

REFERENCES

1. Belotserkovskiy B. Z., Popov T. V., Protsenko D.N., Shulutko E.M. Nosokomialnye infektsii v intensivnoy terapii [Nosocomial infections in critical care medicine]. *Intensivnaya terapiya: Nacionalnoe rukovodstvo [Critical Care Medicine: National Manual]*. B.R. Gelfand, A.I. Saltanova, eds. M., GEOTAR-Media, 2012: 745-784.
2. Mahmoudi M., Serpooshan V. Silver-coated engineered magnetic nanoparticles are promising for the success in the fight against antibacterial resistance threat. *ACS Nano* 2012; 6 (3): 2656-2664.
3. Dolynskiy G.A., Lavrynenko O.M. The ability of silver-based magnetite nanoparticles to attenuate lipid peroxidation in lecithin-containing model system. *Interactions between biogenic and abiogenic components in natural and anthropogenic systems – 2011*. SPb, VVM Publishing, 2011: 231-235.
4. Lavrynenko O.M. Nanosized iron oxide and hydroxide minerals as products of the phase formation in iron — carbon — water — oxygen systems. *Nanostudio* 2011; 4: 5-40.
5. Cash J.L., White G.E., Greaves D.R. Zymosan-induced peritonitis as a simple experimental system for the study of inflammation. *Methods Enzymol.* 2009; 461: 379-396.
6. Dong J., Chen P., Wang R., Yu D., Zhang Y., Xiao W. NADPH oxidase: a target for the modulation of the excessive oxidase damage induced by overtraining in rat neutrophils. *Int. J. Biol. Sci.* 2011; 7 (6): 881-891.
7. El Jamali A., Valente A.J., Clark R.A. Regulation of phagocyte NADPH oxidase by hydrogen peroxide through a $Ca^{2+}/c-Abl$ signaling pathway. *Free Radic. Biol. Med.* 2010; 48 (6): 798-810.
8. Deffert C., Carnesecchi S., Yuan H., Rougemont A.-L., Kelkka T., Holmdahl R., Krause K.H., Schäppi M. G. Hyperinflammation of chronic granulomatous disease is abolished by NOX2 reconstitution in macrophages and dendritic cells. *J. Pathol.* 2012; 228 (3): 341-350.
9. Lee H.-N., Surh Y.-J. Resolvin D1-mediated NOX2 inactivation rescues macrophages undertaking efferocytosis from oxidative stress-induced apoptosis. *Biochem. Pharmacol.* 2013; 86: 759-769.

Надійшла 21.01.2014

УДК 579.861.2:579.234:577.114.5

В. В. Мінухін, О. В. Кочнева, Т. М. Замазій, П. В. Оветчин, В. В. Титаренко

ВСТАНОВЛЕННЯ ВМІСТУ ТЕЙХОЄВИХ КИСЛОТ У КЛІТИНАХ КЛІНІЧНИХ І РЕФЕРЕНТНИХ ШТАМІВ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Харківський національний медичний університет, Харків, Україна

УДК 579.861.2:579.234:577.114.5

В. В. Минухин, Е. В. Кочнева, Т. М. Замазий, П. В. Оветчин, В. В. Титаренко
ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ТЕЙХОЕВЫХ КИСЛОТ В КЛЕТКАХ КЛИНИЧЕСКИХ И РЕФЕРЕНТНЫХ ШТАММОВ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Харьковский национальный медицинский университет, Харьков, Украина

Известно, что тейхоевые кислоты являются фактором патогенности и вирулентности. Они участвуют в связывании бактерий *Staphylococcus aureus* с эпителиальными клетками слизистых оболочек.

Целью исследования было определение содержания тейхоевых кислот в клетках клинических и референтных штаммов *S. aureus*, а также изучение их взаимосвязи с адгезивными свойствами.

Экстракцию тейхоевых кислот клеток *S. aureus* проводили добавлением к смывам агаровых культур 10 % трихлоруксусной кислоты, далее осаждали холодным этанолом, отмывали ацетоном, этанолом и эфиром в эксикаторе. Содержание тейхоевых кислот определяли по оптической плотности на СФ-46 при длине волны 254 нм.

При выделении тейхоевых кислот из клеток клинических и референтных штаммов *S. aureus* установлено, что уровень их содержания отличается.

У клинических штаммов показатели были выше и составили $(0,373 \pm 0,016)$ ед. оптической плотности, чем у референтных — $(0,147 \pm 0,014)$ ед. оптической плотности. Вероятно, это связано с высокой степенью агрессивности клинических штаммов и влияет на активацию комплемента, что в свою очередь приводит к системной реакции, следствием которой является снижение фагоцитарной активности. В ходе исследования установлено прямую коррелятивную зависимость между содержанием тейхоевых кислот с показателями адгезивности ($r=0,643$), что может влиять на способность микроорганизмов к формированию биопленок.

Ключевые слова: *Staphylococcus aureus*, тейхоевые кислоты, адгезия.

UDC 579.861.2:579.234:577.114.5

V. V. Minukhin, O. V. Kochneva, T. M. Zamaziy, P. V. Ovetchin, V. V. Tytarenko
ESTABLISHING CONTENTS OF TEICHOIC ACIDS IN THE CELLS OF CLINICAL AND REFERENCIAL STRAINS *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

The Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine

The study of the cell walls of pathogenic microorganisms led to the understanding of important phenomena such as adhesion, virulence, formation of biofilms on implanted materials. Teichoic acid, with other components of the cell walls, is responsible for the sensitivity of bacteria to antibiotics and their number of immunotherapy properties. Some anionic polymers of cell walls of bacteria are in-



involved in the processes of intercellular adhesion. These processes are based on ionic interactions of proteins of adhesin cells with specific receptors on the other cells. Teichoic acid can be such receptors. According to the literature data, teichoic acid of *Staphylococcus aureus* are involved in the binding of bacteria with mucosal epithelial cells. Thus, the degree of esterification of teichoic acid is related to adhesion and virulence properties of bacteria and their ability to interact with a variety of positively charged molecules, polymers and more.

The research **objective** is to determine the content of teichoic acids in the cells of clinical and reference strains *S. aureus* and to examine their interaction with the adhesive properties.

The work involved 55 clinical strains isolated from patients with different pyoinflammatory infection and 4 reference strains (ATCC 25923) as a control group. Obtaining pure culture is performed by conventional methods.

Extraction of teichoic acids from *S. aureus* cells was performed by adding it to the washings agar cultures of 10% concentration trichloroacetic acid, then precipitated with cold ethanol, washed with cold acetone, ethanol and ether in a desiccator. Teichoic acid content was determined by optical density, by the SP-46, having an elongation wave of 254 nm.

Results. In determining the content of teichoic acids in the cells of clinical and reference strains of *S. aureus*, it was found that their levels are different. Clinical strain rates were higher and amounted to (0.373 ± 0.016) units of optical density than reference strains which amounted to (0.147 ± 0.014) units of optical density. This is probably due to the higher degree of aggressiveness of the clinical strains and influences on the activation of complement, which in its turn leads to a systemic reaction that results in a decrease in phagocytic activity. The study revealed a direct correlative relationship between the content of teichoic acids and adhesive properties performance ($r=0,643$), which may affect the ability of microorganisms to form biofilms.

Key words: *Staphylococcus aureus*, teichoic acid, adhesion.

Стафілококові інфекції зазвичай розвиваються в результаті поєднання таких факторів, як вірулентність, патогенність бактерій та зниження захисних сил організму. Під патогенністю бактерій розуміють здатність викликати захворювання. Це видова полідетермінантна ознака збудника, що позначає його потенційну можливість викликати інфекційний процес. За даними літератури встановлено, що тейхоєві кислоти *S. aureus* беруть участь у зв'язуванні бактерій з епітеліальними клітинами слизових оболонок, що визначає їх адгезивні властивості.

Тейхоєві кислоти (ТК) становлять значну частину клітинної стінки грамположитивних бактерій, а їх кількість може досягати 60 % від її маси [1]. Вони ковалентно зв'язані з пептидогліканами, є невід'ємною частиною клітинної стінки і, таким чином, знаходяться в тісному зв'язку з усіма процесами, що відбуваються за її участі. До них належать: ріст і поділ клітин, зв'язування і резервування катіонів, необхідних для функціонування мембранних ферментів, процеси міжклітинного розпізнавання, рецепція фагів, патогенність. Тейхоєві кислоти та інші аніонні з'єднання клітинної стінки роб-

лять істотний внесок у формування структури поліелектролітного гелю і визначають її механічні властивості [1; 3].

Вивчення клітинних стінок патогенних мікроорганізмів допомогло зрозуміти такі важливі явища, як адгезія, вірулентність, утворення біоплівки на імплантованих матеріалах [5; 6]. Поряд з іншими компонентами клітинних стінок ТК відповідають за чутливість бактерій до низки антибіотиків та їх імуномодуляторні властивості [4]. Деякі аніонні полімери клітинних стінок бактерій беруть участь у процесах міжклітинної адгезії. Ці процеси ґрунтуються на іонній взаємодії білків адгезинів однієї клітини зі специфічними рецепторами іншої. Такими рецепторами можуть бути ТК [7].

За даними літератури встановлено, що ТК *Staphylococcus aureus* беруть участь у зв'язуванні бактерій з епітеліальними клітинами слизових оболонок [9]. Вони запускають комплементарний каскад по альтернативному шляху, активують систему згортання та калікреїн-кінінову систему. Золотистий стафілокок є частою причиною інфекцій, пов'язаних з колонізацією імплантованих біоматеріалів. Молекулярну основу первинної адгезії бак-

терій до штучних поверхонь до кінця не з'ясовано. Однак відомо, що ключова роль на першому етапі формування біоплівки належить ТК. На процеси взаємодії між ТК і біоматеріалами впливають іонні сили і сили Ван-дер-Ваальса, які можуть бути як притягуючими, так і відштовхуючими [8].

Визначальну роль у коагрегації катіонів, зв'язуванні автолізину, а також у патогенних і адгезивних властивостях бактеріальної клітини відіграє негативний заряд ТК, зумовлений наявністю фосфатних груп. Водночас роль окремих структурних елементів цих полімерів поки вивчена недостатньо, хоча і встановлено, що вони впливають на функціональну активність і деякі біологічні властивості ТК [10].

Таким чином, зі ступенем етерифікації ТК пов'язані адгезивні та вірулентні властивості бактерій, їх здатність взаємодіяти з різними позитивно зарядженими молекулами, полімерами тощо. Тому одним з етапів дослідження було визначення взаємозв'язку між адгезивними властивостями та вмістом ТК клітинної стінки *S. aureus*.

Мета дослідження — визначити вміст тейхоєвих кислот у клітинах клінічних і рефе-



рентних штамів *S. aureus* та вивчити їх взаємозв'язок із адгезивними властивостями.

Матеріали та методи дослідження

У роботі було використано 55 клінічних штамів, виділених від хворих на різні гнійно-запальні інфекції, та 4 референтних штами (ATCC 25923) як контрольна група. Для більш інформативного дослідження штами було розподілено на групи: 1-ша — штами, виділені з гнійного видільного ран при гострих запальних процесах (абсцес, гангрена, гострий гнійний періостит, флегмона, гострий апендицит, гострий гідраденіт, гострий мастит); 2-га — штами, виділені з гнійного видільного ран при затяжних запальних процесах (фурункульоз, карбункул, інфікована рана, панарицій, атерома, гематома, рожисте запалення, бартолініт); 3-тя — штами, виділені зі слизу зів та носа при обстеженні на носійство; 4-та — контрольна група, референтні штами ATCC 25923.

Виділення чистої культури проводили загальноприйнятими методами [2].

Екстракцію ТК клітин *S. aureus* проводили додаванням до змивів агарових культур 10 % трихлороцтової кислоти, далі осаджували холодним етанолом, відмивали холодним ацетоном, етанолом і ефіром в ексикаторі. Вміст ТК визначали за оптичною щільністю на СФ-46 при довжині хвилі $\lambda = 254$ нм [7].

За результатами проведеного дослідження було встановлено, що показники вмісту ТК *S. aureus* у клінічних та референтних штамів достовірно відрізнялися ($p < 0,05$) (табл. 1).

Показники середньої оптичної щільності (ОЩ) для 1-ї групи становили — $(0,542 \pm 0,016)$ од. ОЩ, для 4-ї групи — $(0,147 \pm 0,014)$ од. ОЩ, що мало статистичну різницю. Показники 2-ї та 3-ї груп були меншими

Середні показники вмісту тейхоевих кислот клітин *S. aureus*

Таблиця 1

Група досліджуваних штамів <i>S. aureus</i>	Вміст тейхоевих кислот, од. ОЩ
1. Гострі запальні процеси (абсцес, гангрена, гострий гнійний періостит та ін.), n=25	$0,542 \pm 0,016^*$
2. Затяжні запальні процеси (фурункульоз, карбункул та ін.), n=25	$0,381 \pm 0,019^*$
3. Обстеження носіїв, n=5	$0,196 \pm 0,013^*$
4. Референтні штами ATCC 25923, n=4	$0,147 \pm 0,014^*$

Примітка. * — різниця достовірна ($p < 0,05$) представлено результати досліджень трьох повторів.

порівняно з 1-ю групою, але вищі, ніж у референтних штамів. Значення для цих груп становили — $(0,381 \pm 0,019)$ та $(0,196 \pm 0,013)$ од. ОЩ відповідно.

Таким чином, встановлено, що вміст ТК клітин *S. aureus* більш високий у клінічних ізолятів, ніж у референтних штамів, що, можливо, пов'язано зі ступенем їх агресивності та впливає на перебіг інфекційного захворювання.

Враховуючи те, що вміст ТК тісно пов'язаний з адгезивними властивостями *S. Aureus*, у дослідженні було визначено корелятивний зв'язок між цими показниками (рис. 1).

При вивченні зв'язку між показниками адгезивних властивостей та вмістом ТК клітин *S. aureus*, встановлено пряму кореляційну залежність ($r = 0,643$), що, можливо, впливає на здатність мікроорганізмів до формування біоплівок.

Висновки

Результати проведеного дослідження показали, що вміст тейхоевих кислот клітин *S. aureus* більш високий ($p < 0,05$) у клінічних ізолятів, середня оптична щільність $(0,373 \pm 0,016)$ од. ОЩ, ніж у референтних — $(0,147 \pm 0,014)$ од. ОЩ. Ймовірно, це пов'язано із вищим ступенем агресивності клінічних штамів та впливає на активацію компліменту, що, у свою чергу, призводить до сис-

темної реакції, наслідком якої є зниження фагоцитарної активності. Встановлено пряму корелятивну залежність між вмістом тейхоевих кислот із показниками адгезивності ($r = 0,643$), що може впливати на здатність мікроорганізмів до формування біоплівок.

Перспективним напрямом дослідження є визначення здатності до формування біоплівок штамів *S. aureus* та встановлення в них вмісту тейхоевих кислот.

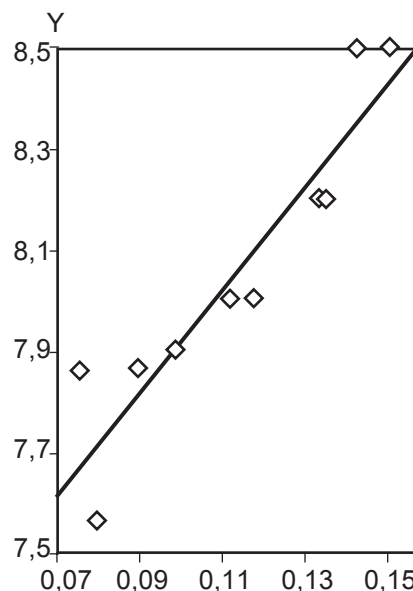


Рис. 1. Аналіз корелятивної залежності між вмістом тейхоевих кислот і адгезивними властивостями штамів *S. aureus* (пряма стійка кореляційна залежність), $n = 11$. Коефіцієнт регресії: відхилення $b = 0,1112$, зрушення $a = «+» 3,8$; коефіцієнт кореляції: $r = 0,643$, $t = 10,62$



ЛІТЕРАТУРА

1. О клеточной стенке Actinomyces rimosus ЛСТ-18 / Н. Ф. Дмитриева, Н. Б. Наумова, Г. М. Стрешинская, Л. И. Панина // Биоорганическая химия. – 1976. – Т. 2, № 6. – С. 815–825.

2. Лабинская А. С. Частная медицинская микробиология с техникой микробиологических исследований / А. С. Лабинская, Л. П. Блинова, А. С. Ещина. – М.: Медицина, 2005. – 509 с.

3. Потехина Н. В. Тейхоевые кислоты актиномицетов и других грамположительных бактерий / Н. В. Потехина // Успехи биологической химии. – 2006. – Т. 46. – С. 225–278.

4. Archibald A. R. Bacterial cell wall structure and the ionic environment / A. R. Archibald, R. Whittenbury, G. W. Gould. – Bath: University Press, 1988. – P. 159–173.

5. Archibald A. R. Cell wall structure, synthesis, and turnover / A. R. Archibald, A. L. Sonenshein, J. A. Hoch; American Society for Microbiology. – Washington D. C., 1993. – P. 381–410.

6. Archibald A. R. The structure, biosynthesis and function of teichoic acid / A. R. Archibald // Adv. Microb. Physiol. – 1974. – Vol. 11. – P. 53–59.

7. Baddiley J. The Occurrence and Location of Teichoic Acids in Lactoba-

cilli / J. Baddiley, A. L. Davison // J. Gen. Microbiol. – 1961. – Vol. 24. – P. 295–299.

8. Cell wall teichoic acids: structural diversity, species specificity in the genus Nocardia, and chemotaxonomic perspective / I. B. Naumova, A. S. Shashkov, E. M. Tul'skaya [et al.] // FEMS Microbiol. Rev. – 2001. – Vol. 25, N 3. – P. 269–284.

9. Role of teichoic acid in the binding of Staphylococcus aureus to nasal epithelial cells / R. Aly, H. R. Shinefield, C. Litz, H. I. Maibach // J. Infect. Dis. – 1980. – Vol. 141, N 4. – P. 463–465.

10. Teichoic acids and the structure of bacterial cell wall / A. R. Archibald, J. J. Armstrong, J. Baddiley [et al.] // Nature. – 1961. – Vol. 191. – P. 570–572.

REFERENCES

1. Dmitrieva N.F., Naumova N.B., Streshinskaya G.M., Panina L.I. About the cellular wall of Actinomyces rimosus LST-18. *Bioorganicheskaya khimiya* 1976; 2 (6): 815-825.

2. Labinskaya A.S., Blinova L.P., Eshina A.S. Private medical microbiology with the technique of microbiological researches. Moscow, Medicine, 2005, 509 p.

3. Potekhina N.V. Teichoic acids of actinomycetes and other gram-positive bacteria. *Uspekhi biologicheskoi khimii* 2006; 46: 225-278.

4. Archibald A.R., Whittenbury R., Gould G.W. Bacterial cell wall structure and the ionic environment. *Bath: University Press* 1988: 159-173.

5. Archibald A.R., Sonenshein A.L., Hoch J.A. Cell wall structure, synthesis, and turnover American Society for Microbiology, Washington D.C. 1993, p. 381-410.

6. Archibald A.R. The structure, biosynthesis and function of teichoic acid. *Adv. Microb. Physiol* 1974; 11: 53-59.

7. Baddiley J., Davison A.L. The Occurrence and Location of Teichoic Acids in Lactobacilli. *J. gen. Microbiol* 1961; 24: 295-299.

8. Naumova I.B., Shashkov A.S., Tul'skaya E.M. et al. Cell wall teichoic acids: structural diversity, species specificity in the genus Nocardia, and chemotaxonomic perspective. *FEMS Microbiol. Rev* 2001; 25 (3): 269-284.

9. Aly R., Shinefield H.R., Litz C., Maibach H.I. Role of teichoic acid in the binding of Staphylococcus aureus to nasal epithelial cells. *J. Infect. Dis* 1980; 141 (4): 463-465.

10. Archibald A.R., Armstrong J.J., Baddiley J. et al. Teichoic acids and the structure of bacterial cell wall *Nature* 1961; 191: 570-572.

Надійшла 27.01.2014

УДК 616.13.002.2-004.6:616-08.8

I. В. Симонова

ДИНАМІКА ЗМІН ПАМ'ЯТІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ГІПЕРЛІПІДЕМІЇ

ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», Київ, Україна

УДК 616.13.002.2-004.6:616-08.8

И. В. Симонова

ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ ПАМЯТИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ГИПЕРЛИПИДЕМИИ

ГУ «Институт фармакологии и токсикологии НАМН Украины», Киев, Украина

Исследовано влияние неионного детергента тритона WR-1339 на научение и память у крыс обоих полов. Установлено, что детергент тритон WR-1339 при моделировании «умеренной» (500 мг/кг) и «тяжелой» (750 мг/кг) форм гиперлипидемии ухудшает показатели латентных периодов (ЛП) научения в Т-образном лабиринте (значительно увеличивает их во времени) у крыс обоих полов.

Ключевые слова: гиперлипидемия, тритон WR-1339, Т-образный лабиринт, условный рефлекс, латентный период.

UDC 616.13.002.2-004.6:616-08.8

I. V. Simonova

RAT'S MEMORY CHANGE DYNAMICS AT HYPERLIPIDEMIA

SE "Pharmacology and Toxicology Institute NAMS Ukraine", Kyiv, Ukraine

Dislipidemia with the considerable rise of different fractions in blood is one of main pathogenetic links of a lot of severe diseases with the next development of atherosclerosis, diabetes, metabolic syndrome, overweight and obesity.

The aim of research was studying memory and features of dynamics of its changes depending on the initial level of indexes of teaching and sexual differences at the terms of modelled hyperlipidemia of different extent.

