

УДК 615.33:577.4

ВЛИЯНИЕ ЭРИТРОМИЦИНА И ДОКСИЦИКЛИНА НА АКТИВНОСТЬ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ФОРМ МАЛАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ АКТИВНОГО ИЛА

© 2010 И.Ф. Шаталаев, З.Е. Мащенко

Самарский государственный медицинский университет

Поступила в редакцию 14.07.2010

В работе представлены данные о структурной организации и активности молекулярных форм малатдегидрогеназы водных микроорганизмов при действии эритромицина и доксициклина в зависимости от концентрации и времени инкубации в анаэробно-аэробных условиях.

Ключевые слова: антибиотики, активность малатдегидрогеназы, водные микроорганизмы.

Производство антибиотиков в настоящее время занимает одно из ведущих мест в фармацевтической промышленности. Технология производства антибиотиков предусматривает значительный объем водопотребления. На разных этапах производства образуется высококонцентрированная технологическая вода, содержащая продукты биосинтеза антибиотиков. Кроме того, в зарубежной и отечественной литературе представлены данные о заметном увеличении содержания антибиотиков в воде городских коллекторов, особенно в утренние часы [2, 3, 4]. Многие антибиотики обладают низкой способностью к биологической деструкции, что обуславливает “проскок” сооружений биологической очистки и поступление полупродуктов распада антибиотиков в водоемы.

Ключевое положение малатдегидрогеназы (L-малат: NAD-оксидоредуктаза, 1.1.1.37, МДГ) в окислительно-восстановительных процессах всех живых систем позволяет использовать информацию о структурной организации и активности фермента в качестве интегрального показателя функционального состояния микросообществ гидроэкосистем. Высокотоксичные компоненты технологической воды производства антибиотиков могут приводить к частичному или полному блокированию цикла Кребса на участке малат-оксалоацетат.

Целью данного исследования является изучение структурной организации и активность молекулярных форм (МФ) малатдегидрогеназы (МДГ) водных микроорганизмов при действии эритромицина и доксициклина в зависимости от

их концентрации и времени инкубации в аэробно-анаэробных условиях.

Материалы и методы исследования. В качестве тест – организмов в экспериментах использовали активный ил регенератора первой секции аэракторов городской станции биологической очистки. К 100 мл активного ила добавляли водный раствор антибиотика (эритромицина и доксициклина в концентрации 50, 100 и 150 мг/г биомассы) и помещали на магнитную мешалку. Через каждый час (в течение 4-х часов) отбирали пробы по 10 мл. Далее 10 мл иловой суспензии (45-50 мг сухого остатка) двукратно отмывали от фоновых загрязнений водой очищенной, центрифугировали при 3000g в течение 10 мин. Осадок переносили в механический дезинтегратор (стеклянная ступка и пестик на шлифах) и проводили дезинтеграцию клеток ила 5 мин при 4 °С. Дезинтеграт переносили в колбу, добавляли тритон X-305, колбу помещали на магнитную мешалку на 20 мин для солубилизации фермента. Гомогенат центрифугировали при 5000g 10 мин.

В супернатанте определяли МФ МДГ методом электрофореза в плоских блоках 7,5% полиакриламидного геля. В качестве электродного буфера использовали 1М трис-ЭДТА-боратный буфер (рН 9,2).

Выявление МФ МДГ проводили с помощью феназинметасульфат–тетразолиевой реакции в чашках Петри.

Путем прямой денситометрии определяли относительную активность каждой зоны во всех образцах на анализаторе фореграмм АФ-1 (Львовприбор).

Результаты и их обсуждение. Во всех сериях экспериментов МДГ представлена в виде одной фракции, которая по относительной электрофоретической подвижности (ОЭП) соответствует МДГ-1.

Динамика изменения активности фермента в процентах во времени инкубации представлены в табл. 1 и рис. 1 и 2.

Шаталаев Иван Федорович – доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой химии фармацевтического факультета Самарского государственного медицинского университета;

Мащенко Зинаида Евгеньевна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармации Самарского медицинского института “Реавиз”.

E-mail: mzinaida@yandex.ru

Таблица 1. Относительная активность МДГ-1 при действии антибиотиков

Концентрация антибиотика, мг антибиотика/ г биомассы	Время инкубации, час				
	контроль	1	2	3	4
Эритромицин					
50	15,0	25,6	29,3	15,9	13,5
100	22,0	27,8	7,1	13,2	30,5
150	26,0	27,8	8,8	14,2	22,4
Доксициклин					
50	38,5	38,4	16,1	3,5	3,5
100	29,9	39,6	11,1	7,2	12,1
150	43,4	29,5	27,3	0	--

На рис. 1 показаны данные изменения активности МДГ-1 при действии эритромицина в различных концентрациях в зависимости от времени инкубации. В течение первого часа инкубации отмечали увеличение активности МДГ,

далее в зависимости от концентрации антибиотика характер кривых меняется. При концентрации 50 мг/г биомассы наблюдали дальнейшую, почти двукратную активацию фермента, и после 3-х часов инкубации активность МДГ дости-

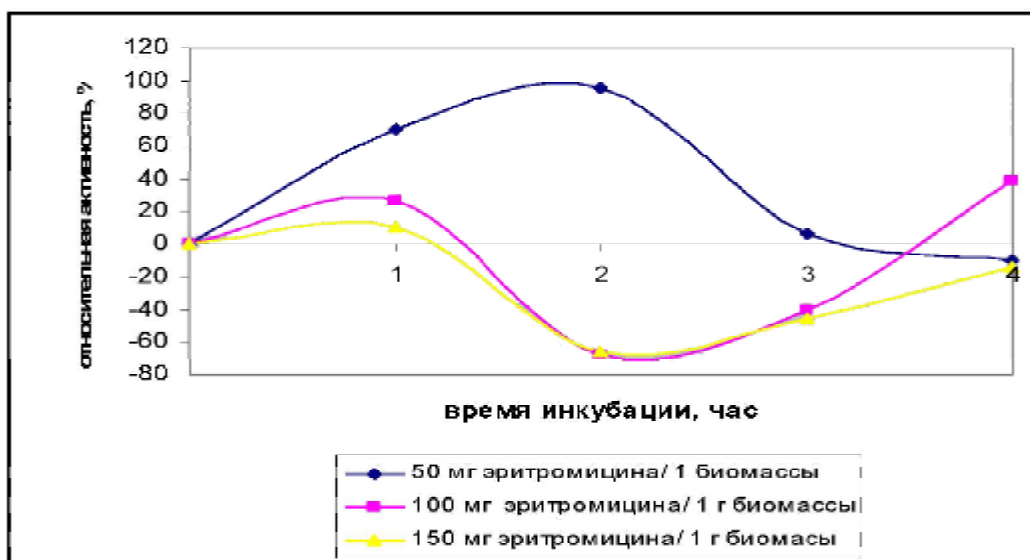


Рис. 1. Относительная активность МДГ-1 при действии эритромицина на биомассу активного ила

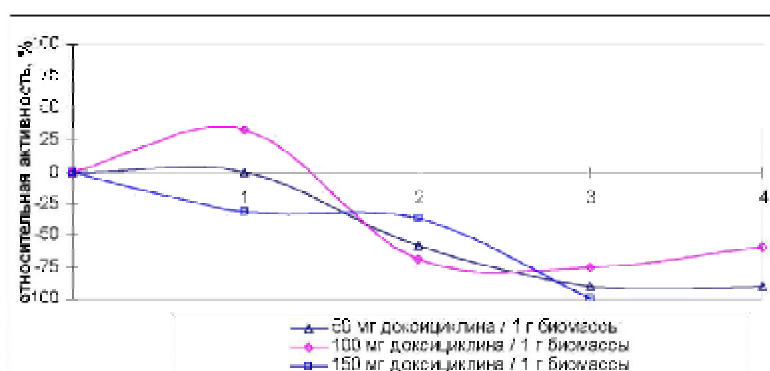


Рис. 2. Относительная активность МДГ-1 при действии доксициклина на биомассу активного ила

гала уровня контроля. Увеличение концентрации эритромицина до 100 и 150 мг/г биомассы приводила к резкому ингибированию активности фермента на этапе 2-х часовой инкубации.

На рис. 2 показаны кривые изменения активности МДГ-1 микроорганизмов при действии доксициклина.

Отмечена незначительная активация фермента в течение первого часа аэрации при концентрации антибиотика 100 мг/г биомассы. Дальнейшая инкубация приводит к резкому ингибированию процессов дегидрирования мала-та. Концентрация антибиотика 50 и 150 мг/г биомассы оказывают токсическое действие, ингибируя МДГ-1 уже в первый час инкубации.

ВЫВОДЫ

1. Ингибирование МДГ-1 после первого часа инкубации с эритромицином в концентрации

100 и 150 мг/г биомассы происходит предположительно образовавшимися продуктами окисления антибиотиков.

2. Установлено прямое токсическое действие доксициклина на водные микроорганизмы во всех исследуемых диапазонах концентраций после первого часа инкубации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Электрофорез в разделении биологических макромолекул / Э. Гааль, Г. Медьеша, Л. Верецкей. М.: Мир, 1982. 448 с.
2. *Егоров Н.С.* Основы учения об антибиотиках: Учеб. М.: Изд-во МГУ; Наука, 2004. 528 с.
3. *Тимофеева С.С.* Энзимоиндикация качества очистки сточных вод в аэротехах // Химия и технология воды. 1987. Т. 9. № 5. С.445-448.
4. *Sun Zhen-long, Chen Shao-wei, Wu Zhi-chao.* Gongye yongshui yu feishui=Ind. //Water and Wastewater. 2003. Vol. 34. № 1. Pp. 33–35, 38.

INFLUENCE ERYTHROMYCIN AND DOXYCYCLINE ON ACTIVITY OF MOLECULAR FORM MALATDEHYDROGENASE OF ACTIVE SILT

© 2010 I.F. Shatalaev, Z.E. Mashenko

Samara State Medical University

In work data about the structural organization and activity of molecular form malatdehydrogenase water microorganisms under the action erythromycin and doxycycline in depending on concentration and time of incubation in anaerobic-aerobic conditions.

Key words: antibiotics, activity malatdehydrogenasa, water microorganisms.

Ivan Shatalaev, Dr.Sci.Biol., the Professor Managing Faculty of Chemistry of Pharmaceutical Faculty of the Samara State Medical University,

Zinaida Mashenko, the Candidate of Pharmaceutical Sciences, the senior Lecturer of Faculty of Pharmacy of Samara Medical Institute "Reaviz".

E-mail: mzinaida@yandex.ru