

APPLICATION OF LOW TEMPERATURE EXPOSURE IN LAPAROSCOPIC SURGERY ON HEPATOBILEAR SYSTEM

S.O. Bychkov, R.M. Grynyov, L.N. Duchik

V.N. Karazin Kharkov National University, Ukraine

SUMMARY

After the carried out experimental researches authors submit experience of performance 101 laparoscopic operation on organs of hepatobiliary system with application of low temperatures influences. For cryoinfluences it was used the own designed cryoapplicator. The analysis of the received results allows to recommend more wide using of low temperatures at laparoscopic operations.

KEY WORDS: gallstone disease, cyst of liver, laparoscopic cholecystectomy, cryoinfluence

УДК: 616.98: 579.841.11.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ДІЇ ЕНХАНСЕРІВ НА НАРОЩУВАННЯ БІОМАСИ МІКРООРГАНІЗМІВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*, ПЕРСПЕКТИВНИХ ДЛЯ БІОТЕХНОЛОГІЇ

Н.І. Городницька, А.В. Мартинов, Т.П. Осолодченко

Державна установа «Інститут мікробіології та імунології імені І.І. Мечникова АМН України», м. Харків

РЕЗЮМЕ

У роботі використовувались музейні та вакцинні штами *Pseudomonas aeruginosa*, енхансери А, В, і С класу ізохінолінів в концентрації 0,1%, 0,01%, 0,001%. Досліджувалась дія енхансерів як окремо, так і в їх комбінації на нарощування біомаси мікроорганізмів, перспективних для біотехнології. Виявлено, що як і при колонієутворенні, так і в нарощуванні біомаси активність проявляє енхансер А, який сприяє накопиченню біомаси в 1,5-2 рази у порівнянні з іншими активаторами росту. Використання комбінації трьох стимуляторів росту А, В, і С нарощує біомасу в 7-8 разів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: біотехнологія, *Pseudomonas aeruginosa*, енхансери, нарощування біомаси

Однією з основних проблем розвитку біотехнології на сьогодні залишається дороговизна кінцевого продукту. Основною причиною цього є вельми повільне нарощування маси мікроорганізмів – продуцентів біотехнологічного продукту та повільний синтез останнього. Для біотехнологічних ліків білкової природи частка основного продукту становить 0,5-0,7% від загальної кількості білку. Відповідно актуальним є розробка засобів збільшення швидкості приросту маси мікроорганізмів у реакторі та збільшення відсотку виходу кінцевого продукту. Збільшення навантаження живильного середовища додатковими метаболітними компонентами має фізіологічні обмеження: адже безперервна подача живильних речовин не здатна збільшити відсоток синтезованого біотехнологічного продукту [1, 2]. Одним з перспективних засобів підвищення як відсотку виходу біотехнологічних білкових продуктів, так і нарощування мікробної маси поза рамками фізіологічної норми є використання активаторів алостеричних ферментів класу фосфокіназ та індукторів синтезу циклічних мононуклеотидів [3].

Таким чином, перспективним завданням є дослідження здатності активаторів (енхансерів) прискорювати синтез біотехнологічних продуктів на прикладі отримання синьогнійного анатоксину та вакцини. Ця технологія дозволяє удосконалити мікробіологічну діагностику шляхом прискорення поділу клітин та появи перших колоній, здешевити вакцинне виробництво та виробництво біотехнологічних продуктів [4, 5].

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Об'єктами дослідження були штами мікроорганізмів, одержані із музею живих культур ІМІ ім. І.І. Мечникова АМН України та рекомендовані для перевірки якості поживних середовищ, а також штам синьогнійної палички для виробництва вакцин:

Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027;

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853;

Pseudomonas aeruginosa 66-16.

Всі штами зберігались в напіврідкому середовищі. Життєздатність клітин підтримували методом пересівів на тверде поживне середовище. Культуральні та морфологічні властивості мікроорганізмів підтверджували

шляхом посіву на м'ясопептонний агар (МПА) та мікроскопією клітин. Стандартні середовища готували відповідно до вимог виробника. В якості стандартного середовища був обраний МПА, м'ясопептонний бульон (МПБ) та для порівняння ростових характеристик – бульон Мартена [6].

В якості енхансерів були досліджені стимулятори росту мікроорганізмів із групи алостеричних активаторів циклічного аденозинмонофосфату: ізохіноліни та імідазоли.

Проводили дослідження енхансерів в концентрації 0,1%; 0,01%; 0,001% і їх комбінацій на швидкість появи колоній мікроорганізмів, їх розміри, форми. Порівнювали біохімічні властивості мікроорганізмів, які зростали у присутності енхансерів та без них на звичайних середовищах. Досліджували динаміку напрацювання мікробної біомаси тест-штамів *P. aeruginosa* на твердих середовищах з використанням комбінації енхансерів.

Оптичну щільність мікробної суспензії визначали за допомогою стандарту мутності

ДИСК ім. Л.А. Тарасовича. Колонієутворення визначали за десятичним логарифмом. Робота з мікроорганізмами проводилась відповідно до нормативних документів [7].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили згідно статистичних методів за критерієм Ст'юдента-Фишера у бактеріологічних дослідженнях [8].

Остаточну відмітку поживної повноцінності експериментального середовища давали після проведення бактеріологічних дослідів, в яких порівнювали властивості стандартних штамів мікроорганізмів при культивуванні їх на контрольних та експериментальних середовищах [9, 10].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Динаміка напрацювання мікробної маси має важливе значення для отримання корисних речовин мікробного походження. Алостеричні активатори циклічного аденозинмонофосфату сприяють підвищенню метаболізму бактерій. В результаті такої дії збільшується кількість мікробних клітин (табл. 1).

Таблиця 1

Кількість мікробних клітин при культивуванні на середовищах, які містять енхансери

Енхансери, концентрація, %	Кількість мікробних клітин штамів мікроорганізмів, млрд/мл, ($\times 10^9$), $M \pm m$		
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 66-16
0,1 А	4,2±0,1	5,1±0,4	4,9±0,4
0,1 В	4,3±0,3	4,6±0,5	4,4±0,3
0,1 С	5,8±0,7	4,5±0,2	4,1±0,2
0,01 А	5,2±0,3	5,5±0,4	5,7±0,5
0,01 В	4,8±0,5	5,3±0,2	5,4±0,3
0,01 С	6,1±0,7	4,9±0,4	4,8±0,3
0,001 А	5,8±0,4	6,3±0,6	6,3±0,4
0,001 В	5,2±0,2	5,6±0,5	5,6±0,5
0,01 С	3,2±0,2	5,2±0,2	5,1±0,4
Контроль	3,2±0,2	3,4±0,1	3,5±0,3

M - середнє значення кількості мікробних клітин штамів мікроорганізмів, млрд/мл, m - середнє відхилення, % - це маса/об'єм.

Як свідчать наведені в таблиці дані біомаса мікробних клітин під впливом активаторів збільшується у порівнянні з контролем (середовище без енхансерів). Кількість клітин при 0,1% концентрації енхансеру А склала $(4,2 \pm 0,2) - (5,1 \pm 0,4) \times 10^9$ /мл. При 0,01% концентрації енхансеру А біомаса збільшується до $(5,0 - 5,5) \times 10^9$ /мл. Концентрація 0,001% енхансеру А сприяє накопиченню мікробних клітин до $(6,0 - 6,5) \times 10^9$ /мл. Як і при колонієутворенні, так і в нарощуванні біомаси, активність проявляє енхансер А, який сприяє накопиченню біомаси в 1,5-2 рази у порівнянні з іншими активаторами росту. За літературними джерелами енхансери збільшують колонієутворення та нарощування біомаси клітин в (10-20) разів, тоді як в наших

дослідженнях цей показник був в (1,5-2) рази. Тому подальші дослідження були направлені на розробку комбінацій різноманітних енхансерів (табл. 2).

Як свідчать дані табл. 2, комбінація двох енхансерів А і В в концентрації 0,01% збільшує кількість мікробних клітин у порівнянні з контролем в (3-4) рази і дорівнювала $(9,4 - 7,2) \times 10^9$ клітин на мл проти $(3,1 - 2,8) \times 10^9$ клітин на мл в контролі. Комбінація трьох стимуляторів росту А, В, та С нарощує біомасу майже в (7-8) разів. При культивуванні *Pseudomonas aeruginosa* кількість біомаси клітин при додаванні двох енхансерів складала $(8-9) \times 10^9$ клітин на мл, тоді як при додаванні трьох стимуляторів $(11-13) \times 10^9$ клітин на мл.

Таблиця 2

Кількість мікробних клітин під впливом комбінації енхансерів

Енхансери, концентрація, %	Кількість мікробних клітин штамів мікроорганізмів, млрд/мл, (10^9), $M \pm m$		
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 66-16
0,01 А 0,01 В	7,2±0,6	8,1±0,8	8,2±0,7
0,01 А 0,01 С	8,3±0,9	9,6±0,8	9,4±0,7
0,01 В 0,01 С	8,2±0,5	9,5±0,7	8,1±0,7
0,01 А 0,01 В 0,01 С	11,8±0,7	10,5±0,8	11,7±0,5
0,001 А 0,001 В	9,2±0,8	9,3±0,9	10,4±0,8
0,001 А 0,001 С	10,8±0,6	9,9±0,8	10,8±0,7
0,001 В 0,001 С	9,1±0,7	9,3±0,7	9,3±0,7
0,001 А 0,001 В 0,001 С	12,8±0,6	11,6±0,7	12,6±0,5
Контроль	2,2±0,1	3,1±0,2	2,8±0,1

M - середнє значення кількості мікробних клітин штамів мікроорганізмів, млрд/мл, m - середнє відхилення, % - це маса/об'єм.

ВИСНОВКИ

1. В результаті досліджень вдалося підвищити відсоток виходу біотехнологічних білкових продуктів та наростити мікробну масу поза рамками фізіологічної норми можна за допомогою активаторів алостеричних ферментів класу фосфокиназ та індукторів синтезу циклічних мононуклеотидів.
2. Виявлено, що як і при колонієутворенні, так і при нарощуванні біомаси активність проявляє енхансер А класу ізохінолінів, який сприяє накопиченню біомаси

в 1,5-2 рази у порівнянні з іншими активаторами росту.

3. Використання комбінації трьох стимуляторів росту А, В, і С нарощує біомасу в 7-8 разів.

Використання комбінації енхансерів А, В і С дозволить прискорити синтез біотехнологічних продуктів на прикладі отримання сінюгнійного анатоксину та вакцини. Ця технологія дозволить удосконалити мікробіологічну діагностику, здешевити вакцинне виробництво та виробництво біотехнологічних продуктів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Осолодченко Т.П., Щетиніна В.М., Ніколаєнко В.М., та ін. // Аналі Мечніківського Інституту. - 2003. - № 4-5. - С. 76-78.
2. Осолодченко Т.П., Щетиніна В.М., Ніколаєнко В.М. та ін. // Аналі Мечніківського Інституту. - 2004. - № 6. - С. 15-17.
3. Иванкин А.Н. Биологически активные вещества из животной ткани и микроорганизмов. Методы получения и структурно-функциональные взаимосвязи: Автореферат. дис... докт. хим. наук. - М., 1998. - С. 39.
4. Адлова Г.П., Денисова С.В., Илджев А.К., и др. // ЖМЭИ. - 1998. - № 1. - С. 13-17.
5. "Основные методы лабораторных исследований в клинической бактериологии". ВОЗ. - Женева. 1994. - С. 112.
6. Меджидов М.М. Справочник по микробиологическим питательным средам. -М.: Медицина. - 2003. - С. 316.
7. Методические указания по применению физико-химических и химических методов контроля медицинских биологических препаратов. -М.: - 1981. - С. 327.
8. Ашмарин В. Математические методы в биологии. -М.: Мир. - 1964. - С. 203.
9. Блинкова П.П., Зотина М.Ю., Щербатых М.В., и др. // ЖМЭИ. - 1995. - № 5. - С. 25-32.
10. Піотрович В.А. // Вісник Білоцерківського державного аграрного університету: Зб. наукових праць. - 2000. - вип. 14. - С. 225-229.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ДЕЙСТВИЯ ЭНХАНСЕРОВ НА НАРАЩИВАНИЕ БИОМАССЫ МИКРООРГАНИЗМОВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*, ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ БИОТЕХНОЛОГИИ

Н.И. Городницкая, А.В. Мартынов, Т.П. Осолодченко

Государственное учреждение «Институт микробиологии и иммунологии имени И.И. Мечникова АМН Украины», г. Харьков

РЕЗЮМЕ

В работе использовались музейные и вакцинные штаммы *Pseudomonas aeruginosa*, энхансеры А, В и С класса изохинолинов в концентрации 0,1%, 0,01%, 0,001%. Исследовалось действие энхансеров как в отдельности, так и в их комбинации на наращивание биомассы микроорганизмов, перспективных для биотехнологии. Выявлено, что как и при колониеобразовании, так и в наращивании биомассы микроорганизмов активность проявляет энхансер А, который благоприятствует накоплению биомассы в 1,5-2 раза в сравнении с другими активаторами роста. Использование комбинации трех стимуляторов роста А, В и С наращивает биомассу в 7-8 раз.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: биотехнология, *Pseudomonas aeruginosa*, энхансеры, наращивание биомассы

STUDY OF THE EFFECT OF ENHANCERS ON BIOMASS GROWTH OF *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*, A PROSPECTIVE MICROORGANISM IN TERMS OF BIOTECHNOLOGY DEVELOPMENT

N.I. Gorodnytska, A.V. Martynov, T.P. Osolodchenko

State establishment «I.I. Mechnykov Institute of Microbiology and Immunology of the Academy of Medical Science of Ukraine», Kharkiv

SUMMARY

Museum and vaccine strains of *Pseudomonas aeruginosa* and also A, B and C type enhancers of izohinolins class of 0,1%, 0,01% and 0,001% concentration were used for this study. The study focuses on the effect that these enhancers, both individually and in combination, have on biomass growth of this highly potential microorganism in terms of biotechnology. It was revealed that A type enhancer appears to be active both in colony -formation and in microorganism biomass growth causing a 1,5 to 2 times biomass growth as compared to other growth activators. Use of combination of these three growth activators may result in 7 to 8 times biomass growth.

KEY WORDS: biotechnology, *Pseudomonas aeruginosa*, enhancer, biomass growth

УДК: [577.4+577.1]:519.24

АНАЛИЗ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА ПРИ АРИТМИЯХ С СОХРАНЕННЫМ СИНУСОВЫМ РИТМОМ: ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ПОДХОД К КЛАСТЕРИЗАЦИИ

А.В. Мартыненко, Н.И. Яблчанский, С.В. Острополец

Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, Украина

РЕЗЮМЕ

Предложен метод, расширяющих границы приложений технологии вариабельности сердечного ритма (ВСР) с ее распространением на аритмии при сохраненном синусовом ритме. В основу разработанного метода положен физиологический подход к кластеризации ритмограммы, сформулированный в виде общего представления об эмпирической гладкости временного ряда. При разделении на независимые источники реальных записей ВСР удастся выделить гармонические и стохастические независимые источники, что подтверждает точность процедуры и адекватность ее результатов физиологическим представлениям о природе ВСР; вычисленные для разделенных источников величины общей мощности хорошо коррелируют с ожидаемыми величинами ТР ВСР для данных возрастных групп. Метод расширяет приложения технологии ВСР в медицинской практике.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: вариабельность сердечного ритма; аритмии сердца; эмпирическая гладкость временного ряда