

придає актуальність вибраної нами теми.

Цель работы – определить возможность использования растений-салицилатов как природных заменителей ацетилсалициловой кислоты с целью профилактики тромбоза. В результате проведенных исследований было установлено, что природные салицилаты значительно меньше влияют на активацию тромбоцитов и скорость свертывания крови, чем аспирин. Учитывая тот факт, что концентрации природных салицилатов в плазме крови расщепляются медленнее, чем аспирин, а выводятся из организма скорее, рассматривать растительные экстракты как профилактические протитромбозні средства невозможно. Следует также обратить внимание на то, что салицилаты – это лишь часть биологически активных веществ, входящих в состав растительного сырья. Влияние растительных экстрактов на организм обусловлено совокупным действием всех веществ, входящих в его состав. Не исключена также возможность усиления процессов свертывания крови. Об этом свидетельствуют результаты исследований крови отдельных животных, где наблюдалось не повышение, а, наоборот, уменьшение времени капиллярного кровотечения и времени свертывания крови до самых низких показателей в пределах нормы. Учитывая отсутствие изменений показателей сосудисто-тромбоцитарного гемостаза у животных, принимавших салицилаты растительного происхождения можно сделать вывод, что салицилаты растительного происхождения имеют незначительное и разнонаправленное влияние на сосудисто-тромбоцитарный гемостаз и не могут быть использованы как полноценные природные заменители ацетилсалициловой кислоты с целью профилактики тромбоза у человека.

**Ключевые слова:** ацетилсалициловая кислота, салицилатов, сосудисто-тромбо-цитарний гемостаз.

Стаття надійшла 10.03.2017 р.

salicylates as natural replacers of acetylsalicylic acid for thrombosis prevention. Investigations object and methods. Comparative analysis of plant-originated and chemically-produced salicylates influence was performed by control experiments establishment on the Rabbits domestic of a Silver breed. 3 groups were differed: the 1st control group had a standard feeding ration, the 2nd experiment group all juicy feeds were represented by potatoes with daily adding the acetylsalicylic acid fresh solution while the 3rd investigation group animals ration was comprised as vegetables and root crops containing natural salicylates – carrots, cabbage, beetroot. Daphne willow White fresh branches were introduced in their ration as natural salicylates major source. We determined capillary bleeding duration by Duke method as well as a whole blood coagulation time and fibrin thread by Biurker's method. All indices testify that blood coagulation time as well as fibrin – fibrinogen nonsolved form – formation time got increased. Aspirin action effect becomes visible already in a week of taking. Average-statistical indices remained stable in the limits of norm but one could observe the changes from minimal to maximal indices in the animals of the 3rd experimental group. It is possible to conclude while assessing the difference between examined rabbits both groups indices by mean of non-parametric statistic criterium Mann-Weetney's that difference between indices of capillary bleeding duration time and fibrin thread formation time in the rabbits of the 2nd and the 3rd experimental groups is a valuable at  $p=0.05$  variability level (wrong results variability comprises 5%). That is why it is possible to say by sure that that ending indices of capillary bleeding duration time and fibrin thread formation time differ much between the second and the third experimental groups (the second one indices are higher).

**Key words:** acetylsalicylic acid, salicylates, vascular thrombo-tsytarnyy hemostasis.

Рецензент Запорожець Т.М.

УДК 579.22:579.262:616.3–008.8–092.9

Д. О. Степанський, Г. М. Кременчуцький, І. П. Кошова  
ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпропетровськ

### ВПЛИВ АУТОСИМБІОНТІВ AEROCOCCUS VIRIDANS НА CLOSTRIDIUM PERFRINGENS, ЩО МЕШКАЮТЬ В КИШЕЧНИКУ МИШЕЙ

В даній роботі було досліджено антагоністичні властивості аутосимбіонтних *Aerococcus viridans* по відношенню до *Clostridium perfringens*, що природно мешкають в кишечнику мишей. Білі миші щодня протягом 10 днів отримували per os 0,5 млрд *A. viridans* 5m2015 (група 1, n=50) та *A. viridans* 167 (група 2, n=50) в фізіологічному розчині хлориду натрію. До, під час та через 10 днів після годування тварин аерококами проводилось бактеріологічне дослідження випорожнень на наявність і чисельність *C. perfringens*. До годування аерококами *C. perfringens* виявлялись при посіві вихідної суспензії калу практично у всіх тварин в обох групах (100% і 98%). По мірі розведення суспензії калу виявлення *C. perfringens* поступово зменшувалось і було приблизно однаковим в обох групах. Під час годування відзначалась виражена антагоністична дія *A. viridans* 5m2015 і *A. viridans* 167 на вказаний вид клостридій в кишечнику мишей, про що свідчило різке зниження кількості випадків їх висівання (48% і 52%;  $p<0,001$ ). Після припинення годування виділення *C. perfringens* поступово зростало, але не досягало вихідного рівня (до годування аерококами) навіть через 10 днів в жодній з груп (64% і 72%;  $p<0,001$ ). При порівнянні антагоністичної дії *A. viridans* 5m2015 і *A. viridans* 167, необхідно відзначити, що аутосимбіонт *A. viridans* 5m2015 володів більшим антагонізмом по відношенню до *C. perfringens*, що мешкають в кишечнику мишей, ніж музейний *A. viridans* 167.

**Ключові слова:** *Aerococcus viridans*, антагонізм, аутосимбіонти.

Робота є фрагментом НДР «Мікробіологічне обґрунтування аутоштамів роду *Aerococcus* в якості основи для створення нових пробіотиків» (номер держреєстрації 0113U001948).

Токсин, що виробляється *Clostridium perfringens* є важливим фактором вірулентності, в результаті чого виникають важкі отруєння у людини і тварин [6]. Крім того, він вважається потенційною загрозою біотероризму. На сьогоднішній день не існує жодного ефективного терапевтичного лікарського засобу проти альфа-токсину *Clostridium perfringens* [7].

Останнім часом було показано, що декілька комерційних штамів бактерій (*Lactobacillus rhamnosus* LHR 19 і SP1, *Lactobacillus plantarum* LPAL і BG112 і *Bifidobacterium animalis lactis*)

інгібують зростання *C. difficile* і *C. perfringens* *in vitro* і ростуть в присутності кислот і жовчі, що робить їх придатними для подальшого використання в якості пробіотиків для тварин [8].

Мікроорганізми виду *Aerococcus viridans* ефективні для профілактики і лікування запальних захворювань, викликаних умовно-патогенними і патогенними мікроорганізмами [5]. Експерименти, проведені О.А. Журило (1997), показали високі антагоністичні властивості *Aerococcus viridans* 167 по відношенню до *Clostridium perfringens* у мишей. З огляду на все більшу популярність персоніфікованої терапії аутоштамами пробіотичних бактерій [1, 4] викликають інтерес антагоністичні властивості аутосимбіонтних *Aerococcus viridans* по відношенню до *Clostridium perfringens* у мишей.

**Метою** роботи було вивчення антагоністичних властивостей аутосимбіонтних *Aerococcus viridans* по відношенню до *Clostridium perfringens*, що природньо мешкають в кишечнику мишей.

**Матеріал та методи дослідження.** Аерококи-аутосимбіонти виділялися за методом, запропонованим Г.М. Кременчуцьким з співавт. (2009) [3], з калу безпородних мишей. В результаті були виділені 10 ізолятів аутосимбіонтів *A. viridans*. За своїми антагоністичними властивостями для експерименту було відібрано найбільш активний ізолят - 5м2015. В якості порівняння використовували музейний штамп *A. viridans* 167, виділений з грудного молока професором М.Л. Горбуною і підтримуваний в музеї культур кафедри мікробіології, вірусології, імунології та епідеміології ДЗ «ДМА МОЗ України» з 1965 р.

50 білих мишей щодня протягом 10 днів отримували *per os* 0,5 млрд *A. viridans* 5м2015 в фізіологічному розчині хлориду натрію (група 1). Інші 50 білих мишей щодня протягом 10 днів отримували *per os* 0,5 млрд *A. viridans* 167 в фізіологічному розчині хлориду натрію (група 2). До, під час та через 10 днів після годування тварин аерококами проводилось бактеріологічне дослідження випорожнень на наявність і чисельність *C. perfringens*. Для цього наважку калу (20 мг) суспендували в 1 мл ізотонічного розчину хлориду натрію, готували розведення 10-1, 10-2 і 10-3. З кожного розведення робили висів (0,5 мл) в стерильне не знежирене молоко (5 мл). Посіви інкубували при 370° С в анаеростатах при залишковому тиску 40 мм рт. ст. в трьох повторюваннях. Про наявність анаеробів судили за характерним видом молока, що згорнулось, за даними мікроскопії і контрольного висіву. Ідентифікацію виділених *C. perfringens* проводили за джерелом «Короткий визначник бактерій Берги» [2].

Статистична обробка матеріалів дослідження проводилась з використанням ліцензійного пакету програм STATISTICA v.6.1. Вірогідність відмінностей відносних показників оцінювалась за двостороннім точним критерієм Фішера.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Отримані результати представлені в таблиці 1. З даних таблиці видно, що до годування аерококами *C. perfringens* виявлялись при посіві вихідної суспензії калу практично у всіх тварин в обох групах (100% і 98%). По мірі розведення суспензії калу виявлення *C. perfringens* поступово зменшувалось і було приблизно однаковим в обох групах: у суспензії, розведеної 1: 10, цей вид клостридій був виявлений в 1 групі у 41 (82%) тварини, у 2 групі – у 40 (80%); 1: 100 – в 1 групі у 28 (56%) тварин, у 2 групі - у 27 (54%); 1: 1000 – в 1 та 2 групах у 5 тварин (10%) ( $p > 0,05$  при усіх порівняннях між групами).

Таблиця 1

**Кількість мишей, в кишечнику яких виявлені *C. perfringens* в умовах експерименту**

Показник	Етапи експерименту												
	До годування				Під час годування				Через 10 днів після годування				
Розведення фекалій	1:1	1:10	1:100	1:1000	1:1	1:10	1:100	1:1000	1:1	1:10	1:100	1:1000	
Група 1 – <i>A. viridans</i> 5м2015 (50 мишей)													
Кіль-кіст мишей	абс.	50	41	28	5	24	9	1	–	32	20	8	1
	%	100	82	56	10	48**	18**	2**	–*	64**	40**	16**	2
Група 2 – <i>A. viridans</i> 167 (50 мишей)													
Кіль-кіст мишей	абс.	49	40	27	5	26	14	7	–	36	24	17	3
	%	98	80	54	10	52**	28**	14**#	–*	72**	48**	34**#	6

Примітки: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,001$  порівняно з відповідним вихідним рівнем до початку дослід; # –  $p < 0,05$  порівняно з відповідним показником в групі 1.

Під час годування відзначалась виражена антагоністична дія *A. viridans* 5м2015 і *A. viridans* 167 на вказаний вид клостридій в кишечнику мишей, про що свідчило різке зниження кількості випадків їх висівання (табл. 1). Так, під час годування *A. viridans* 5м2015 (1 група) кількість тварин, у суспензії калу яких виявлялась *C. perfringens*, в порівнянні з вихідним станом

зменшилась вдвічі при розведенні фекалій 1: 1 – з 100% до 48% ( $p < 0,001$ ); в 4,6 рази у розчині 1: 10 – з 82% до 18% ( $p < 0,001$ ); в 28 разів при розведенні 1: 100 – з 56% до 2% ( $p < 0,001$ ). В суспензії, розведеної 1: 1000, *S. perfringens* не виявлялась зовсім, в той час як до годування висівалась у 5 (10%) тварин ( $p < 0,05$ ). Використання *A. viridans* 167 для годування мишей (2 група) сприяло зменшенню кількості випадків висіву *S. perfringens* у суспензії, розведеної 1: 1, в 1,9 рази – з 98% до 52% тварин ( $p < 0,001$ ); при розведенні суспензії 1: 10 зменшення склало 2,9 рази – з 80% до 28% ( $p < 0,001$ ); при 1: 100 – даний вид клостридій виявлявся лише в 14% випадків проти 54% на початку експерименту ( $p < 0,001$ ); в розведенні 1: 1000 *S. perfringens* не висівалась зовсім, в той час як до годування виявлялась у 5 (10%) тварин ( $p < 0,05$ ).

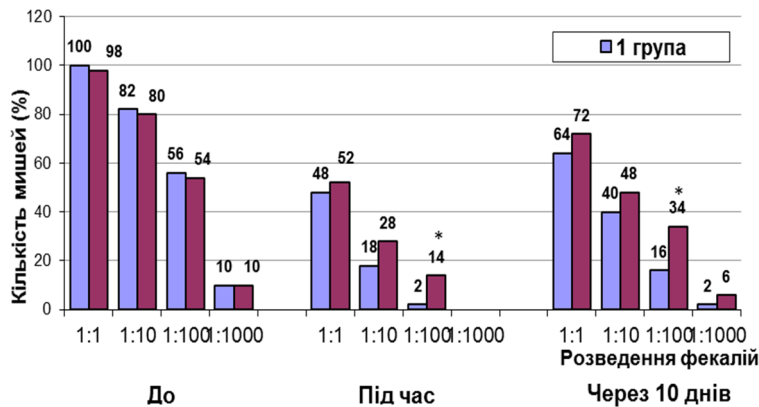


Рис. 1. Частота виявлення *S. perfringens* в кишечнику мишей в умовах експерименту: \* –  $p < 0,05$  порівняно з відповідним показником в групі 1.

У 2 групі в розведенні 1: 1 *S. perfringens* виділялися у 36 тварин (72%) у порівнянні з 49 (98%) до годування ( $p < 0,001$ ), а в розведенні 1: 100 – у 17 (34%) проти 27 (54%) мишей ( $p < 0,05$ ). При порівнянні антагоністичної дії *A. viridans* 5м2015 і *A. viridans* 167 необхідно відзначити, що аутосимбіонт *A. viridans* 5м2015 володів більшим антагонізмом по відношенню до *S. perfringens*, що мешкають в кишечнику мишей, ніж музейний штам *A. viridans* 167 (табл. 1, рис. 1).

Так, під час годування аерококами та через 10 діб після закінчення експерименту кількість тварин, у яких висівали *S. perfringens* в розведеннях 1: 100, у 2 групі достовірно перевищувала такий показник в 1 групі – 14% проти 2% і 34% проти 16%, відповідно етапам спостереження ( $p < 0,05$ ). Можливо це обумовлено більшою спорідненістю аутосимбіонтного штаму до епітелію кишечника мишей, кращою адгезією і приживлюваністю в ньому.

## Висновки

1. Аутосимбіонти *A. viridans* є природними мешканцями нестерильних порожнин теплокровних тварин. Штам *A. viridans* 5м2015, виділений з фекалій мишей, володіє антагоністичною дією по відношенню до *S. perfringens*, що мешкають в кишечнику мишей. Аутосимбіонтний штам *A. viridans* 5м2015 володіє більшим антагонізмом до *S. perfringens*, що мешкають в кишечнику мишей, ніж музейний штам *A. viridans* 167.
2. Застосування аутосимбіонтів мікробів - антагоністів може бути перспективним у профілактиці та лікуванні станів, обумовлених *S. perfringens*, що вимагає подальших досліджень.

## Список літератури

1. Vershinin A. E. Geneticheskaya identifikatsiya kak metod opredeleniya patogennyih i simbioticheskikh shtammov enterokokkov / A. E. Vershinin, V. V. Kolodzhieva, E. I. Ermolenko [i dr.] // Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii - 2008. - No. 5. - S. 83-87.
2. Kremenchutskiy G. N. Metodi vidilennya ta identifikatsiyi grampozitivnih katalazonegativnih kokiv: metod. rekomendatsiyi / G. N. Kremenchutskiy, L. G. Yurgel, O. V. Sharun [ta in.] // – Kyiv, - 2009. – 19 s.
3. Pat. 2139070 RF, МПК А61 К 35/74, S12 N1/20. Sposob polucheniya autoprobiotika, sodержaschego zhivyye bifidobakterii i laktobatsillyi / B. A. Shenderov, M. A. Manvelova; zayav. 31.03.1999; opubl. 10.10.1999.
4. Ryizhenko S. A. Tehnologiya polucheniya zhidkogo probiotika iz aerokokkov [elektronniy resurs] / S. A. Ryizhenko, G. N. Kremenchutskiy, M. O. Bredihina [i dr.] // Ann. of Mechnikov's Institute. – 2006. – N 4. – S. 23–28.
5. Hoult Dzh. Kratkiy opredelitel bakteriy Bergi / pod red. Dzh. Hoult // - Moskva: Mir, - 1981. – 212 s.6. Frederick. J. Infectious agents detected in the feces of diarrhetic foals: A retrospective study of 233 cases (2003-2008) / J. Frederick, S. Giguere, L.C. Sanchez // J. Vet. Intern. Med. – 2009. – Vol. 23/ - P. 1254 – 1260.
7. Dongdong Wang. Preparation and characterization of a human scFv against the Clostridium perfringens type A alpha-toxin / Dongdong Wang, Yuhuan Yue, Guangmou Wu [et. al.] // Toxicon. – 2017. – Vol. 130. – P. 79–86.
8. Schoster A. In vitro inhibition of Clostridium difficile and Clostridium perfringens by commercial probiotic strains / A. Schoster, B. Kokotovic, A. Permin [et al.] // Anaerobe. - 2013. – Vol. 20. – P. 36–41.

## Реферати

**ВЛИЯНИЕ АУТОСИМБИОНТОВ AEROCOCCUS VIRIDANS НА CLOSTRIDIUM PERFRINGENS, ОБИТАЮЩИХ В КИШЕЧНИКЕ МЫШЕЙ**

Степанский Д. А., Кременчуцкий Г. Н., Кошевая И. П.

В данной работе были исследованы антагонистические свойства аутосимбионтных *Aerococcus viridans* по отношению к *Clostridium perfringens*, естественно обитающих в кишечнике мышей. Белые мыши ежедневно в течение 10 дней получали per os 0,5 млрд. *A. viridans* 5m2015 (группа 1, n=50) и *A. viridans* 167 (группа 2, n=50) в физиологическом растворе хлорида натрия. До, во время и через 10 дней после кормления животных аэрококками проводилось бактериологическое исследование испражнений на наличие и численность *C. perfringens*. До кормления аэрококками *C. perfringens* выявлялись при посеве исходной суспензии кала практически у всех животных в обеих группах (100% и 98%). По мере разведения суспензии кала количество случаев выявления *C. perfringens* постепенно уменьшалось и было примерно одинаковым в обеих группах. Во время кормления отмечалось выраженное антагонистическое действие *A. viridans* 5m2015 и *A. viridans* 167 на указанный вид клостридий в кишечнике мышей, о чем свидетельствовало резкое снижение количества случаев их высева (48% и 52%;  $p < 0,001$ ). После прекращения кормления выделение *C. perfringens* постепенно увеличивалось, но не достигало исходного уровня (до кормления аэрококками) даже через 10 дней ни в одной из групп (64% и 72%;  $p < 0,001$ ). При сравнении антагонистического действия *A. viridans* 5m2015 и *A. viridans* 167, необходимо отметить, что аутосимбионт *A. viridans* 5m2015 обладал большим антагонизмом по отношению к *C. perfringens*, обитающим в кишечнике мышей, чем музейный *A. viridans* 167.

**Ключевые слова:** *Aerococcus viridans*, антагонизм, аутосимбионты.

Статья надійшла 17.03.2017 р.

**INFLUENCE OF AEROCOCCUS VIRIDANS AUTOSYMBIONTS ON CLOSTRIDIUM PERFRINGENS, HAVING IN THE INTESTINE OF THE MICE**

Stepansky D. A., Kremenchuk G. N., Koshevaya I. P.

Antagonistic properties of autotymbiont *Aerococcus viridans* towards *Clostridium perfringens*, which naturally live in the gut of mice, were investigated in this work. 50 white mice daily for 10 days received per os 0,5 billion of *A. viridans* 5m2015 in physiological sodium chloride solution. The other 50 white mice daily for 10 days received per os 0,5 billion of *A. viridans* 167 in physiological sodium chloride solution. Before, during and after 7-10 days of feeding animals by *Aerococcus* bacteriological examination of faeces for the presence and quantity of *C. perfringens* was made. Before feeding by aerococci in the majority of animals in both groups (100 and 98%), *S. perfringens* was detected while sowing the initial suspension of feces. At the stool suspension dilution, *C. perfringens* detection gradually decreased, and was approximately the same in both groups. During feeding expressed antagonistic action of *A. viridans* 5m2015 and *A. viridans* 167 and towards the specified type of clostridia in the intestines of mice was noted, as evidenced by the sharp decline in their sowing. After the cessation of feeding, allocation of *C. perfringens* gradually increased, but did not reach the initial level (before feeding by aerococci) even after 10 days in any of groups. When comparing the antagonistic action of *A. viridans* 5m2015 and *A. viridans* and 167, it should be noted that autotymbiont *A. viridans* 5m2015 had higher antagonism towards *C. perfringens* that live in the intestines of mice, than 167 museum *A. viridans*.

**Key words:** *Aerococcus viridans*, antagonism, autotymbionts.

Рецензент Лобань Г.А.

УДК [616.316+616.151.5]-092.9:615.36

Н. М. Федотенкова

В ДІІЗ України «Українська медична стоматологічна академія» Полтава

**ДОЗОЗАЛЕЖНИЙ ВПЛИВ ПОЛІПЕПТИДНОГО КОМПЛЕКСУ «ВЕРМІЛАТ» НА ГЕМОКОАГУЛЮЮЧІ ТА ПРООКСИДАНТНІ ВЛАСТИВОСТІ ТКАНИН СЛИННОЇ ЗАЛОЗИ У ІНТАКТНИХ ТВАРИН**

Пептидний препарат «Вермілат», отриманий Центральною науково-дослідною лабораторією УМСА м.Полтава кислотною екстракцією тканин кільчастих черв'яків *Eisenia foetida* у присутності двохвалентних катіонів, являє собою ліофілізований стерильний апірогенний порошок. Він відноситься до цитомедінів, низькомолекулярних регуляторних пептидів, має молекулярну масу 2-8 кД. Він характеризується високим вмістом таких основних амінокислот, як лізін і аргінін, і був розроблений як коректор метаболізму сполучної тканини. Метою даного дослідження було оцінити вплив тканини підщелепної слинної залози на наступні індекси: гемостатичні, такі як час рекальцифікації, тромбіновий час, час лізису згортка еуглобулінів, а також індекс перекисного окислення ліпідів, такий як малоновий діальдегід, і антиоксидантної системи, такий як супероксиддисмутаза. Усі параметри оцінювалися до початку експерименту, через 2 тижня та через 1 місяць. Отримані результати свідчили про те, що «Вермілат» зменшував тромбопластичні і фібрinolітичні властивості піднижньощелепної слинної залози. Препарат не змінював процеси перекисного окислення ліпідів і незначно послабляв її гемокоагуляційні властивості у терапевтичній дозі.

**Ключові слова:** регуляторні пептиди, «Вермілат», гемостаз, прооксидантно-антиоксидантний статус.

Дослідження пептидних біорегуляторів, а також їх активне використання у клінічній практиці потребують глибокого розуміння механізмів взаємодії пептидів з клітинами. Діяльність клітин в організмі багатоклітинних тварин координується «хімічними посередниками» і нервовими клітинами. Чим вище місце займає організм у царстві тварин, тим важливішою стає роль системи клітин, призначеної для координування його діяльності. Дуже важливе можливе застосування пептидних речовин у якості лікарських засобів. Вченими запропоновано два