

чень зменшувались до  $0,78 \pm 0,02$  см.вод.ст., або на 66,5% ( $p < 0,01$ ), індекс спонтанної моторної активності зменшувався до  $604,6 \pm 19,9$  ум.од./хв, або на 10,9% ( $p < 0,05$ ) у порівнянні з щурами контрольної групи.

В групі щурів, яким упродовж 28 днів вводили омепразол, стимулююча дія карбахоліну на скоротливу активність гладеньких м'язів товстої кишки була значно слабшою у порівнянні з контрольною групою: амплітуда скорочень зменшувалась на 80% ( $p < 0,01$ ) і становила  $1,98 \pm 0,13$  см.вод.ст./хв, індекс стимульованої моторної активності зменшувався на 20,3% ( $p < 0,05$ ) та дорівнював  $788,1 \pm 73,1$  ум.од./хв.

За умов одночасного введення омепразолу та комбінованого пробіотика Опефера моторна активність товстої кишки зростала в більшій мірі, ніж в шлунку, у порівнянні з групою щурів, яким вводили один омепразол. Амплітуда спонтанних скорочень зростала на 60,2% ( $p < 0,001$ ). Зростання індексу спонтанної моторної активності було статистично не значимим. При цьому індекс спонтанної моторної активності мав лише тенденцію до зростання у порівнянні з групою щурів, яким упродовж 28 днів вводили лише омепразол.

В групі щурів, яким упродовж 28-ми днів одночасно вводили омепразол та Опеферу, амплітуда скорочень і індекс моторної активності, стимульованих карбахоліном, були відповідно більшими на 129,3% ( $p < 0,001$ ) та 10,1% ( $p < 0,05$ ) у порівнянні з групою щурів, яким вводили один омепразол.

Слід зазначити, що амплітуда спонтанних та стимульованих карбахоліном скорочень товстої кишки щурів, яким упродовж 28-ми днів одночасно з омепразолом Опеферу, залишалася статистично достовірно меншою за контрольні значення. Аналогічна спрямованість ефекту була виявлена після підрахунку індексу моторної активності товстої кишки.

Таким чином, застосування Опефери стимулює спонтанну та стимульовану моторику товстої кишки, пригнічену тривалою гіпохлоргідрією шлункового соку. Зроблено висновок про доцільність застосування Опефери у пацієнтів з тривалою гіпохлоргідрією різного ґенезу для нормалізації скоротливої активності товстої кишки.

## **ВПЛИВ СКЛАДУ КУЛЬТУРАЛЬНОГО СЕРЕДОВИЩА НА НАКОПИЧЕННЯ БІОМАСИ ПРОДУЦЕНТОМ МЕЛАНІНУ *PSEVDONADSONIELLA BRUNNEA***

*Кондратюк Т.О., Акуленко Т.В., Берегова Т.В.  
Київський національний університет імені Тараса Шевченка ННЦ  
«Інститут біології та медицини»*

Використання потенціалу мікроорганізмів в отриманні біологічно активних сполук (БАС) є одним із стратегічних напрямків розвитку сучасної біотехнології. Найпильніша увага науковців зосереджена на дослідженнях мікроорганізмів, які зберігають життєздатність та розвиваються за умов дії екстремальних факторів довкілля. Такі мікроорганізми є потужними джерелами метаболітів із протимікробною, антифунгальною, протипухлинною активністю та ін. властивостями, що можуть бути об'єктами фа-

рмацевитної індустрії, застосовуватися в медицині, різнопланових біотехнологічних процесах [2, 5-7].

Нами було з'ясовані та описані культурально-морфологічні, фізіолого-біохімічні та генетичні особливості штаму антарктичних чорних дріжджоподібних грибів, що дозволило встановити їхню таксономічну належність до нового роду *Pseudonadsoniella* та нового виду *Pseudonadsoniella brunnea*. Отримані дані молекулярно-генетичних досліджень депозитовано у всесвітньому Генетичному банку (№ КТ456204) [1, 4]. Вказані чорні дріжджоподібні гриби *Ps. brunnea* синтезують і екскретують у культуральне середовище темний пігмент меланін. Багаторічні дослідження, проведені нами щодо властивостей меланіну, продуцентом якого є *Ps. brunnea*, показали, що меланін проявляє цитопротекторну, стрес-протекторну, антибактеріальну, антифунгальну, антиоксидантну, дерматотропну, ранозагоювальну дію тощо. Це дозволяє розглядати його як перспективну субстанцію для ряду лікарських препаратів з численними позитивними властивостями. Нами встановлено, що нова фармакологічна композиція (ФК), до складу якої входить 0,1 % меланін, розчинений в 0,5% карбополу, чинить бактерицидну дію на тест-культури *Staphylococcus aureus* і *Pseudomonas aeruginosa* та фунгістатичну дію на тест-культуру дріжджових грибів роду *Candida*. Отже нанесення вказаної ФК на рану запобігатиме її вторинному інфікуванню. При використанні нової ФК загоєння ран у щурів відбувалося без утворення грубого келоїдного рубця, що підтверджено зменшенням вмісту колагену і виплавленої желатини в шкірі та температурі її зварювання, а також зростанням вмісту вологи в рановій поверхні шкіри у порівнянні з тваринами з ранами без обробки ранової поверхні. Показано також, що гоєння повношарових площинних вирізаних та гнійно-некротичних ран шкіри супроводжується підвищенням рівнів експресії мРНК генів *Ptgs2*, *Tgfb1* та *Tlr2* і зменшенням рівня експресії мРНК гену *Tjp1*. Застосування гелю карбополу з меланіном знижувало рівні експресії мРНК генів *Ptgs2*, *Tgfb1* і *Tlr2* та збільшувало рівень експресії мРНК гену *Tjp1*, що є необхідною передумовою для швидкого загоєння ран без виражених рубців [3, 8].

Отже, з огляду на актуальність висвітлених вище питань, метою нашої роботи є дослідження умов культивування продуценту меланіну *Ps. brunnea* для отримання кінцевого продукту (ПФК) та накопичення біомаси *Ps. brunnea*.

Раніше нами було охарактеризовано особливості росту *Ps. brunnea* на 32-х живильних середовищах. Серед них найкращими для культивування було визначено агар Сабуро, агар Сабуро із 10%-м розчином сахарози, оригінальне середовище з вісяних пластівців із клітковиною та 10%-м розчином сахарози, шматочки сирі картоплі без додавання та з додаванням 10%-го розчину сахарози, модифіковане глюкозопептонно-дріжджове середовище, пептонна вода із сахарозою, м'ясо-пептонний бульйон із глюкозою та желатиною. Оптимальними для росту *Ps. brunnea* визнано кислі (рН 3-4) живильні середовища [1]. Сьогодні наші дослідження зосереджено на встановленні впливу складових рідких культуральних середовищ на накопичення біомаси *Ps. brunnea*. В роботі використовуються як стандартні живильні середовища (Malt extract broth (МЕВ), рідке середовище Сабуро, триптиказо-соевий бульйон (ТСБ) виробництва «Фармактив», Україна; Merck KGaA, Німеччина; HiMedia Laboratories, Індія), так і оригінальні (модифіковані) живильні середовища основою яких слугує ячмінно-солодовий екстракт (ЯСЕ) з урахуванням здатності *Ps.*

*brunnea* рости за низьких значень кислотності. Регулювання кислотності культуральних середовищ здійснюється додаванням 1М соляної кислоти або стерильної 80%-ї молочної кислоти. Для оцінки рівня накопичення біомаси *Ps. brunnea* використовуються як методи спектрофотометричних спостережень, так і стандартні методи із використанням фільтрів та зважування. Окрім цього додатково оцінюються культурально-морфологічні особливості продуценту ПФК (інтенсивність брунькування клітин — формування ланцюжків клітин за типом псевдоміцелію, утворення однієї-двох клітин на основі материнської тощо; наявність характерних для *Ps. brunnea* двох типів скупчень сферичних клітин, що представлені великими темно-коричневими зернистими із товстою оболонкою клітинами (до 3,0-4,5 мкм у діаметрі) та світлими також сферичними клітинами значно менших розмірів (1,5-2,0 мкм). Фотографування препаратів *Ps. brunnea* здійснюється за допомогою мікроскопа Primo Star компанії Carl Zeiss (Німеччина) та камери Scope Tek, DCM-510, зі збільшенням  $\times 400$ . Довжина та ширина клітин вимірюється з використанням морфометричної комп'ютерної програми AxioVision 4.8 (Carl Zeiss).

З урахуванням отриманих нами результатів нами було розроблено та затверджено «Регламент на основі ТУ У 15.9-30034243-004:2014 «Отримання поліфенолкарбонового комплексу з антарктичних чорних дріжджоподібних грибів *Pseudonadsoniella brunnea* «мелавіт» із змінами назви штаму, доповненнями та змінами в пп. 2.2.1, 2.2.3, 5.9.3». Для накопичення біомаси *Ps. brunnea* найсприятливішими визнано рідкі живильні середовища МЕБ, середовище Сабуро, ЯСЕ (6,2% за ареометром) з додаванням до ЯСЕ пептону ферментативного (1%), дріжджового екстракту (0,5%) та суміш вказаних середовищ у різних співвідношеннях.

З урахуванням властивостей ПФК (меланіну), що продукується чорними дріжджоподібними грибами *Pseudonadsoniella brunnea*, проведення подальших досліджень у напрямку з'ясування оптимальних умов культивування продуценту меланіну є актуальним та перспективним.

## Література

1. Кондратюк Т.О. Особливості росту темнопігментованого дріжджоподібного гриба *Pseudonadsoniella brunnea* (Meripilaceae, Basidiomycota) на різноманітних живильних середовищах / Т.О. Кондратюк // Укр. бот. журн. — 2015. — Т. 72. — №5. — С. 478-483.
2. Anitori R.P. Extremophiles: Microbiology and Biotechnology / R.P. Anitori — 2012. — 300 p.
3. Dranitsina A.S. Tgfb1, Ptgs2 Genes Expression During Dynamics of Wound Healing and with the Treatment of Melanin / A.S. Dranitsina, O.V. Taburets, K.O. Dvorshchenko, D.M. Grebinyk, T.V. Beregova, L.I. Ostapchenko // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences (RJPBCS). — 2017 — 8(1). — P. 2014-2023.
4. Kondratyuk T.O. Pseudonadsoniella brunnea (Meripilaceae, Agaricomycotina), a new brown yeast-like fungus producing melanin from the Antarctic; with notes on nomenclature and type confusion of *Nadsoniella nigra* / T.O. Kondratyuk, S.Y. Kondratyuk, O.O. Morgaienko, M.V. Khimich, T.V. Beregova, L.I. Ostapchenko // Acta Botanica Hungarica — 2015. — 57(3-4). — P. . 291-320
5. Kostadinova N. Isolation and Identification of Filamentous Fungi from Island Livingston, Antarctica / N. Kostadinova, E. Krumova, S. Tosi // Biotechnology and Biotechnological Equipment, Special Issue: XI Anniversary scientific conference. — 2009. — V. 23, Supplement 1. — P. 267-270.

6. Margesin R. Characterization of cold-active pectate lyases from psychrophilic *Mrakia frigida* / R. Margesin, V. Fauster, P.A. Fonteyne // Lett. Appl. Microbiol. — 2005. — 40(6). — P. 453-459.
7. Svahn S.K. *Penicillium nalgiovense* Laxa isolated from Antarctica is a new source of the antifungal metabolite amphotericin B / S.K. Svahn, B. Olsen, L. Bohlin // Fungal Biology and Biotechnology. — 2015. — 1. — P. 2-11.
8. Taburets O.V. The Effect of "Melanin-Gel" on the Wound Healing / O.V. Taburets, O.O. Morgaienko, T.O. Kondratyuk, T.V. Beregova, L.I. Ostapchenko // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences (RJPBCS). — 2016. — 7(3). — P. 2031-2038.

## **ANTI-INFLAMMATORY MECHANISM OF MELANIN BY THE EXPRESSION OF TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B IN RAT LIVER WITH NAFLD/NASH**

*N. Belemets<sup>1</sup>, T. Falalyeyeva<sup>1</sup>, O. Kuryk<sup>1,2</sup>, O. Sulaieva<sup>3</sup>, Abenavoli  
Ludovico<sup>4</sup>, T. Beregova<sup>1</sup>, L. Ostapchenko<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Taras Shevchenko National University of Kyiv*

<sup>2</sup>*Scientific-Practical Center for Prophylactic and Clinical Medicine*

<sup>3</sup>*Laboratory of Pathology "CSD Health Care"*

<sup>4</sup>*Department of Health Sciences, Magna Græcia University, Catanzaro, Italy*

In the previous study, we have showed the effects of exogenously administered melanin produced by yeast *Nadsoniella nigra strain X-1* on the obesity parameters of rats and the development of NAFLD/NASH. It was shown significant decrease of mass indexes and fat accumulation in visceral adipose tissue of treated rats that suggests preventive influence of melanin on obesity. The present study was performed to investigate the anti-inflammatory mechanism of melanin by the expression of TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B in rat liver with NAFLD/NASH.

There were 30 newborn Wistar male rats, divided into 3 groups: intact (n=10), monosodium glutamate (MSG) (n=10) and MSG + Melanin treated (n=10). Newborns rats of MSG-group and MSG + melanin group received a solution of MSG (4.0 mg/g of body weight) s.c. at 2<sup>nd</sup>-10th days after birth. Within 4 months after birth, rats had a normal diet. MSG + melanin group received aqueous solution of melanin in dose 1 mg/kg at volume 2.5 ml/kg per os (p.o.). Melanin was obtained from *Pseudonadsoniella brunea* (before *Nadsoniella nigra X1 strain*) from Ukrainian Antarctic station. The impact of MSG on NAFLD development was assessed by histological evaluation of the liver. As low-grade inflammation is one of the leading mechanisms of liver lesion in obesity, the proinflammatory activation of liver cells was analyzed by immunohistochemical assessment of CD68 cells, NF- $\kappa$ B and TNF- $\alpha$  expression.

Histological analysis of liver micropreparations confirmed the development of NAFLD in rats. We indicate the activation of NF- $\kappa$ B signaling pathway which cause NAFLD due to TNF- $\alpha$  overexpression in liver Kupffer cells of 4-month MSG-rats. The administration of melanin provided ameliorating effect on liver structure significantly decreasing the degree of steatosis and preventing injury of hepatocytes. The protective effect of polyphenol compounds melanin were confirmed histopathologically of TNF- $\alpha$  and NF- $\kappa$ B in the rat liver was analyzed using immunohistochemistry.