

ЗАСТОСУВАННЯ ІОНІВ Ca^{+2} ДЛЯ КОРЕКЦІЇ ФОТОДИНАМІЧНОГО ЕФЕКТУ В МІКРОБНИХ КЛІТИНАХ

Розроблено методику ефективної направленої корекції активності мікроорганізмів у форматі фотодинамічного ефекту з одночасним усуненням деструктивної дії ультрафіолетового опромінення.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: фотодинамічний ефект, ультрафіолетове опромінення, мікроорганізми, іонізований кальцій.

ВСТУП. Фотодинамічний ефект на рівні живих клітин виокремився у цінний інструмент дослідження як такий, що відображає еволюційно сформовану здатність живого взаємодіяти з квантами енергії оптичного випромінювання. Дедалі частіше він знаходить використання для направленої зміни властивостей живого об'єкта в біотехнологічних процесах. Зокрема, фотодинамічний ефект у клітинах мікроорганізмів індукують за допомогою ультрафіолетових променів різного спектрального складу, причому чутливість біосистеми до світла часто посилюють шляхом внесення речовини – фотосенсибілізатора [1, 2, 4]. При цьому про досягнення фотодинамічного ефекту роблять висновок за характером деструкції клітин та порушенням її функціональної спроможності. Проте інформативність наведеного методичного підходу часто є недостатньою через суттєві, нерідко незворотні, деструктивні зміни мікробіологічного об'єкта, які відбуваються в ньому внаслідок згубної дії ультрафіолетового випромінювання. В результаті втрачається сама можливість отримання практичного позитивного результату від того чи іншого способу корекції фундаментальних властивостей живої, у даному випадку мікробної, клітини.

Метою даного дослідження було розробити методику ефективної направленої корекції активності мікроорганізмів у форматі фотодинамічного ефекту з одночасним усуненням деструктивної дії ультрафіолетового опромінення.

© О. Б. Кучмак, М. О. Винничук, С. І. Климнюк, В. В. Дем'яненко, Л. Б. Романюк, Т. І. Толокова, 2011.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для реалізації поставленої мети на предметне скло наносили 0,1 мл стандартизованої суспензії одnodенної мікробної культури *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* та 3–4-тижневої культури *Mycobacterium tuberculosis*, змішували з аналогічним об'ємом водного розчину іонізованого електрохімічним шляхом кальцію з концентрацією іонів у межах від $1,5 \cdot 10^{22}/л$ до $2,0 \cdot 10^{22}/л$ включно. Активні іони кальцію отримували безпосередньо перед дослідом електролізом 1 % водного розчину хлориду кальцію в камері із встановленою розділювальною пористою мембраною впродовж 30 хв при постійному електричному струмі 100 мА з використанням вугільних електродів (рис. 1).

Мікропрепарат поміщали на предметний столик мікроскопа, і спостерігали поляризовану флуоресценцію мікроорганізмів упродовж 5 хв. Про ступінь вираження фотодинамічного ефекту робили висновок за зміною швидкості пере-

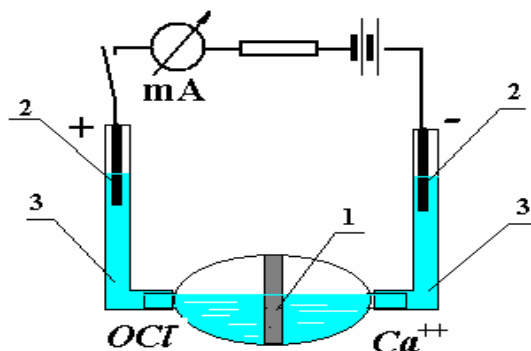


Рис. 1. Схема електрохімічного отримання активних іонів кальцію.

міщень мікробних клітин у мікропрепараті, а також за динамікою яскравості їх флуоресценції у вигляді підйому і спаду світіння на початку й наприкінці спостереження.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У всіх дослідах спостерігали індукцію поляризованим світлом фотодинамічної дії в мікробних клітинах. Прояви фотодинамічного ефекту при цьому мали однотипний характер: відразу після внесення активних іонів до мікробів на склі *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* отримували істотний, хоч і короткотривалий (упродовж 15–20 с), імпульс прискорення рухової активності. Наведений ефект збігався з короткотривалим інтенсивним наростанням яскравості сінних паличок, ешерихій та мікобактерій світіння мікробних клітин без видимих ознак грубих цитодеструктивних змін (рис. 2, 3).

Наведений феномен, на наш погляд, є наслідком того, що при індукції фотодинамічного ефекту поляризованим світлом не відбуваються цитодеструктивні явища іонізації. З іншого боку, поляризоване світло надає можливість візуалізувати мікробіологічний об'єкт безпосередньо в процесі дослідження без застосування хімічних фотосенсибілізаторів. Останнє суттєво підвищує активність мікроорганізму без будь-якого несприятливого впливу на його резистентність з боку енергії квантів оптичного випромінювання. З іншого боку, при цьому має місце відомий цитодинамічний ефект мікроелементів [3]. Наявність останніх у мікрооточенні суттєво впливає на активність живих клітин взагалі, а мікробних у тому числі. Саме це пояснює встановлений факт, з огляду на який внесення до мікробної суспензії іонів кальцію забезпечує регуляторний вплив на фотодинамічний ефект у мікробній клітині.

ВИСНОВКИ. 1. Фотодинамічний ефект на рівні мікробних клітин може ініціюватися по-

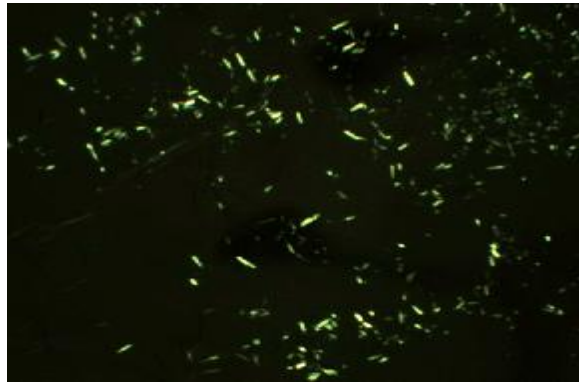


Рис. 2. Поляризована флуоресценція *B. subtilis* у середовищі з активними іонами кальцію: експозиція 30 с. Поляризаційний мікроскоп МС 200: об. х20; ок. х20.

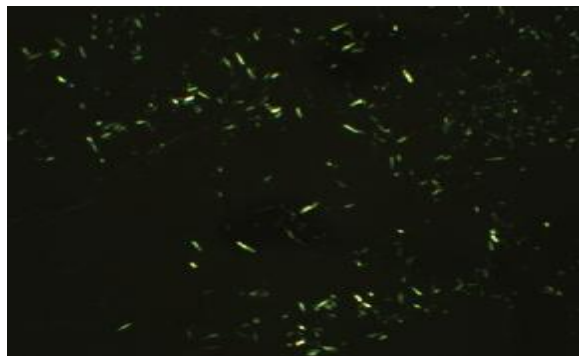


Рис. 3. Поляризована флуоресценція *B. subtilis* у середовищі з активними іонами кальцію: експозиція 300 с. Поляризаційний мікроскоп МС 200: об. х20; ок. х20.

током поляризованого світла у видимому діапазоні спектра.

2. Біологічна активність поляризованого світла відносно мікроорганізмів може суттєво змінюватися за наявності в інкубаційній системі іонів кальцію.

3. Прояви іонної стимуляції фотодинамічного ефекту характеризуються універсальними феноменами у вигляді короткочасної імпульсної стимуляції рухової активності й флуоресцентного світіння клітин без видимих ознак глибинних цитодеструктивних змін.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Красновский А. А. Итоги Науки и Техники. Со-временные проблемы лазерной физики / ред. С. А. Ахманов, В. Б. Черняева. – М. : ВИНТИ, 1990. – Т. 3. – С. 223–254.

2. Красновский А. А. Фотодинамическая регуляция биологических процессов: первичные механизмы [Электронный ресурс] : <http://library.biophys.msu.ru/PDF/3356.pdf>.

3. Оберлис Д. Биологическая роль макро- и микроэлементов у человека и животных / Д. Оберлис, Б. Харланд, А. Скальный. – СПб. : Наука, 2008. – 544 с.

4. Oxygen radicals in chemistry and biology / [N. I. Krinsky, Ed. W. Bors, M. Sarah, D. Tait]. – Berlin : Walter de Gruyter Co, 1984. – P. 453–464.

О. Б. Кучмак, М. О. Винничук, С. И. Климнюк,
В.В. Демьяненко, Л. Б. Романюк, Т. И. Толокова
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ПРИМЕНЕНИЕ ИОНОВ Ca^{+2} ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА В МИКРОБНЫХ КЛЕТКАХ

Резюме

Разработано методику эффективной направленной коррекции активности микроорганизмов в формате фотодинамического эффекта с одновременным устранением деструктивного действия ультрафиолетового облучения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: фотодинамический эффект, ультрафиолетовое облучение, микроорганизмы, ионизированный кальций.

O. B. Kuchmak, M. O. Vynnychuk, S. I. Klymnyuk,
V. V. Demyanenko, L. B. Romanyuk, T. I. Tolokova
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

APPLICATION OF IONS OF Ca^{+2} FOR CORRECTION OF PHOTODYNAMIC EFFECT IN MICROBAL CELLS

Summary

The method of effective directed correction of microbial activity according to the photodynamic effect with simultaneous removal of ultraviolet radiation destructive action was proposed.

KEY WORDS: photodynamic effect, ultraviolet radiation, microorganisms, ionized calcium.

Отримано 11.10.11

Адреса для листування: С. І. Климнюк, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.