УДК 616-093/-098

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПОЛИАМИНОВ

¹Бойко О.В., ²Доценко Ю.И., ²Бойко В.И., ¹Мухамедзянова Р.И., ¹Гудинская Н.И.

¹ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет», МЗ РФ Астрахань, e-mail: oboyko08@rambler.ru;

²ФГБОУ ВО «Российская академия народного хозяйства и государственной службы при Президенте РФ», филиал, Астрахань

Полиамины представляют собой одну из биохимических систем, играющих важную роль в защитных реакциях организма. к основным полиаминам животных тканей относятся спермин и спермидин. Путресцин и кадаварин являются диаминами, но их также причисляют к полиаминам. Спермин и спермидин являются низкомолекулярными эндогенными поликатионами и имеют соответственно 4 и 3 основные группы. Путресцин и кадаверин содержат по две аминогруппы. Предложен новый метод дифференциация этиологически значимых микроорганизмов от представителей нормальной микрофлоры или контаминантов на основании устойчивости выделенных бактерий к солянокислым спермину и спермидину. Метод отличается простотой исполнения и хорошей воспроизводимостью, а также высокой достоверностью получаемых результатов. Полученые результаты свидетельствуют о преимущественно бактерицидном эффекте спермина, независимо от видовой принадлежности выделенного микроорганизма. Принципиальных же отличий уровня чувствительности к полиаминам между видами разными бактериями выявлено не было.

Ключевые слова: полиамины, спермин, спермидин, бактерионосительство, диагностика

DIAGNOSTIC VALUE OF POLYAMINES

¹Boiko O.V., ²Docenko Y.I., ²Boiko V.I., ¹Muhamedzyanova R.I., ¹Gudinskaya N.I.

¹Astrakhan State Medical University, Astrakhan, e-mail: oboyko08@rambler.ru; ²Russian Academy of National Economy and Public Administration under the President of Russian Federation, branch, Astrakhan

The polyamines are one of the biochemical systems that play an important role in the protective reactions of the organism. There are main animal tissues polyamines spermine and spermidine. Putrescine and kadavarin are diamine, but they are also considered to polyamines. Spermine and spermidine are endogenous low-molecular polycations are respectively 4 and 3 and the basic group. Putrescine and cadaverine contain two amine groups. Present new method for the differentiation of normal and pathogenic microflora on the basis of the stability of the isolated bacteria to the hydrochloride spermine and spermidine. The method is simple and highly high reliability of the results. These results indicate predominantly spermine bactericidal effect, regardless of species belonging isolated microorganism. Important differences the sensitivity to polyamines between different species of bacteria have been identified

Keywords: polyamines spermine, spermidine, bacteria carrier diagnostics

Одной из интегральных биохимических систем, играющих важную роль в защитных реакциях организма является набор полиаминов (спермин, спермидин, путресцин).

Их можно отнести к тем биологически активным молекулам, динамика показателей которых широко используется различными исследователями в диагностике патологий различных органов и систем [1,3,5,8,9,12,13]. Полиамины содержатся в милли – и наномолярных количествах во многих физиологических жидкостях (желчи, поте, слюне, сперме, цереброспинальной, дуоденальной, амниотической жидкостях). Существует прямая зависимость между содержанием полиаминов (спермина) и рибонуклеиновых кислот, в основном рибосомальной РНК, в плаценте [15].

В связи с тем, что полиамины достаточно редко фигурируют в литературе, посвященной различным нозологическим формам, уместно более подробно остановиться на их характеристике.

Изучение представителей классов полиаминов было начато Левенгуком более 300 лет назад. в 1677 г. он описал полученное из спермы кристаллическое вещество, которое было, по-видимому, сперминфосфатом. Позднее многие естествоиспытатели наблюдали кристаллы, образующиеся при медленном засыхании свежего человеческого и животного семени, если последнее оставить в спокойном состоянии около часа, представляющие собой остроугольные призмы, весьма часто изогнутые с выпуклыми поверхностями, однако природа этих кристаллов оставалась неясной. в 1878 г. Schreiner удалось выделить основание этих кристаллов - спермин, хотя и не вполне в чистом виде. Название «спермин» было предложено Ladenburg и Abel в 1888 г.

Ранее ошибочно полагали, что спермин встречается только в предстательной железе и это вещество свойственно лишь мужскому организму. Однако, русский ученый профессор А.В. Пель впервые обнаружил,

что спермин не является исключительной составной частью лишь мужских репродуктивных органов: он установил наличие спермина не только в предстательной железе, но и в яичках, яичниках, поджелудочной железе, селезенке, щитовидной железе, а также в крови. Им был создан препарат «Sperminum-Poehl», который широко использовали в конце 19, начале 20 века для лечения различных заболеваний. в 50-е годы прошлого столетия, когда было установлено, что спермин Пеля не является гормональным препаратом, он был снят с производства.

После исследования А.В. Пеля полиамины на протяжении многих лет особого внимания не привлекали. Периодически появлялись лишь описания свойств того или иного полиамина, которым давали названия по объекту, из которого они были выделены: путресцин — из продуктов гниения, кадаверин — из трупного яда, спермидин — из спермы животных. Химическая структура спермина была расшифрована Rosenheim лишь в 1924—1926 гг. Он же синтезировал спермин и на его основе спермидин.

К основным полиаминам животных тканей относятся спермин и спермидин. Путресцин и кадаварин являются диаминами, но их также причисляют к полиаминам. Спермин и спермидин являются низкомолекулярными эндогенными поликатионами и имеют соответственно 4 и 3 основные группы. Путресцин и кадаверин содержат по две аминогруппы [15].

Можно сказать, что полиамины обнаружены во всех живых организмах (у животных и растений, в водорослях и грибах, бактериях и даже вирусах). в тканях и биологических жидкостях животных присутствуют спермин, спермидин, путресцин же содержится лишь в незначительных количествах. Ткани эукариотов содержат спермин и спермидин в миллимолярных концентрациях и в значительно в меньших количествах — путресцин (наномоли). у прокариотов содержание путресцина более высокое, чем спермидина, а у большинства бактерий, за исключением лишь некоторых видов отсутствует спермин [7,14,15].

Публикаций о влиянии полиаминов на биохимию бактериальной клетки крайне мало. Информация большинства из них сводится к следующему: рост некоторых видов бактерий облигатно или факультативно связан с наличием полиаминов. Повышенные концентрации этих биогенных поликатионов подавляют клеточное деление, вследствие образования их активных метаболитов — альдегидов полиаминов. Окисленные производные полиаминов (иминоальдеги-

ды) оказывают антибактериальное, антивирусное и антиопухолевое действие, угнетая синтез белка и нуклеиновых кислот [2, 4, 6, 10, 11].

Целью настоящей работы исследование воздействия полиаминов на микроорганизмы, выделенные из различных биологических жидкостей человека, а также разработка методики для реализации этой цели.

Материалы и методы исследования

С целью определения антибактериального эффекта полиаминов, в опыте нами были использованы следующие виды микроорганизмов: штаммы Е. coli, К. pneumoniae, S. aureus и S. epidermidis, выделенные из спермы больных хроническим простатитом, а также микробы из фекалий и отделяемого пупочной ранки больных детей, наряду с этим были использованы бактерии, выделенные со слизистой зева пациентов с хронической рецидивирующей инфекцией верхних дыхательных путей. Все микроорганизмы были выделены с использованием стандартных реактивов, наборов и сред фирмы Lachema (Чехия) и Віо Rad (США) и были типичны по своим характеристикам.

Подобный выбор объясняется тем, что основными возбудителями инфекций самой разнообразной локализации, в том числе и урогенитального тракта мужчин, влекущих за собой развитие патоспермии, как правило, являются представители обычной аутофлоры человека. Поскольку в структуре микроорганизмов, выделенных из эякулята здоровых мужчин и больных бесплодием, доминируют представители условно патогенной флоры, очевидно, что дифференциация этиологически значимых микроорганизмов от представителей нормальной микрофлоры или контаминантов должна основываться на выявлении качественных признаков, характерных для патогенных микроорганизмов.

Методика для определения чувствительности бактерий к полиаминам была предложена нами и включала следующие этапы:

- 1. Приготовление раствора солянокислого спермина в концентрации 0,1 мг/мл и раствора солянокислого спермидина 0,1 мг/мл;
- 2. Приготовление взвеси исследуемых культур в физиологическом растворе в концентрации 10^{20} КОЕ/мл по стандарту мутности (ГИСК им. Тарасевича).
- 3. В три пробирки помещали по 0,3 мл взвеси испытуемой культуры (1 штамм 3 пробирки).
- 4. В пробирку 1 дополнительно вносили 0,2 мл физиологического раствора;
- в пробирку 2 вносили 0,2 мл солянокислого спермина (его конечная концентрация составляла 0,04 мг/мл);
- в пробирку 3 вносили 0,2 мл солянокислого спермидина (его конечная концентрация составляла 0,04 мг/мл).
- 5. Инкубировали пробирки при 37°C в течение 30 мин.
- Останавливали реакцию добавлением во все 3 пробирки по 5 мл питательного бульона.
- 7. Измерение оптической плотности растворов проводили на фотоэлектрокалориметре это ОП 1.
- 8. Инкубировали пробирки при 37°C в течение 2 ч для размножения оставшихся в живых бактериальных клеток.

- 9. Повторно измеряли оптическую плотность растворов на фотоэлектрокалориметре это ОП2.
- 10. Вычисляли произошедшее изменение ОП в контроле и опытных пробирках по формуле: ΔОП=ОП2-ОП1.

Бактерицидный эффект испытуемого вещества рассчитывается следующим образом:

Бактерицидный эффект= $=\Delta O\Pi \kappa - \Delta O\Pi o / \Delta O\Pi \kappa$,

где $\Delta O\Pi \kappa$ — изменение оптической плотности в контроле; $\Delta O\Pi o$ — изменение оптической плотности в опыте.

Результаты исследования и их обсуждение

В ходе эксперимента было установлено, что после контакта с концентрацией 0,04 мг/мл солянокислого спермина, либо солянокислого спермидина, микроорганизмы отличались различной степенью выживаемости.

Прежде всего, было установлено, что спермин обладает более высокой антимикробной активностью, чем спермидин. к примеру, количество штаммов, сохранивших более чем 95,0% живых клеток после контакта с раствором спермина, составило 41,0% культур, а со спермидином -65,0% (p<0,05).

В 73 случаях из 100 при постановке пробы на выживаемость одного и того же штамма количество выживших микроорганизмов было меньшим после контакта со спермином, и только в 12 пробах после контакта со спермидином. Оставшиеся 15 культур отличались идентичной устойчивостью к обоим полиаминам.

Следующим этапом исследований было выявление различий в устойчивости к полиаминам у микроорганизмов разных видов. при этом использовались только культуры бактерий, «уцелевшие» после контакта с полиаминами.

Видовая устойчивость к спермину и спермидину представлена в таблице.

Материалы, приведенные в данной таблице, также свидетельствуют о преимущественно бактерицидном эффекте спермина, независимо от видовой принадлежности выделенного микроорганизма. Принципиальных же отличий между видами разными бактериями выявлено не было.

Однако, наиболее убедительные результаты получены нами при попытке выявить уровень чувствительности бактерий к полиаминам в зависимости от их местообитания: только 25% бактерий, выделенных из спермы, были чувствительны к полиаминам (из них 25% только к спермидину, 25% – только к спермину, оставшиеся же одинаково чувствительны к обеим полиаминам). Остальные 75% бактерий, выделенных из урогенитального тракта мужчин, полностью сохраняли свою жизнеспособность, в то время как микроорганизмы, выделенные из других экологических ниш, были в целом чувствительны к полиаминам (85,1 % из них к спермидину и 91,0% – к спермину). Таким образом, с достоверностью р<0,01 можно констатировать, что вариабельность устойчивости бактерий к полиаминам в значительной степени обусловлена их средой обитания (r=0,8).

По-видимому, это связано с тем, что в ходе эволюционного развития болезнетворные микроорганизмы приспособились к росту в различных тканях хозяина. Можно предположить, что высокая степень тканевой специфичности, которая присуща многим микробам, отражает различие между тканями в отношении состава биохимической среды — по крайней мере, в тех случаях, когда нет очевидных различий в защитных механизмах.

Мы полагаем это направление исследований достаточно перспективным, так как рекомендуемый критерий будет соответствовать, по меньшей мере, двум требованиям: характеризовать патогенный потенциал выделенного микроорганизма и отражать

Видовая устойчивость различных видов микроорганизмов к полиаминам (M±m)

Микроорганизмы	% жизнеспособных клеток после контакта с растворами полиаминов	
	Спермидин	Спермин
E. coli (n=40)	92,0±0,5	81,0±0,9
K. pneumoniae (n=40)	94,9±0,3	78,2±0,5
S. aureus (n=35)	88,6±0,34	73,1 ±0,81
S. epidermidis (n=45)	97,7±0,57	74,2±0,5

принадлежность выделенной бактерии к определенной эконише. Целесообразно проводить подобное исследование в случае решения спорных вопросов по установлению этиологического агента при хронических, трудно поддающихся терапии воспалительных заболеванях урогенитальной сферы. по материалам, изложенным в статье, получен патент № 2251691 «Способ определения патогенности микроорганизмов Staphylococcus epidermidis, выделенных из спермы».

Известно, что биологические жидкости, являющиеся продуктом жизнедеятельности соответствующих органов, тканей и систем, наибольшим образом характеризуют именно их состояние, а анализ и исследование этих жидкостей позволяет более четко выявить наличие патологических изменений. Таким образом, исследование полиаминов позволяет косвенно судить и биосинтетических возможностях организма.

Определение содержания полиаминов в различных биологических жидкостях может служить одним из вспомогательных тестов как ранней диагностики, так и достоверным критерием эффективности проводимой терапии.

Список литературы

- 1. Бахмутова Л.А. Выявление эмбрионального гемоглобина в крови новорожденных с внутриутробной гипоксией / Л.А. Бахмутова, Ю.А. Кривенцев, Л.А. Огуль // Вопросы практической педиатрии. 2006. Т. 1. $N\!\!\!_{\odot}$ 4. С. 12.
- 2. Бисалиева Р.А., Кривенцев Ю.А., Бисалиев Р.В., Кальной В.С. Иммунохимический анализ фетального гемоглобина в крови наркологических больных // Наркология. -2009. Т. 8. № 1. С. 95 97.
- 3. Бойко В.И., Доценко Ю.И., Бойко О.В. Острофазовые белки в слюне рабочих на предприятии по переработке природного газа и конденсата с высоким содержанием сероводорода // Клиническая лабораторная диагностика. 2011. $N\!_{2}6.$ C.18—20.

- 4. Бойко О.В., Терентьев А.А., Николаев А.А. Методические аспекты использования солянокислых спермина и спермидина для идентификации уропатогенной микрофлоры.// Проблемы репродукции. -2010. -№3. -C. 77–79.
- 5. Бойко О.В., Ахминеева А.Х., Гудинская Н.И. и др. Биохимические и иммунологические маркеры в диагностике патологических состояний // Фундаментальные исследования. 2013. N9. С. 327–329.
- 6. Бойко О.В., Терентьев А.А., Ахминеева А.Х. Диагностическое значение уровня неоптерина в биологических жидкостях при патологии предстательной железы. // Проблемы репродукции. $2013. N \cdot 5. C.71-72.$
- 7. Бойко О.В., Ахминеева А.Х., Гудинская Н.И., Бойко В.И., Козак Д.М. Возрастные изменения иммунных, морфологических и биохимических показателей репродуктивной системы мужчин // Успехи геронтологии. 2014. Т. 27. № 1. С. 50–53.
- 8. Белопасов В.В., Локтионова А.И., Мухамедзянова Р.И. Особенности паркинсонизма при нейродегенеративных заболеваниях // Астраханский медицинский журнал. 2008. Т. 3. №2. С. 98—101.
- 9. Белопасов В.В., Мухамедзянова Р.И., Андреев М.К., Левитан Б.Н. Клиническая дифференциация печеночной энцефалопатии (ПЭ) у больных циррозом печени.//Вятский медицинский вестник. 2002. № 1. С. 46–47.
- 10. Кривенцев Ю.А., Бисалиева Р.А., Ишмемедова Л.М., Носков А.И., Рамазанов М.В. Новый способ клинической оценки гемоглобинового спектра // Сибирский медицинский журнал. Иркутск. 2011. Т 102, № 3. С. 52–54.
- 11. Кривенцев Ю.А., Бисалиева Р.А., Осыко С.В., Кривенцева М.Ю., Носков А.И. Гемоглобиновый профиль при гемобластозах // Казанская наука. 2010. № 9. С. 23—26.
- 12. Локтионова А.И., Мухамедзянова Р.И., Шишкина А.И., Поротикова Т.А. Гиперсомния: проблемы диагностики // Астраханский медицинский журнал. -2011. Т. 6. № 2. С. 205-208.
- 13. Мухамедзянова Р.И., Белопасов В.В., Куликов И.А., Корецкая Л.Р. Неврологические проявления дезоморфиновой наркомании // Неврология и нейрохирургия Восточная Европа. -2012. № 4 (16). -C. 13–20.
- 14. Филяев В.Н., Мартова О.В., Бойко О.В. и др. Динамика уровня и структуры заболеваемости внутрибольничными инфекциями в Астраханской области // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2004. N3. C.17–18.
- 15. Tabor C.W., Tabor H (1994) Polyamines // Annu. Rev. Biochem. Vol.53. P.749–790.