгезию *S. aureus* и *E. coli* существенно влияют соответствующие минимальные бактериостатические и бактерицидные концентрации декаметоксина® (0,48–1,90 мкг/мл; 1,90–15,20 мкг/мл); ауридексана та горостена® (0,96–7,60 мкг/мл; 3,80–15,20 мкг/мл); декасана® (1,90–3,80 мкг/мл; 3,80–15,20 мкг/мл), которые могут обеспечить надежный профилактический и лечебный эффект.

Ключевые слова: адгезия, стафилококки, эшерихии, декаметоксин®, ауридексан, горостен®, декасан®.

Стаття надійшла 4.09.2015 р.

Staphylococcus and *Escherichia*. It was found, that minimal bacterial inhibitory and cidal concentrations of decamethoxin® (0,48–1,90 мкг/мл; 1,90–15,20 мкг/мл); auridexan and horosten® (0,96–7,60 мкг/мл; 3,80–15,20 мкг/мл); decasan® (1,90–3,80 мкг/мл; 3,80–15,20 мкг/мл) influence on adhesion of *S. aureus* and *E. coli*, though these medicines can provide reliable prophylactic and therapeutic effect.

Key words: adhesion, *Staphylococcus*, *Escherichia*, decamethoxin®, auridexan, horosten®, decasan®.

Рецензент Лобань Г.А.

УДК 547.495.9: 615.225: 661.982

С. В. Горбачева, И. Ф. Белевич
Запорожский государственный медицинский университет, г. Запорожье

ПОКАЗАТЕЛИ ТИОЛ-ДИСУЛЬФИДНОЙ СИСТЕМЫ И НИТРОЗАТИВНОГО СТРЕССА В НЕЙРОНАХ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ ГЛУТАМАТНОЙ ЭКСАЙТОТОКСИЧНОСТИ IN VITRO И НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ ИНГИБИТОРОВ NOS РАЗЛИЧНОЙ СЕЛЕКТИВНОСТИ

Анализ результатов показал наличие слабо выраженного эффекта в отношении ограничения NO-зависимых механизмов нейродеструкции у используемых ингибиторов NO-синтазы, который проявлялся только на начальных этапах развития глутаматной эксайтотоксичности. Внесение в инкубационную среду N-пропил-L-аргинина вызывало существенное снижение проявлений нитрозативного стресса и его эффект был более продолжительным. Полученные данные указывают на ограниченное значение нейрональной изоформы NO-синтазы в реакциях глутамат-кальциевого каскада. Более существенная роль в патобиохимических реакциях в данных условиях принадлежит индуцибельному изоферменту, ингибиторы которого целесообразно применять в восстановительном периоде церебральной ишемии.

Ключевые слова: ингибиторы NO-синтазы, тиол-дисульфидная система, нитрозативный стресс, глутаматная эксайтотоксичность

Работа является фрагментом НИР «Молекулярно-биохимические механизмы формирования митохондриальной дисфункции нейронов головного мозга в условиях острой церебральной ишемии: новые мишени для нейропротекции» (№ гос. регистрации 0113, шифр U000797).

Последствия циркуляторной ишемии мозга, степень ее повреждающего действия зависят от степени тяжести и длительности снижения церебральной гемодинамики. Основным патобиохимическим процессом, который разворачивается на фоне гипоксии ткани головного мозга, является глутамат-кальциевый каскад, разворачивающийся в первые минуты и часы сосудистого инцидента. Активные формы кислорода (АФК) образуются на всех этапах глутамат-кальциевого каскада, но большинство исследователей ведущую роль в индукции АФК при ишемии мозга отводят глутамат- и аспартатергическим системам. Так, активация NMDA-рецепторов на постсинаптической мембране глутаматергического синапса приводит к увеличению внутриклеточного Ca²⁺ и продукции АФК (супероксидрадикала, гидроксилрадикала, NO-радикала). В этих нейронах происходит активация Ca-зависимой нейрональной NO-синтазы, что приводит, во-первых, к гиперпродукции NO, а во-вторых, в условиях дефицита субстрата NO-синтазы – L-аргинина – к образованию супероксид-радикала и гидроксил-радикала. При взаимодействии супероксид-радикала и NO образуется более агрессивная молекула – пероксинитрит (ONOO–), который вызывает повреждение макромолекул [2].

Более существенная роль в образовании NO и ONOO– в условиях нейродеструкции принадлежит индуцибельной NO-синтазе, которая менее зависима от Ca²⁺ и экспрессируется в глиальных клетках под действием различных цитокинов (IL-1β, TNF-α, HIF-1) и регулируется факторами транскрипции (NFκB, JNK). Усиление образования АФК в ишемизированном мозге происходит при снижении функциональной активности антиоксидантной системы нейрона [12]. Наибольшее значение в защите нейрона в условиях ишемии имеет супероксиддисмутаза (СОД), каталаза, глутатионредуктаза, соединения, которые содержат тиольные группы (цистеин, метионин и цистин), а также гистидиносодержащие дипептиды (карнозин, анзерин, гомокарнозин) [3]. Наиболее легко окисляются АФК сульфгидрильные группы в цистеине и метионине с образованием сульфоновых и дисульфидных групп. Этот вид модификации является обратимым и его обращение зависит от энергетического потенциала клетки и наличия в ней восстановленных