

5. *Войтова Д.Н., Оттин Т.Ф.* Микобактериозы // Проблемы туберкулеза. — 1995. — № 5. С. 11–14.
6. *Вуль С.М.* О роли некоторых атипичных микобактерий в патологии человека // Проблемы туберкулеза. — РІК — № 9. — С. 66–70.
7. *Зыков М.П., Ильина Т.Б.* Потенциально патогенные микобактерии и лабораторная диагностика микобактериозов — М: «Медицина» 1978. — С. 22–24; 145–160.
8. *Ильина Т.Б., Оречкина М.Л.* Применение некоторых биохимических методов для дифференциации микобактерий // Лабораторное дело. — 1972. — № 11. — С. 685–688.
9. *Лотоцкая Р.А., Зеберга А.К.* Выделение и идентификация атипичных микобактерий // Здравоохранение (Кишинев). — 1976. — № 2. — С. 21–23.
10. *Лотоцкая Р.А., Кузнцова Е.Е., Соулите В.М., Зеберга А.К., Имкена Л.Я., Лащенко Е.Л., Фрейдман Б.Н., Залесский Р.Р.* К вопросу о нетуберкулезных микобактериях и микобактериозе // Проблемы туберкулеза. — 1979. — № 9 — С. 58–61.
11. *Новожилова И.А.* Микобактериозы: прошлое, настоящее и будущее // Український пульмонологічний журнал. — 2004. — № 2. — С. 3–7.
12. *Сибірна Р.І., Литвин Л.М., Сибірний А.В., Гречуха Н.Г., Юкало В.Е.* Діагностика особливості клінічної картини й перебігу мікобактеріозів // Лікарська справа. — 1999. — №1. — С. 88–90.
13. *Яворська Г.В.* Морфолого-культуральні особливості мультирезистентних штамів *Mycobacterium tuberculosis* // Вісник Львівського університету: Сер.: біологічна. — 2004. — Вип. 38. — С. 165–170.

Отримано 12.02.2008

УДК 579.22+579.26+579.84+616.89

**Т.П. Криштаб¹, В.О. Романовська¹, Н.А. Стогній², Т.В. Ковтун²,
Д.С. Лебедев², Г.М. Тищенко²**

¹Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ МСП, Д03680, Україна

²Український НДІ соціальної і судової психіатрії та наркології МЗ України,
вул. Фрунзе, 103, Київ, 80, Україна

АНТИАЛКОГОЛЬНА І АНТИНАРКОТИЧНА ДІЯ METHYLOBACTERIUM EXTORQUENS УКМ В-3368

Показано ефективність дії мікробної біомаси на характерні показники при алкогольній і морфінній інтоксикації організму. Досліджена мікробна біомаса впливає на регуляторні біохімічні і фізіологічні системи у експериментальних тварин, нормалізуючи активність алкогольдегідрогенази та альдегіддегідрогенази, а також вміст дофаміну, які порушені під впливом алкоголю і морфіну. Завдяки цьому знижується інтоксикація організму. Окрім специфічної дії, дана мікробна біомаса може бути джерелом білку, амінокислот, вітамінів, мікроелементів. Тому розроблений на її основі мікробний препарат може бути використано для лікування алкогольної і наркотичної залежності у вигляді біологічно активної добавки. Таким чином, розроблено мікробний препарат, призначений для лікування алкогольної і опійної залежності. Один із механізмів його дії базується на здатності мікроорганізмів трансформувати спирти і альдеїди, завдяки наявності алкоголь- і альдегіддегідрогенази, інші механізми його дії знаходяться у стадії дослідження.

Ключові слова: алкогольна і наркотична залежність, бактерії, мікробний препарат.

На даний час відомі засоби для лікування залежності від алкоголю і наркотиків недостатньо ефективні. Наявні препарати лише знижують інтоксикацію, купірують абстиненцію, тим самим тимчасово поліпшують загальний стан хворих. Для лікування хворих з алкогольною та опійною залежністю використовуються, зокрема, препарати природного походження (з рослинної сировини), за приготуванням це досить трудомісткі процедури і за дією недостатньо ефективні [10]. Існують препарати на основі рецептів давньокитайської медицини, в сучасному сприйнятті — це біологічні харчові добавки, які складають протиалкогольний комплекс із продуктами харчування [19, 20]. Ці добавки лише пом'якшують токсичну дію етанолу і його метаболітів, і можуть використовуватися з метою профілактики.

Відомо, що при зловживанні алкоголем в організмі відбувається порушення метаболізму етанолу, змінюється активність основних ферментів його метаболізму (алкогольдегідрогенази та ацетальдегіддегідрогенази), що призводить до накопичення в органах

© Т.П. Криштаб, В.О. Романовська, Н.А. Стогній, Т.В. Ковтун, Д.С. Лебедев, Г.М. Тищенко, 2009

і тканинах отруйної речовини – ацетальдегіду [2, 9]. Ендогенний етанол і продукт його окислення (ацетальдегід) постійно наявні в організмі в незначних кількостях. Ацетальдегід виконує функцію регулятора тканинного дихання, а його зниження призводить до різкого порушення використання кисню, окисно-відновних процесів тощо. Збільшення вмісту ацетальдегіду (внаслідок надходження екзогенного етанолу) викликає гостру токсичну дію. Ацетальдегід може блокувати білки, деякі кофактори, змінювати властивості ліпідних мембран тощо. Чинником виникнення алкогольної залежності є суттєві порушення метаболізму етанолу, що призводить до накопичення ацетальдегіду [2, 4].

В основі створення запропонованого нами мікробного препарату для лікування алкогольної та опійної залежності покладено здатність мікроорганізмів трансформувати вуглеводні через спирти і альдегіди до CO_2 . Можливим механізмом дії мікробного препарату є його здатність впливати на вміст ацетальдегіду (знижувати його концентрацію) в алкоголізованому організмі, шляхом відновлення активності алкогольдегідрогенази [5, 7, 8]. Ці дані, які було одержано нами раніше, були підставою для розробки антиалкогольного та антинаркотичного засобу на основі біомаси метанокислюючих бактерій *Methylococcus thermophilus* В-3126. Однак недоліками цього засобу вважається необхідність використання метану (як єдиного вуглецевого субстрату), що потребує складного технічного обладнання. Тому мета даної роботи розробити спосіб одержання антиалкогольного та антинаркотичного мікробного препарату шляхом використання біомаси штаму бактерій, для якого джерелом вуглецю є спирт, вивчити дію препарату на характерні метаболічні порушення у тварин під впливом алкоголю або морфіну.

Матеріали і методи. Об'єктами дослідження були виділені нами метилотрофні бактерії *Methylobacterium extorquens* УКМ В-3362 (=ІМВ В-7153), *Methylobacterium extorquens* УКМ В-3368 (=В9); а також бактерії та дріжджі, які було надано співробітниками Інституту мікробіології і вірусології НАН України: Пирог Т.П. – *Acinetobacter* sp. ІМВ В-7005 (=Інг); Нагорною С.С. – *Sacharomices cereviseae* 549, *Candida tropicalis* К-41, *Candida cruseae* 1805. Скорочення: УКМ – Українська колекція мікроорганізмів, ІМВ – депозитарій мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології НАН України.

Культивування мікроорганізмів проводили на агаризованих мінеральних середовищах. Склад середовища К (г/л): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 0,5; KH_2PO_4 – 0,4; $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ – 0,4; NaCl – 0,3; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,3; $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 0,02; $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 0,001; метанол (або етанол) – 5мл, водопровідна вода – 0,7л; дистильована вода – 0,3л, агар – 20; склад середовища М (г/л): NH_4NO_3 – 0,6; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,4; $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 0,1; $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ – 7,24; KH_2PO_4 – 3,54; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,001; метанол (або етанол) – 5мл, водопровідна вода – 0,7 л; дистильована вода – 0,3 л, агар 20 г. Для вирощування мікроорганізмів використовували також стандартні середовища: сусло-агар та м'ясо-пептонний агар (МПА) Культивування здійснювали при температурі 30 °С (24–48 год, залежно від штаму).

Культивування мікроорганізмів проводили також у рідкому середовищі вищенаведеного складу (за винятком агару) в колбах (об'ємом 1 л або 3 л) на качалках (280 обертів/хв) при 30 °С (рН середовища 6,7–6,9; час культивування – 24–36 год). Культуральну рідину центрифугували (5000 g, 20 хв), осад (клітини мікроорганізмів) суспендували у воді. Далі осад ліофільно висушували в сублімаційній сушці типу LZ-9,2 при температурі –40 °С (на вході) та +25 °С (на виході) під вакуумом (5–6 Паскаля, 28 год). Ліофільно висушену біомасу мікроорганізмів надалі використовували умовно називаючи «мікробним препаратом».

Антиалкогольну та антинаркотичну дію мікробного препарату оцінювали, використовуючи безпородних білих пацюків (статевозрілих самців) масою 250–280 г. Визначали у сироватці їх крові активність алкоголь- і альдегіддегідрогенази, холінестерази та вміст малонового діальдегіду, що відображає інтенсивність перекисного окислення ліпідів. Визначали також вміст дофаміну в різних структурах мозку (гіпоталамус, середній мозок і нова кора).

Гостру алкогольну інтоксикацію у тварин викликали внутрішньочеревинним введенням субнаркотичної дози етанолу із розрахунку 1мл 25 % розчину етанолу на 100 г маси тварини. Для визначення дії мікробного препарату його вводили внутрішньошлунково (50 мг/100 г маси тварини) за 30 хв до введення етанолу. Декапітацію тварин проводили через 60 хв після введення етанолу.

Хронічну алкогольну інтоксикацію у тварин викликали алкоголізацією їх протягом 10 днів. Перші п'ять днів алкоголь вводили внутрішньочеревинно з розрахунку 1 мл 25 % розчину етанолу на 100 г маси тварини, а мікробний препарат вводили внутрішньошлунково (50 мг/100 г маси тварини). Протягом наступних п'яти днів тварин тримали в умовах вільного доступу до розчину етанолу, а препарат тварини споживали самостійно щодня разом із кормом.

Активність алкогольдегідрогенази (АДГ) визначали за методикою [18]. Принцип методу заснований на здатності алкогольдегідрогенази каталізувати дві послідовні реакції: 1) окислювання бутанолу за участю НАД; 2) відновлення *p*-нітрозодиметиланіліну (НДМА), опосередковане НАДН, що утворився під час першої реакції. Про активність алкогольдегідрогенази судили за швидкістю знебарвлення НДМА, яке вимірювали за допомогою спектрофотометра СФ-46 при довжині хвилі 440 нм.

Активність альдегіддегідрогенази (АлДГ) визначали за методикою [13], принцип якої заснований на здатності альдегіддегідрогенази окислювати ацетальдегід, використовуючи як кофактор НАД.

Активність холінестерази визначали за допомогою біотесту (LACHEMA). Принцип методу заснований на здатності ферменту розщеплювати субстрат бутирил-тіохолінійодид на масляну кислоту і тіохолінійодид, що вступає в реакцію з дітіо-біс-нітробензойною кислотою з утворенням жовтого забарвлення. Активність холінестерази визначали за збільшенням оптичної густини інкубаційної суміші при 405 нм на СФ-46.

Вміст дофаміну в структурах мозку визначали за допомогою методу колоночної хроматографії на сефадексі G-10 [17].

Вміст малонового діальдегіду (МДА) визначали на СФ-46 при довжині хвилі 535 нм. Принцип методу базується на взаємодії тіобарбітурової кислоти з продуктами перекисного окислювання ліпідів з утворенням забарвлених сполук [12].

Хімічний склад мікробного препарату. Білок визначали методом Кельдаля, амінокислоти – автоматичним аналізатором амінокислот АА-300-39, ліпіди – модифікованим методом Педерсена [6], вуглеводи – за допомогою фенол-сірчаного методу [16], мікроелементи – методом атомної абсорбції з використанням електрофотометру АА-8500F (Японія), вітаміни – стандартним мікробіологічним методом. Каротиноїди екстрагували сумішшю розчинників (метанол-хлороформ).

Результати та їх обговорення. Скринінг мікроорганізмів-продуцентів антиалкогольного та антинаркотичного препарату проводили серед мікроорганізмів, які використовують спирти. Для їх тестування вивчали показники, які характерні при алкогольній інтоксикації: активність алкогольдегідрогенази, альдегіддегідрогенази, перекисного окислення ліпідів, холінестерази. Особливу увагу приділяли такому специфічному фактору, як альдегіддегідрогеназа, тому що даний фермент метаболізує ацетальдегід до нешкідливих продуктів, чим спричинює його детоксикацію. Тестування за цими показниками мікроорганізмів *Methylobacterium extorquens* УКМ В-3362, *Methylobacterium extorquens* УКМ В-3368, *Acinetobacter* sp. ІМВ В-7005, *Sacharomices cerevisiae* 549, *Candida tropicalis* К-41 та *Candida cruseae* 1805 показало перспективність використання саме *Methylobacterium extorquens* УКМ В-3362 для створення мікробного препарату з антиалкогольною та антинаркотичною дією (рис. 1). Тому подальші дослідження були проведені з цим штамом.

Штам УКМ В-3362 було ізольовано в 1995 р. із природного середовища (дерново-підзолистий ґрунт під виноградом *Vitis* sp., Україна). Штам зберігається в УКМ (УКМ В-3362) та депозитарії Інституту (ІМВ В-7153). З використанням фенотипових тестів та сиквенс-аналізу нуклеотидних послідовностей гену 16S рРНК штам УКМ В-3362 було ідентифіковано як *Methylobacterium extorquens* [10]. Штам не потребує вітамінів та інших ростових факторів. Патогенних властивостей не виявлено.

Визначено хімічний склад мікробного препарату. Він містить (у % від сухої маси клітин): 40 % білку, 23,8 % амінокислот (табл. 1), з яких аргінін, аланін, аспаргінова кислота, глутамінова кислота, лейцин, гліцин становлять більшість. Ці амінокислоти є основними компонентами структури поліпептидного комплексу адренкортикостероїдного гормону, який відіграє певну роль у патогенетичній терапії алкоголізму [3]. Інші сполуки: ліпіди – 5,38 %; вуглеводи – 3,7 %; мікроелементи: Mg – 1,98 %; Ca – 9,44 %; Na – 7,59 %; K – 7,11 %;

P – 0,92 %; Fe – 0,08 %; вітаміни: B₁ – 10,0 мкг/г, B₂ – 33,2 мкг/г, B₁₂ – 2,7 мкг/г, PP – 378,75 мкг/г; каротиноїди – 10,0 мкг/г.

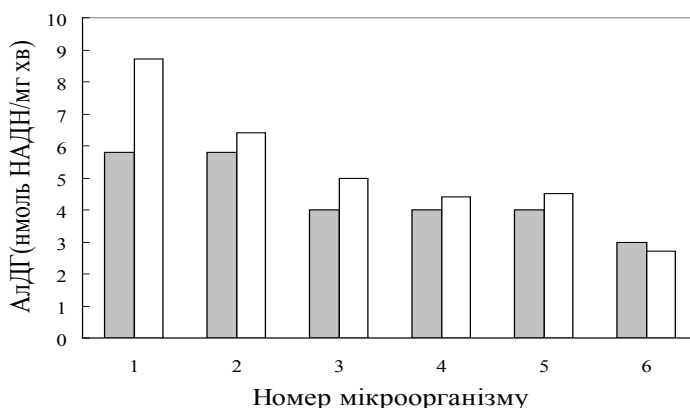


Рис. 1. Вплив біомаси різних мікроорганізмів (незаштриховані стовпчики) на активність альдегіддегідрогенази у тварин при алкогольній інтоксикації

Заштриховані стовпчики – активність альдегіддегідрогенази у тварин при алкогольній інтоксикації, але без введення мікробної біомаси.

- 1 – *Methylobacterium extorquens* УКМ В-3362, 2 – *Methylobacterium extorquens* УКМ В-3368,
3 – *Acinetobacter* sp. IMB В-7005, 4 – *Candida cruseae* 1805, 5 – *Candida tropicalis* К-41,
6 – *Sacharomices cereviseae* 549

Таблиця 1

Амінокислотний склад біомаси *Methylobacterium extorquens* В-3362

Амінокислоти	% від сухої маси біомаси	% від загального вмісту амінокислот
Лізин	1,425	5,98
Гістидин	0,436	1,83
Аргінін	2,546	10,68
Аспаргінова к-та	1,613	6,77
Треонін	1,096	4,60
Серин	0,865	3,63
Лутамінова к-та	4,100	17,20
Пролін	1,278	5,36
Гліцин	1,445	6,06
Аланін	2,641	11,08
Цистін	0,053	0,22
Валін	1,439	6,04
Метіонін	0,069	0,29
Ізолейцин	0,975	4,09
Лейцин	2,001	8,40
Тирозин	0,790	3,31
Фенілаланін	1,066	4,47
Загальна сума	23,838	

Вплив препарату на деякі біохімічні показники тварин. Тварини було розділено на дві групи: 1) інтактні тварини; 2) тварини, яким через зонд у шлунок однократно вводили препарат (за 1,5 години до декапітації). Як видно з табл. 2, при введенні препарату контрольним тваринам активність алкогольдегідрогенази підвищується в 1,6 рази, а альдегіддегідрогенази – в 2,5 рази, що сприяє посиленню окислювання алкоголю й особливо ацетальдегіду, який, як відомо, у великих концентраціях є дуже токсичною сполукою;

вміст дофаміну вірогідно знижується в досліджуваних структурах мозку, активність хо- лінестерази і малонового діальдегіду не змінюється порівняно з інтактними тваринами, які не отримували препарат.

Таблиця 2

Вплив мікробного препарату на метаболічні процеси у тварин

Показники	Групи тварин	
	Інтактні тварини	Тварини + препарат
АДГ (нмоль НАД/хв · мг)	0,064 ± 0,020	0,10 ± 0,028*
АлДГ (нмоль НАДН/хв · мг)	3,95 ± 0,13	9,94 ± 0,68*
Холінестераза (мккат/л)	4,1 ± 0,5	4,9 ± 0,6
МДА (мкМ/л)	5,80 ± 0,04	6,00 ± 0,05
Дофамін (мкг/г тканини)		
- Гіпоталамус	1,66 ± 0,06	1,26 ± 0,04*
- Середній мозок	0,42 ± 0,01	0,37 ± 0,01*
- Нова кора	0,40 ± 0,01	0,32 ± 0,01*

Примітка. АДГ – алкогольдегідрогеназа, АлДГ – альдегіддегідрогеназа, МДА – малоновий діальдегід. *Вірогідність стосовно контрольних тварин ($p < 0,05$). М – постійна величина; m – перемінна величина ($M \pm m$).

Вплив мікробного препарату на інтенсивність метаболічних процесів у тварин із гострою і хронічною алкогольною інтоксикацією. Усі тварини були розділені на три групи: 1) інтактні; 2) алкоголізовані; 3) алкоголізовані + мікробний препарат. Тваринам алкоголізованої групи однократно внутрішньочеревино вводили розчин етанолу з розрахунку 1,0 мл/ 100 г маси тіла. Тваринам третьої групи однократно через зонд у шлунок вводили мікробний препарат за 30 хв до введення етанолу. Потім проводили декапітацію тварин.

Як видно з наданих результатів (табл. 3), у тварин при введенні етанолу статистично вірогідно підвищується активність алкогольдегідрогенази й альдегіддегідрогенази порівняно з інтактними тваринами, що відображає фермент-субстратну взаємодію. Під впливом мікробного препарату активність цих ферментів підвищується в 1,5–2 рази. Активність холінестерази при навантаженні тварин етанолом знижується й нормалізується під впливом препарату. При алкогольній інтоксикації відзначається підвищення вмісту малонового діальдегіду, що має тенденцію до зниження при введенні мікробного препарату.

Таблиця 3

Вплив мікробного препарату на активність алкогольметаболізуючих ферментів, холінестерази і вміст малонового діальдегіду за умов гострої алкогольної інтоксикації

Показники	Групи тварин		
	Інтактні тварини	Алкоголізовані тварини	Алкоголізовані тварини + препарат
АДГ (нмоль НАД/хв · мг)	0,10 ± 0,01	0,20 ± 0,03*	0,40 ± 0,10*
АлДГ (нмоль НАДН/хв · мг)	4,30 ± 0,80	6,0 ± 0,9	9,30 ± 0,90*
Холінестераза (мккат/л)	4,1 ± 0,5	2,80 ± 0,25*	4,30 ± 0,47*
МДА (мкМ/л)	5,70 ± 0,04	8,10 ± 0,66*	7,00 ± 0,59

Примітка. Див. табл. 2.

В умовах хронічної алкогольної інтоксикації використання мікробного препарату сприяло нормалізації активності алкогольдегідрогенази та підвищувало активність альдегіддегідрогенази (табл. 4). Підвищення активності алкогольдегідрогенази у сироватці крові тварин в умовах хронічної алкогольної інтоксикації під впливом мікробного препарату сприяє швидшому окисленню ацетальдегіду, що, у свою чергу, захищає печінку, мозок та інші органи від токсичного пошкодження. Активність холінестерази під впли-

вом препарату сягала норми. Впливу мікробного препарату на вміст малонового диальдегіду в даних умовах не виявлено (табл. 4).

Таблиця 4

Вплив мікробного препарату на активність алкогольметаболізуючих ферментів і вміст малонового альдегіду за умов хронічної алкогольної інтоксикації

Показники	Групи тварин		
	Інтактні тварини (норма)	Алкоголізовані тварини	Алкоголізовані тварини + препарат
АДГ (нмоль НАД/хв · мг)	0,11±0,01*	0,26±0,01	0,13±0,01
АлДГ (нмоль НАДН/хв · мг)	0,49±0,03	0,43±0,04	0,67±0,05**
Холінестераза (мккат/л)	4,1±0,5	2,80±0,25	4,3±0,47*
МДА (мкМ/л)	7,0±0,3	6,8±0,5	7,2±0,3

Примітка. Див. табл. 2.

У ствольовому відділі мозку є зона, яка називається «системою підкріплення». Вона бере участь у регуляції мотивації і емоційного стану та функціонує за участю нейромедіаторів із групи катехоламінів і, в першу чергу, дофаміну. Потрапляння наркотичних сполук в організм значно порушує обмін та синтез дофаміну [14, 15]. Відомо, що в основі алкоголізму й наркоманії лежать загальні патогенетичні механізми [1]. Це було підставою для подальшого проведення експериментів із мікробним препаратом на моделі гострої морфінної інтоксикації.

Усі тварини були розділені на три групи: 1) інтактна (контрольна); 2) морфінізована; 3) дослідна (морфінізована + мікробний препарат). Тваринам морфінізованої групи однократно внутрішньом'язово вводили 1 % розчин морфіну гідрохлориду з розрахунку 40 мг/кг маси тіла. Тваринам дослідної групи однократно через зонд у шлунок вводили мікробний препарат за 30 хв до введення морфіну. Потім тварин декапітували. Встановлено, що під впливом морфіну вміст дофаміну в гіпоталамусі збільшується на 47 % стосовно інтактних тварин. Введення тваринам мікробного препарату нормалізує рівень цього показника (табл. 5). Це свідчить про позитивний вплив мікробного препарату на інтенсивність ключових метаболічних процесів, які порушуються при гострій морфінній інтоксикації.

Таблиця 5

Вплив мікробного препарату на вміст дофаміну (мкг/г) у структурах мозку при однократному введенні морфіну

Структури мозку	Групи тварин		
	Інтактні (контроль)	Морфінізовані	Морфінізовані + препарат
	Вміст дофаміну (мкг/г)		
Гіпоталамус	1,66 ± 0,06	2,44 ± 0,07*	1,80 ± 0,10*
Середній мозок	0,42 ± 0,01	0,42 ± 0,13	0,44 ± 0,01
Нова кора	0,40 ± 0,01	0,43 ± 0,01	0,37 ± 0,01

Примітка. Див. таблицю 2.

Таким чином, мікробний препарат нормалізує специфічні біохімічні показники при алкогольній і морфінній інтоксикації, тим самим приводить до відновлення функцій порушених систем, що перешкоджає розвитку алкогольної та наркотичної залежності. Це є підставою для використання мікробного препарату, який синтезується метилотрофними бактеріями, як біологічно активної добавки для лікування хворих з алкогольною та опійною залежністю.

*Т.П. Криштаб¹, В.А. Романовская¹, Н.А. Стогний², Т.В. Ковтун²,
Д.С. Лебедев², Г.М. Тищенко²*

¹Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины, Киев
²Украинский НИИ социальной и судебной психиатрии и наркологии МЗ Украины, Киев

АНТИАЛКОГОЛЬНОЕ И АНТИНАРКОТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ *METHYLOBACTERIUM EXTORQUENS* УКМ В-3368

Резюме

Показана эффективность действия микробной биомассы на характерные показатели при алкогольной и морфинной интоксикации организма. Установлено, что данная микробная биомасса влияет у экспериментальных животных на регуляторные биохимические и физиологические системы, нормализуя активность алкогольдегидрогеназы и альдегиддегидрогеназы, а также содержание дофамина, которые нарушены под влиянием алкоголя и морфина. Благодаря этому снижается интоксикация организма. Кроме специфического действия, данная микробная биомасса может служить источником белка, аминокислот, витаминов, микроэлементов. Поэтому разработанный на её основе микробный препарат может использоваться для лечения алкогольной и наркотической зависимости как биологически активная добавка. Таким образом, разработан микробный препарат, предназначенный для лечения алкогольной и морфинной зависимости. Один из механизмов его действия основан на способности микроорганизмов трансформировать спирты и альдегиды, в связи с наличием алкоголь- и альдегиддегидрогеназы, другие механизмы его действия находятся в стадии исследования.

Ключевые слова: алкогольная и наркотическая зависимость, бактерии, микробный препарат.

T.P. Kryshstab¹, V.O. Romanovska¹, N.A. Stogniy², T. V. Kovtun², D. S. Lebedev², G.M. Tishchenko²

¹Zabolotny Institute of Microbiology and Virology,
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;

²Ukrainian Scientific-Research Institute of Social and Forensic Psychiatry and Narcology, Ministry
of Public Health of Ukraine, Kyiv

ANTI-ALCOHOLIC AND ANTI-NARCOTIC ACTION OF *METHYLOBACTERIUM EXTORQUENS* UCM B-3368

S u m m a r y

The paper deals with action efficiency of microbial biomass on characteristic indicators at alcohol and morphine organism intoxication. The investigated microbial biomass affects the regulatory biochemical and physiological systems in experimental animals, normalizes activity of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase, as well as the content of dopamine, disturbed under the effect of alcohol and morphine. Thus, the organism intoxication decreases. Except for the specific action, the above microbial biomass can be a source of protein, aminoacids, vitamins, microelements. So, the microbial preparation, made on its basis, can be used for the treatment of alcohol and morphine dependence in a form of biologically active dope. Thus the microbial drug intended for treatment of alcohol and opium dependence has been developed. One of its action mechanisms is based on the microorganisms capacity to transform alcohols and aldehydes, owing to availability of alcohol and aldehyde dehydrogenase, other its action mechanisms are at the stage of investigation.

The paper is presented in Ukrainian.

К е у w o r d s: alcohol and narcotic dependence, bacteria, microbial preparation.

The a u t h o r ' s a d d r e s s: *T.P. Kryshstab*, Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine; 154 Acad. Zabolotny St., Kyiv, MSP, D03680, Ukraine.

1. Анохина И.П., Коган Б.М., Маньковская И.В. Общность патогенетических механизмов алкоголизма и наркоманий и пути поиска средств для лечения этих заболеваний // Фармакол. и токсикол. — 1990. — 53, № 4. — С. 4–9.
2. Божко Г.Х. Роль ацетальдегида в механизмах действия этанола // Успехи физиол. наук. — 1990. — 21, № 3. — С. 98–116.
3. Буров Ю.В. Ведерникова Н.И. Нейрохимия и фармакология алкоголизма // Медицина, 1985. — 237 с.
4. Зазеров Е.Г. Биохимические механизмы острого и хронического действия этанола на организм человека // Вопр. биол., мед. и фарм. химии. — 1998. — № 2. — С. 47–55.
5. Карпенко В.І., Криштаб Т.П., Стогній Н.А., Малащенко Ю.Р. Проблема алкогольної залежності й оцінка перспективи використання антиалкогольного мікробного препарату “Алкопон” в Україні // Наукові записки. — 2004. — 29. — С. 36–51.

6. Лойко З.И., Исакова Л.И., Квасников Е.И. Некоторые закономерности синтеза липидов термотолерантными дрожжами *Candida tropicalis* при углеводном и углеводородном типе питания // Микробиология – 1974. – 43, № 6. – С. 1005–1010.
7. Малащенко Ю.Р., Синицький В.М., Криштаб Т.П., Луханіна О.П., Ковтун Т.В., Соколов І.Г., Романовська В.О. Антинаркотичний мікробний препарат «Наркопон» // Арх. психіатрії. – 2001. – № 1–2 (24–25). – С. 86–88.
8. Малащенко Ю.Р., Синицький В.М., Соколов І.Г., Криштаб Т.П., Харченко Н.К. Антиалкогольний препарат “Алкопон” // Арх. психіатрії. – 1998. – № 3. – С. 143–147.
9. Островський Ю.М., Сатановська В.И., Островський С.Ю. Метаболические предпосылки последствий потребления алкоголя. – Минск: Наука и техника, 1988. – 134 с.
10. Розанец В.В., Нужный В.П. Биологически активная добавка к пище «Наркофит» // Наркология. – 2003. – № 10. – С. 34–39
11. Романовская В.А., Рокитко П.В., Шилин С.О., Черная Н.А., Малащенко Ю.Р. Идентификация штаммов *Methylobacterium* с использованием сиквенс-анализа генов 16S рРНК // Микробиология – 2004. – 73, № 6. – С. 846–848.
12. Стальская И.Д., Гаришвили Т.Т. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66–68.
13. Харченко Н.К., Синицький В.Н. Альдегиддегидрогеназная активность сыворотки крови при разных концентрациях ацетальдегида // Укр. биохим. журн. – 1993. – 65, № 5. – С. 53–58.
14. Фридман Л.С., Флеминг Н.Ф., Робертс Д.Г., Хайман С.Е. Наркология. – М.: Из-во «Бином-Невский диалект», 1998. – 318 с.
15. Шабанов П.Д., Штакельберг О.Ю. Наркомания: патопсихология, клиника, реабилитация. СПб.: Изд. «Лань», 2001. – 464 с.
16. Duboins M., Gilles K.A., Hamilton Y.K. Calorimetric method for determination of sugars and related substances // Analyt. Chem. – 1965. – 26, № 3. – P. 350.
17. Earley G.J., Leonard B.E. Isolation and assay of noradrenaline, dopamine, 5-hydroxytryptamine and several metabolites from brain, tissue using disposable Bio-Rad column packed with sephadex G-10 // J. Pharmac. Methods. – 1978. – 1. – P. 67–79.
18. Skursky L., Kowaz I. and Stachova M. A sensitive photometric assay for alcohol dehydrogenase activity in blood serum // Analyt. Biochem. – 1979. – 99. – P. 65–71.
19. Pat. 1583018 CN, Chinese medicinal composition for relieving alcoholism / ZHANG XIAOHONG (CN) Applicant: ZHANG XIAOHONG (CN) ES: IPC: A61P25/32; A 61 25/00; (IPC1-7): A61K35/78 (+1) Publication info: CN 1583018– 2005-02-23.
20. Pat. 1640301 CN, Sober-up health-care noodle with soup and its food form / LI SHOUFENG (CN) Applicant: LI SHOUFENG (CN) ES:IPC A23L1/16; A23L1/212; A23L1/228 (+10) Publication info: CN 1640301 – 2005-07-20.

Отримано 24.03.2008

УДК 575.13:579.873.7

В.В. Лук'яничук

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,
Вул. Академіка Заболотного, 154, Київ МСП, Д03680, Україна

РЕСТРИКЦІЙНИЙ АНАЛІЗ СТРЕПТОМІЦЕТНОЇ ПЛАЗМІДИ pSS181*

Проведено рестрикційний аналіз стрептоміцетної плазмідної pSS181 за допомогою 7 ендонуклеаз. Встановлено наявність сайтів рестрикції для ендонуклеаз *EcoRI*, *PstI*, *BamHI*, *SalGI* і *BglII*. На плазміді pSS181 є унікальний сайт для рестриктази *EcoRI* і відсутні сайти для *HindIII* та *XbaI*. Молекулярний розмір плазмідної pSS181 становить 10,75±0,25 тпн.

В результаті гідролізу плазмідної ДНК парами ендонуклеаз (*EcoRI* + *PstI*) та (*EcoRI* + *BamHI*) виявлено, що сайт рестрикції для фермента *EcoRI* знаходиться на більших *PstI* та *BamHI*-фрагментах.

Ключові слова: стрептоміцет, плазміда, рестриктаза.

За даними літератури, клітини більшості мікроорганізмів містять позахромосомну плазмідну ДНК, яка може надавати клітині-господарю властивостей, що забезпечують її виживання в несприятливих умовах чи можливість засвоювати нове джерело енергії та вуглецю [4, 12, 15].

Відомо, що до 25 % досліджених культур стрептоміцетів мають плазмідні ДНК [6].

Метою даної роботи було дослідження нової стрептоміцетної плазмідної pSS181, як можливої основи для конструювання векторної молекули.

© В.В. Лук'яничук, 2009