

При вивченні перерозподілу внутріклітинного складу циклічних нуклеотидів в умовах імунізації тварин кінською сироваткою встановлено, що рівень цАМФ збільшувався на 133%, а рівень цГМФ в Т-лімфоцитах збільшувався на 182%. Такий перерозподіл вмісту циклічних нуклеотидів приводить до зниження співвідношення цАМФ/цГМФ з 5,2 у інтактних до 3,8 у сенсibilізованих тварин, що вказує на активацію метаболічних процесів у Т-лімфоцитах специфічним антигеном (табл. 1).

Введення препаратів з тимуса приводить до ще більшого зниження співвідношення цАМФ/цГМФ. Так, введення тималіну приводить до зниження співвідношення до 3,2, тимогена до 3,0, вілозена до 3,4, що свідчить про активацію процесів метаболізму в імунотетних клітинах.

Дозволяючи введення кінської сироватки приводить тварин до анафілактичного шоку і супроводжується також зміною складу циклічних нуклеотидів у всіх вивчаємих групах (табл.1).

При оцінці індексу стимуляції, яка дозволяє порівняти ступінь змін внутріклітинного складу циклічних нуклеотидів встановлено, що найбільшою активністю володіють тималін і тимоген, меншою – вілозен (табл.2).

Таблиця 2. Вплив тималіна, тимогена і вілозена на індекс стимуляції в Т-лімфоцитах селезінки мурчаків при сенсibilізації і анафілактичному шоці

Групи спостережень	№ п/п	Індекс стимуляції
Сенсibilізовані тварини	1	1,4
	2	1,6
	3	1,8
	4	1,5
Тварини з викликанням анафілактичним шоком	1	1,2
	2	1,5
	3	1,5
	4	1,2

УДК 576.311.347:612.353

Фізіологічне значення цього показника зводиться до того, що підвищення його відповідає активації Т-лімфоцитів. В наших дослідженнях кінська сироватка значно змінює внутріклітинний вміст циклічних нуклеотидів. Застосування препаратів приводить до збільшення рівня цАМФ та цГМФ у всіх досліджених групах тварин. Такий перерозподіл циклічних нуклеотидів веде до зниження співвідношення цАМФ/цГМФ, що свідчить про активацію процесів метаболізму у Т-лімфоцитах.

Висновки. Таким чином, тималін, тимоген і вілозен змінюють внутріклітинний вміст циклічних нуклеотидів, що виражається в зниженні співвідношення цАМФ/цГМФ, який приводить до активації метаболізму імунотетних клітин, що приводить до проліферації і диференціюванню Т-лімфоцитів. Фізіологічне розуміння активації метаболічних процесів Т-лімфоцитів при анафілактичному шоку полягає в перерозподілі субпопуляційного складу Т-лімфоцитів в бік збільшення ефektorної ланки імунотетних клітин.

Тималін при впливі на Т-лімфоцити збільшує рівень цАМФ в недозрілих клітинах і практично не змінює його в диференційованих лімфоцитах, при чому рівень цАМФ збільшується тільки до рівня диференційованих лімфоцитів.

1. Орадовская И.В., Пинегина Б.В. // Иммунология. – М. – 1990, №2, с. 70–72. 2. Михалевич В.С., Гриценко Б.И., Яненко В.М., Атеев К.М., Голлинг О.В., Демидов С.В., Костромин А.П. // Моделирование функционирования развивающихся систем с изменяющейся структурой: Сб. научн. труд. – К., 1989. – с. 56–78. 3. Петров Р.В., Хаитов Р.М., Некрасов А.В. и др. // Иммунология. – 2000, №3. – с. 63–66. 4. Ткачук В.А., Лазаревич В.Г., Мельников М.Ю., Северин В.С. // Биохимия. – 1978. – 4, № 9. – с. 1622–1620.

Надійшла до редколегії 23.02.08

К. Дворченко, канд. біол. наук,
У. Савко, студ.,
О. Бервен, студ.,
С. Вакал, студ.

НЕСПЕЦИФІЧНА ПРОНИКНІСТЬ МІТОХОНДРІАЛЬНИХ МЕМБРАН КЛІТИН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ВИРАЗКИ

Встановлено зростання неспецифічної проникності мембран мітохондрій клітин слизової оболонки шлунка за умов обох моделей експериментальної виразки.

The increase of permeability transition of mitochondria membranes of gastric mucosa cells fixed at both models of an experimental ulcer.

Вступ. Провідне місце серед захворювань травної системи займає виразкова хвороба шлунка. При розвитку виразкового процесу на рівні клітин порушується система функціонування фізико-хімічних та біохімічних процесів. Важливе значення в патогенезі виразкової хвороби відіграють зміни енергетичного статусу клітин, що на пряму пов'язано з функціонуванням мітохондрій. Порушення енергопродукції може призвести до пригнічення процесів, які потребують енергії АТФ, та розвитку необоротних біохімічних змін в клітинах слизової оболонки шлунка (СОШ) [7].

На молекулярному рівні мітохондріальна дисфункція характеризується гальмуванням транспорту електронів по дихальному ланцюгу, порушенням окисного

фосфорилування, зниженням вмісту аденіннуклеотидів, а також виникненням неселективної проникності внутрішньої мембрани мітохондрій [6, 8].

Метою даної роботи було дослідити неспецифічну проникність мітохондріальних мембран в загальній фракції клітин СОШ щурів за умов експериментальної виразки.

Матеріали і методи. У дослідках використовували щурів лінії Вістар вагою 180–230 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Модель експериментальної гострої виразки шлунка у щурів створювали за методом Окабе [2]. Для цього щурам перорально вводили 1 мл 80% етанолу і через годину декапітували. Для моделювання стресової виразки шлунка у тварин, використовували модифіковану методику "імобілізацій-

ного стресу" [1]. Отримання загальної фракції клітин СОШ проводили за методом Таїрова [5]. Мітохондрії з клітин отримували загальноприйнятим методом [4]. Неспецифічну проникність мітохондрій оцінювали за зміною світлорозсіювання суспензії при $\lambda=520$ нм [3]. Статистичну обробку результатів проводили з використанням t-критерію Ст'юдента.

Результати. При проведенні експериментальних досліджень по вивченню стану мітохондріальних мембран клітин СОШ, нами було встановлено, що оптична густина 1 мг контрольних мітохондрій при $\lambda=520$ нм складала

$2,87 \pm 0,25$. Показано, що за умов стресової виразки в мітохондріях клітин СОШ рівень світлорозсіювання зменшувався на 45% порівняно з контрольними мітохондріями (рис. 1). Для дослідження структурного стану мітохондрій в середовище інкубації вносили H_2O_2 , як джерело гідроксил-радикалу, та $CaCl_2$, який виконує провідну регуляторну роль в процесах внутрішньоклітинної сигналізації. При додаванні до середовища інкубації мітохондрій 0,1 мМ H_2O_2 спостерігалось поступове зниження світлорозсіювання суспензії. Внесення 5 мкМ Ca^{2+} спричинювало подібний ефект.

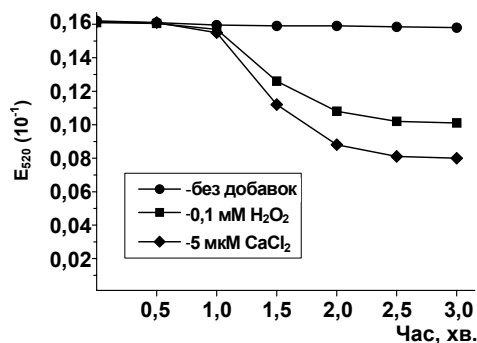


Рис. 1. Вплив стресового фактору на світлорозсіювання суспензії мітохондрій загальної фракції клітин слизової оболонки шлунка щурів

При етаноловій моделі виразки за інкубації ізольованих мітохондрій СОШ щурів упродовж 3 хв спостерігалось зниження світлорозсіювання суспензії відповідно на 20% відносно контролю (рис. 2). За умов етанолової мо-

делі виразки шлунка у досліджуваній суспензії мітохондрій при додаванні, як 0,1 мМ H_2O_2 , так і 5 мкМ $CaCl_2$, спостерігалось менш суттєве зниження досліджуваного показника, порівняно з впливом стресового фактору.

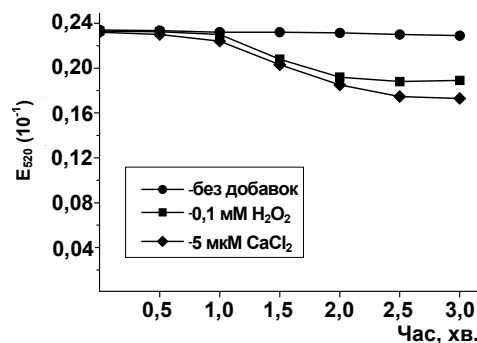


Рис. 2. Вплив етилового спирту на світлорозсіювання суспензії мітохондрій загальної фракції клітин слизової оболонки шлунка щурів

Дані, отримані в ході проведених експериментів по вивченню стану мітохондріальних мембран загальної фракції клітин СОШ за умов стресової та етанолової моделей виразки, свідчать про наявність процесу набрякання мітохондрій при дії досліджуваних ульцерогенних чинників. В результаті цього порушується осмотичний баланс між матриксом та міжмембранним простором мітохондрій. В матрикс проникають молекули води, що спричинює збільшення його об'єму, внутрішня мембрана при цьому розправляється.

Зростання неспецифічної проникності мітохондріальних мембран клітин СОШ може бути пов'язано з переокисненням ліпідів мембран, що призводить до окислення тіолових груп білків та "перекисному" набряканню мітохондрій.

Висновки. Отримані результати проведених досліджень показали, що при стресовій та етаноловій експериментальних моделях виразки в клітинах СОШ зрос-

тає рівень неспецифічної проникності мембран мітохондрій. Це, в свою чергу, може призвести до трансформації бар'єрних властивостей мітохондріальних мембран. В подальшому структурно-функціональні зміни цих органел можуть спричинити розвиток патологічних змін в епітеліоцитах шлунка.

1. Гройсман С.Д., Каревина Т.Г. О влиянии атропина на стрессорные поражения слизистой оболочки желудка у крыс // Биол. указ. ВИНТИ. Деп. рукопись №. 452/79 – 1979. – № 12. – С. 131. 2. Доклінічні дослідж. лік. засобів: Метод. рекомендації // За ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова. – К., 2001. – С. 528. 3. Карапалов А.В. Изменение фосфолипидного состава интактных митохондрий при набухании их в гипотоническом растворе сахарозы // Биохимия. – 1979. – Т. 44. – Вып. 2. – С. 293–295. 4. Практикум по биохимии / Под ред. С.Е. Северина и Г.А. Соловьевой. – 1989. – Изд-во Моск. Универ. – С. 406. 5. Таїров М.М., Берсимбаев Р.И., Аргутинская С.В., Салганик Р.И. Клеточная локализация аденилатциклаза, стимулируемых гистамином и простагландином Е2, в слизистой оболочке желудка крыс и их роль в регуляции желудочной секреции. – Биохимия. – Т.48, вып. 6, 1983. – С. 1035–1041. 6. Batandier C., Leverve X., Fontaine E. Opening of the mitochondrial

permeability transition pore induces reactive oxygen species production at the level of the respiratory chain complex // J. Biol. Chem. – 2004. – Vol. 23. – P. 17197–17204. 7. Gellerich F.N., Trumbeckaite S., Muller T. et al. Energetic depression caused by mitochondrial dysfunction // Mol. Cell.

Biochem. – 2004. – Vol. 256/257. – P. 391–405. 8. Kowaltowski A.J., Castilho R.F., Vercesi A.E. Mitochondrial permeability transition and oxidative stress // FEBS Letter. – 2001. – Vol. 495. – P. 12–15.

Надійшла до редколегії 22.04.08

УДК 579.69.620.193.8

Ю. Юмина, асп.,
І. Козлова, д-р. біол. наук,
Ж. Коптева, канд. біол. наук

ОСОБЛИВОСТІ АРХІТЕКТОНІКИ БІОПЛІВКИ БАКТЕРІЙ-ДЕСТРУКТОРІВ, ЩО СФОРМОВАНА НА ПОВЕРХНІ ЗАХИСНОГО ПОКРИТТЯ

Досліджено архітектоніку моно- та бінарної біоплівки, утворених бактеріями деструкторами захисних покриттів *Pseudomonas pseudoalcaligenes* і *Arthrobacter flavescens*. Для дослідження структури біоплівки використовували метод конфокальної лазерної скануючої мікроскопії. Встановлено, що в базальній частині бінарної біоплівки, безпосередньо на поверхні бутілкаучукового шару покриття розташовуються бактерії роду *Rhodococcus*, що сприяють руйнуванню клеючої основи захисного покриття.

This article is devoted to architectonics research of mono- and binary biofilms formed by typical destructors of defense surfaces – *Pseudomonas pseudoalcaligenes* and *Rhodococcus erythropolis*. In investigation of biofilms structure was used confocal laser scanning microscopy. It was established that there are *Rhodococcus* sp. microorganisms in the basic part of binary biofilm, directly on the surface of butylcaoutchouc layer and these microorganisms are involved in destruction of defense surface's gluing basic.

Вступ. Мікроорганізми за умов контакту з твердими поверхнями здатні формувати біоплівки. Сформована біоплівка – це комплекс мікробних клітин і екстрацелюлярного матриксу, якому властива чітка архітектура будови, що забезпечує оптимальні умови живлення, росту й обміну генетичним матеріалом [3]. Багато важливих і техногенних систем зазнають впливу біоплівки. Біопшкодження пліткових та мастичних матеріалів, які застосовуються для антикорозійного захисту підземних споруд, є також наслідком взаємодії мікроорганізмів та їх поверхні і починається з адгезії [1].

У природних умовах біоплівка, як правило формується асоціацією бактерій, які належать до різних родів і видів [4]. Попередніми дослідженнями було встановлено, що бутілкаучуковий шар покриття "Полікен 980-25" був зруйнований асоціацією бактерій родів *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, що використовували бутілкаучук як джерело вуглецю [2].

Метою нашої роботи було дослідження архітектоніки біоплівок двох бактерій-деструкторів, які були виділені із пошкодженого захисного покриття.

Об'єкт та методи дослідження. Об'єктами досліджень були культури *Pseudomonas pseudoalcaligenes*, *Arthrobacter flavescens*, виділених із зруйнованого клеючого шару захисного покриття "Полікен 980-25".

За культивування чистих і змішаних культур у середовищі Таусона вносили по 5 мл суспензії *Pseudomonas pseudoalcaligenes*, *Arthrobacter flavescens*. Початковий титр для цих культур становив 10^8 кл/мл.

Формування біоплівки вивчали на захисному покритті "Полікен 980-25". З метою стерилізації, зразки покриття обробляли 76% етиловим спиртом, після чого піддавали дії УФ-променів протягом 20 хв. У флакони, що містили 300 мл стерильного середовища Таусона (контроль) та відповідну культуру бактерій дотримуючись правил асептики вносили попередньо підготовлені зразки покриття "Полікен 980-25". Культивування проводили за температури 28°C протягом 1, 7, 14, 21, 28 діб.

Після закінчення кожної експозиції зразки покриття виймали з культуральної рідини так щоб не пошкодити біоплівку, і досліджували за допомогою конфокального лазерного скануючого мікроскопу (CLSM Pascal 5, фірма "Carl Zeiss" Німеччина).

Для лазерної мікроскопії використовували нативні вологі зразки біоплівки на покритті. З урахуванням автолюмінесценції досліджуваних бактерій зразки мікроскопіювали за довжини хвилі лазерного випромінювання 488 нм.

З метою вивчення розташування клітин у екзополімерному матриці біоплівки застосовували сканування 10–25 шарів за товщини зрізу від 1,5 до 2 мкм.

Результати та їх обговорення. Мікроскопіювання за допомогою КЛСМ дало змогу спостерігати гетерогенність нативних плівок, визначити їх структуру в площинах ХУ і ХЗ, товщину біоплівки та також дослідити відмінності у співвідношенні клітин та екзополімеру у моно і бінарних біоплівках, сформованих на покритті.

В таблиці наведено дані щодо зміни товщини біоплівки моно- і бінарної культур в часі.

Таблиця 1. Динаміка формування біоплівки на поверхні захисного покриття

Варіант досліджу	Товщина біоплівки, мкм				
	1 доба	7 діб	14 діб	21 діб	28 діб
<i>P. sp</i>	15	16	18	22	15
<i>R. erythropolis</i>	24	30	26	25	28
<i>P.sp+R.erythropolis</i>	16	28	20	16	32

Як видно з таблиці 1, з часом товщина біоплівки має тенденцію зростати. Біоплівка *Pseudomonas sp* рівномірно зростає до 22 доби, після чого спостерігається її зменшення, можливо за рахунок часткового "сповзання", що спостерігається у зрілих біоплівках на 28 добу [5]. Товщина біоплівки у *Arthrobacter flavescens* більш потужна, ніж у *Pseudomonas sp*, досягає максимуму на

7 добу, після чого в незначній мірі зменшується і тримається до кінця експерименту в цих межах (28 мкм).

Для бінарної біоплівки характерним є також максимум товщини на 7 добу, після чого спостерігається ущільнення біоплівки внаслідок утворення конгломератів і зростання на 28 добу.

З рисунку 1 видно, що у *Pseudomonas pseudoalcaligenes* з 1–21 доби спостерігалась велика