

структурными особенностями ткани печени (наличие диффузионных барьеров в виде соединительнотканной стромы) и ее гетерогенным липидным профилем (в т.ч. наличием ковалентно связанных жиров, экстрагируемых только с помощью кислотного или щелочного гидролиза); а также потери полярных липидов в процессе промывания экстракта [3, 4].

Вывод. Выявленное пропорциональное смещение в зависимости от выраженности гепатостеатоза указывает на значительное ограничение возможности прямого сопоставления результатов количественного анализа, полученных методами гравиметрии (Folch) и магнитно-резонансной релаксометрии (EchoMRI).

Научно-исследовательская работа проведена в рамках государственного задания (FGMF-2025-0014)

ЛИТЕРАТУРА

1. Current status and future trends of the global burden of MASLD / L. Miao, G. Targher, C.D. Byrne [et al.] // Trends Endocrinol. Metab. – 2024. – Vol. 35, № 8. – P. 697-707.
2. Folch, J. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues / J. Folch, M. Lees, Gh. Sloane Stanley // J. Biol. Chem. – 1957. – Vol. 226, № 1. – P. 497-509.
3. Модификация способа определения липидов / Н. В. Канская, В. В. Иванов, Е. А. Степовая [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2014. – № 2. – С. 4-8.
4. Omar, A. M. Evaluation of Lipid Extraction Protocols for Untargeted Analysis of Mouse Tissue Lipidome / A. M. Omar, Q. Zhang // Metabolites. – 2023. – Vol. 13, № 9. – P. 1002. – doi: 10.3390/metabo13091002.

ИНДУЦИРОВАННЫЕ ОРЕГОНИНОМ МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* В СОСТАВЕ БИОПЛЕНКИ

Артюх Т. В.¹, Островская О. Б.¹, Шейбак В. М.¹, Тапальский Д. В.²

¹Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

²Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси,
Минск, Республика Беларусь

Актуальность. Формирование биопленки является ключевым фактором вирулентности грамотрицательных бактерий (*K. pneumoniae*) и обеспечивает защиту их от действия антибиотиков и иммунных механизмов организма [1]. В последние годы особое внимание уделяется поиску соединений, способных модифицировать свойства бактериальных биопленок и повышать эффективность антимикробной терапии [2]. В этом контексте орегонин представляет интерес как биологически активное соединение, влияющее на кинетику роста и чувствительность грамотрицательных бактерий

к антибиотикам, а также потенциально влияющее на процессы биопленкообразования и морфологию бактерий в составе биопленки [3, 4]. Изучение данных эффектов может способствовать расширению представлений о механизмах адаптации бактерий в составе биопленок и разработке новых подходов к преодолению антибиотикорезистентности [5].

Цель исследования – оценить морфологию бактериальных клеток и площадь биопленки *K. pneumoniae* в присутствии орегонина.

Материалы и методы исследования. В исследовании использовали орегонин, выделенный из водного экстракта коры *Alnus incana*, применяли чистую субстанцию меропенема. В исследование был включен грамотрицательный нозокомиальный штамм – *Klebsiella pneumoniae* 045.

Биопленки выращивали в статических условиях в иммунологических планшетах при 37°C в течение 48 ч. в бульоне Мюллера-Хинтон. Для изучения морфологии бактерий в составе биопленок в лунки иммунологического планшета помещали медные сеточки для электронной микроскопии, покрытые формваровой пленкой. После культивирования биопленок в присутствии следующих тестируемых групп: контроль; орегонин 2 мг/мл; меропенем 2 мкг/мл; комбинация орегонина 2 мг/мл и меропенема 2 мкг/мл, сеточки извлекали, подсушивали при комнатной температуре в течение 5 мин. и исследовали с использованием трансмиссионного электронного микроскопа JEOL 1011. Для проведения морфометрического анализа выполняли съемку 15 последовательно расположенных ячеек каждой сетки. С использованием программного обеспечения ImageJ определяли удельную площадь поверхности ячеек, занятую бактериальной биопленкой, в каждой экспериментальной группе. Статистическую обработку данных проводили с применением пакета Statistica 10. Количественные показатели представляли в виде медианы и межквартильного размаха (Me [Q1; Q3]). Для сравнения независимых групп использовали критерий Краскела-Уоллиса с последующим апостериорным тестом Данна. Различия считали статистически значимыми при уровне $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. В контрольной группе биопленка была образована палочковидными бактериями. В присутствии 2 мг/мл орегонина биопленка была представлена в основном микроорганизмами округлой формы разного размера (диаметр клеток от 0,5 до 1,5 мкм). В присутствии 2 мкг/мл меропенема в поле зрения наблюдались единичные палочковидные бактерии. В группе 2 мг/мл орегонина + 2 мкг/мл меропенема площадь просветов сеточки, занятая бактериальной биопленкой, была сравнимой с таковой в группе с 2 мг/мл орегонина. Бактериальные клетки преимущественно округлой формы, разного размера (диаметром от 0,5 до 1,5 мкм), иногда встречаются палочковидные формы. Площадь сеточек, занятая микробной биопленкой, образованной *K. pneumoniae* 045 NDM на вторые сутки культивирования в «контрольной» группе составила 70,7 (16,0;74,7)*; в группе «орегонин» – 77,7 (69,5;84,9)*; в группе «меропенем» – 3,1 (2,1;7,6); в группе «меропенем + орегонин» 77,1 (45,2;83,9)*. * – $p < 0,05$ при сравнении с группой «меропенем». Статистически значимые различия установлены между группами «меропенем 2 мкг/мл» и «контроль», «меропенем 2 мкг/мл» и «орегонин 2 мг/мл», а также «меропенем 2 мкг/мл» и

«меропенем 2 мг/мл + орегонин 2 мг/мл» (во всех случаях $p < 0,05$). Следует отметить, что орегонин не снижает площадь, занятую биопленкой, а в комбинации с меропенем нивелирует его влияние на формирование биопленки.

С помощью электронной микроскопии удалось установить неоднородность морфологической структуры монобиопленки *K. pneumoniae* 045 в присутствии орегонина. Клетки округлой формы, разных размеров, наблюдаемые в присутствии орегонина, могут соответствовать атипичным (возможно, L-форменным) клеточным вариантам клебсиелл. Известно, что под действием стрессовых факторов, включая антибиотики и окислительный стресс, бактерии способны формировать клеточно-стеночно-дефицитные формы, характеризующиеся изменением морфологии и повышенной адаптивностью. Несмотря на клиническую важность и общепризнанность атипичных форм бактерий наиболее сложной стратегией устойчивости бактерий к антибактериальным препаратам, мало известно о молекулярных механизмах их образования (утраты клеточной стенки) и выживания [6]. Орегонин, относящийся к фенольным соединениям класса диарилгептаноидов, предположительно оказывает действие на бактериальную клеточную стенку за счет совокупности неспецифических молекулярных эффектов, прежде всего связанных с генерацией реактивных форм кислорода и окислительной модификацией белков [7].

Трансмиссионная электронная микроскопия позволила выявить изменения площади биопленки и морфологии бактериальных клеток в присутствии орегонина. Обнаруженные округлые формы могут соответствовать атипичным вариантам бактерий, предположительно связанным с нарушением структуры клеточной стенки. Вместе с тем для подтверждения данного предположения необходимы дополнительные исследования, включающие оценку жизнеспособности выявленных форм *K. pneumoniae*, а также анализ ультратонких срезов для визуализации клеточной стенки или ее отсутствия.

Выводы. Орегонин в концентрации 2 мг/мл индуцирует выраженные морфологические изменения клеток *Klebsiella pneumoniae* 045 в составе биопленки, характеризующиеся преобладанием округлых форм и увеличением площади биопленки. Полученные данные указывают на способность орегонина модифицировать морфологическую организацию биопленки и потенциально способствовать формированию атипичных форм бактерий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Li, Y. Regulation of biofilm formation in *Klebsiella pneumoniae* / Y. Li, M. Ni // Front Microbiol. – 2023. – Vol. 14. – Art. 1238482.
2. Antimicrobial activity of some *Alnus* species / Ç. Altinyay, M. Eryilmaz, A. N. Yazgan [et al.] // European Review for Medical and Pharmacological Sciences. – 2015. – Vol. 19, № 23. – P. 4671-4674.
3. Polyphenols and their nanoformulations as potential antibiofilm agents against multidrug-resistant pathogens / M. Em. Elkhaila, M. Ashraf, A. Ahmed [et al.] // Future Microbiology. – 2024. – Vol. 19, № 3. – P. 255-279.

4. Артюх, Т. В. Влияние орегонина на кинетику роста и чувствительность к антибиотикам грамотрицательных бактерий – продуцентов карбапенемаз / Т. В. Артюх, В. М. Шейбак, Д. В. Тапальский // Новости медико-биологических наук. – 2026. – Т. 26, № 1. – С. 86-95.

5. Biofilm-mediated infections by multidrug-resistant microbes: a comprehensive exploration and forward perspectives / M. M. Zafer, G. A. Mohamed, S. R. M. Ibrahim [et al.] // Archives of Microbiology. – 2024. – Vol. 206, № 3. – P. 101.

6. Torrens, G. Mechanisms conferring bacterial cell wall variability and adaptivity / G. Torrens, F. Cava // Biochemical Society Transactions. – 2024. – Vol. 52, № 5. – P. 1981-1993.

7. Ganapathy, G. Diarylheptanoids as nutraceutical: A review / G. Ganapathy, R. Preethi, J. A. Moses [et al.] // Biocatal Agric Biotechnol. – 2019. – Vol. 19. – Art. 101109. – doi: 10.1016/j.bcab.2019.101109.

ТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ МЕТАБОЛИТОВ *ALTERNARIA* НА ЭКСПЕРССИЮ ГЕНОВ ФЕРМЕНТНЫХ СИСТЕМ В ПЕЧЕНИ КРЫС

Балакина А.С., Трусов Н.В., Аксенов И.В., Тутельян В.А.

Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи, Москва, Российская Федерация

Актуальность. Высокий уровень контаминации пищевых продуктов растительного происхождения метаболитами плесневых грибов рода *Alternaria* представляет глобальную проблему для продовольственной безопасности и общественного здравоохранения [1]. Присутствие микотоксинов в пищевой цепи даже при низких уровнях загрязнения вызывает серьезную озабоченность из-за их токсических эффектов.

Токсикологические данные по альтернариатоксинам на экспериментальных моделях *in vitro* в большей степени получены для альтернариола (АОН), его монометилового эфира (АМЕ) и тенуазоновой кислоты (ТеА). Последняя обладает наиболее выраженной острой токсичностью за счет ингибирования синтеза белка на рибосомах [2]. При хроническом поступлении особую опасность представляют АОН и АМЕ, генотоксическое действие которых реализуется путем ингибирования топоизомеразы ДНК и нарушения её целостности [3].

Российскими и зарубежными исследователями показано совместное присутствие разных классов микотоксинов *Alternaria* в пище [4, 5]. Однако, данные, полученные при комбинированном введении альтернариатоксинов на животных моделях крайне малочисленны. В связи с этим **целью** данного исследования было оценить острое токсическое действие ТеА и смеси альтернариатоксинов на экспрессию генов ферментов метаболизма ксенобиотиков, антиоксидантной защиты и липогенеза в печени крыс.