

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
“КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ”

ФАКУЛЬТЕТ БІОТЕХНОЛОГІЇ І БІОТЕХНІКИ

КАФЕДРА ПРОМИСЛОВОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ

"На правах рукопису"

УДК 616-092.7+579.61

МАГІСТЕРСЬКА ДИСЕРТАЦІЯ

з спеціальності 8.05140101 – промислова біотехнологія
(код та назва спеціальності)

на тему: Результуюча дія метаболітів хімічно трансформованих *Lactobacillus plantarum* на життєздатність клітин

Студент групи БТ-31м Терешук Ганна Володимирівна
(шифр групи) (прізвище, ім'я, по батькові)

Науковий керівник: к.б.н., доц. Орябінська Л.Б.
(вчені ступінь та звання, прізвище, ініціали)

Консультанти: к.б.н., с.н.с. Ватліцов Д.В., к.т.н., доц.. Орленко А.Т.
(вчені ступінь та звання, прізвище, ініціали)

Вступ

Молочнокислі бактерії р. *Lactobacillus* є основною групою мікроорганізмів, що застосовуються у складі сучасних пробіотичних препаратів та продуктів функціонального харчування, вони є класичним, добре вивченим об'єктом, про який накопичено велику кількість даних, що робить їх зручним інструментом у створенні нових препаратів.

Встановлено, що таназопозитивний штам бактерій р. *Lactobacillus plantarum* МТСС 2624 здатен до біодеградації танінів – дубильних речовин, що потрапляють в організм людини з продуктами харчування. У процесі розкладу танінів вивільнюється галлова кислота – потужний антиоксидант з онкопротекторними властивостями. Існує гіпотеза про здатність лактобацил та продуктів їх життєдіяльності до модуляції імунної відповіді та індукції апоптозу – процесу запрограмованої смерті клітин.

Відомо, що за частотою виникнення після серцево-судинних захворювань онкологічні посідають друге місце у світі. Розвиток онкологічних захворювань залежить від багатьох факторів, зокрема, від порушень в організмі процесів клітинної проліферації та апоптозу. *Актуальність роботи* полягає у дослідженні нових властивостей пробіотичних штамів з метою можливості модулювання онкологічних процесів.

Мета роботи: вивчити вплив різних комбінацій модифікованого культурального середовища *Lactobacillus plantarum* МТСС 2624 на клітини імунної системи та лінійної культури Namalwa.

Для досягнення мети було поставлено *завдання:*

- 1) Вивчити модифікуючу дію галлової кислоти на життєвий цикл *L. plantarum* МТСС 2624.
- 2) Визначити ефективні комбінації та концентрації продуктів життєдіяльності *L. plantarum* МТСС 2624 на показники клітинної загибелі.
- 3) Дослідити вплив різної комбінації продуктів життєдіяльності *L. plantarum* МТСС 2624 після модифікації поживного середовища на показники

загибелі клітин без ознак патології та патогенетично трансформовані клітини.

- 4) Дослідити вплив різної комбінації продуктів життєдіяльності *L.plantarum* МТСС 2624 на певні структури клітин.

Об'єкт дослідження - танназна активність пробіотичного штаму *Lactobacillus plantarum* МТСС 2624. *Предмет дослідження* – вплив метаболітів хімічно трансформованого пробіотичного штаму *Lactobacillus plantarum* МТСС 2624 на клітини.

У ході проведення роботи було встановлено, що галлова кислота змінює проліферативну активність бактерій р. *Lactobacillus plantarum* МТСС 2624, впливає на їх метаболітну активність, ініціює синтез таннази. Крім того, встановлено, що позаклітинні метаболіти лактобацил здатні впливати на тип клітинної загибелі клітин імунної системи та злоякіснотрансформованих клітин. *Наукова новизна* одержаних результатів полягає у встановленні закономірностей впливу хімічної трансформації поживного середовища галловою кислотою лактобацил на їх метаболітну активність.

Результати, отримані в ході досліджень, мають широкі перспективи для застосування у численних галузях, насамперед, у медичній, оскільки вони можуть стати основою для створення нових пробіотичних препаратів з лікувальними та/або профілактичними властивостями та розробці лінії біодоступних продуктів щоденного застосування. Крім того, отримані результати можуть стати основою для подальших досліджень індивідуальних (таргетних) схем лікування.

Апробація результатів. Результати досліджень, що включені до магістерської дисертації, було опубліковано:

1. Біотехнологія ХХІ століття: Тези доповідей VIII Всеукраїнської науково-практичної конференції (2014)
2. ХХІХ міжнародна науково-практична конференція (м. Новосибірськ): стаття у збірці за матеріалами конференції (2014).
3. Біотехнологія ХХІ століття: Тези доповідей VIII Всеукраїнської науково-практичної конференції (2015)

4. Біотехнологія: звершення та надії: тези доповідей IV Всеукраїнської науково-практичної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених (2015).
5. Сучасні проблеми мікробіології та біотехнології: тези доповідей Міжнародної конференції для молодих учених (2015).

Експериментальна частина

Матеріали і методи дослідження

У роботі використано мікробіологічні, біохімічні (дослідження концентрації білка, концентрації глюкози, продуктів перекисного окиснення ліпідів), імунологічні (дослідження рівня апоптозу, дослідження змін мітохондріального мембранного потенціалу, клітинного циклу) та статистичні методи дослідження (з використанням t-критерію Стьюдента та описової статистики).

Результати та їх обговорення

У результаті проведеної роботи встановлено, що галлова кислота здійснює модифікуючу дію на життєвий цикл *L. plantarum* МТСС 2624, що виражається у стримуванні поділу клітин, а також сприяє синтезу таннази. Крім того, встановлено, що позаклітинні метаболіти лактобацил здатні впливати на тип клітинної загибелі клітин імунної системи та злоякіснотрансформованих клітин.

Результати дослідження виявили імуномодулюючі властивості продуктів, отриманих від *L. plantarum*, що відображалось у відновленні функціонального резерву клітин. Також було показано позитивний вплив цих продуктів на процеси, що передують некрозу та апоптозу, що відображалось у зниженні кількості загиблих клітин з певними пошкодженнями. Найбільш ефективною виявилось культуральне середовище у концентрації 0,1% при прямій дії *in vitro* при мітохондріальних ушкодженнях. Також було показано мембраностабілізуючу дію продуктів отриманих від *L. plantarum*, що відображалось в результатах, отриманих під час дослідження зразків, оброблених перекисом водню.

Отже, отримані результати мають широкі перспективи для застосування у численних галузях, насамперед, у медичній, оскільки вони можуть стати основою

для створення нових пробіотичних препаратів з лікувальними та/або профілактичними властивостями та розробці лінії біодоступних продуктів щоденного застосування. Крім того, отримані результати можуть стати основою для подальших досліджень індивідуальних (таргетних) схем лікування.

Висновки:

1. Галлова кислота здійснює модифікуючу дію на життєвий цикл *L.plantarum* МТСС 2624, що виражається у стримуванні поділу клітин, а також сприяє синтезу таннази.
2. Дія культурального середовища лактобацил на клітини МНК, оброблені перекисом водню, призводить до зниження кількості апоптотичних клітин. Культуральне середовище здатне знизити кількість клітин, що загинули внаслідок апоптозу через зміни ММП після обробки азидом натрію. Найбільш ефективним є КС у концентрації 0,1% при прямій дії *in vitro* при мітохондріальних ушкодженнях.
3. Найбільш ефективною є дія 0,1% модифікованого збагаченого поліфенолами культурального середовища: зростає кількість МНК на різних стадіях апоптозу. Кількість МНК, оброблених перекисом водню, що загинули внаслідок апоптозу, знижується після додавання модифікованого культурального середовища. Найефективнішим модулятором апоптозу онкоклетин є комбінація культурального середовища з таніновою кислотою.
4. Лактобацили є продуцентами речовин, що сприяють накопиченню в культуральному середовищі антиоксидантів та речовин, що активують мітохондріальне дихання.

Ключові слова: ЛАКТОБАЦИЛИ, ТАННАЗА, ГАЛЛОВА КИСЛОТА, АПОПТОЗ, НЕКРОЗ, NAMALWA

Публікації:

1. Терещук Г.В. Стрес обумовлена модель серцевої патології / Г.В. Терещук, Н.В. Русецька, Д.В. Ватліцов, К.М. Ігрунова // Біотехнологія ХХІ століття :

Тези доповідей VIII Всеукраїнської науково-практичної конференції. – 2014. – С. 70.

2. Стрессиндуцированные изменения функционального состояния крыс / К.Н. Игрунова, И.С. Зозуля, Д.В. Ватлицов, Н.В. Русецкая, В.В. Андрияш, А.В. Терещук // Сб. ст. по материалам XXIX междунар. науч.-практ. конф. № 1 (26). Новосибирск: Изд. «СибАК», 2014. – с.162- с.170.
3. Терещук Г.В. Вплив модифікованого поживного середовища на клітинний цикл *Lactobacillus plantarum* 2624 / Г.В. Терещук, В.В. Андрияш, Д.В. Ватлицов, Л.Б. Орябінська, К.М. Ігрунова // Біотехнологія XXI століття: тези доповідей IX Всеукраїнської науково-практичної конференції. – 2015. – С. 90.
4. Терещук Г.В. Вплив модифікованого поживного середовища на метаболічну активність таназопозитивного штаму *Lactobacillus plantarum* MTCC 2624 / Г.В. Терещук, В.В. Андрияш, Л.Б. Орябінська, Д.В. Ватлицов, К.М. Ігрунова // Біотехнологія: звершення та надії: тези доповідей IV Всеукраїнської науково-практичної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених. - 2015. – С. 83.
5. Effect of modified growth media on the metabolic activity of tannase-positive strain *Lactobacillus Plantarum* MTCC 2624/ G.Tereshchuk, V. Andriyash, L. Oryabinska, D. Vatlitsov, K. Igrunova// Сучасні проблеми мікробіології та біотехнології: тези доповідей Міжнародної конференції для молодих учених. – 2015. [подано до друку]