

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра микробиологии

СУМЕНКОВА
Валерия Александровна

**СЕКРЕТОРНЫЕ ФЛА₂ КАК МАРКЕРЫ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ
ПРОЦЕССОВ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ**

Аннотация к дипломной работе

Научный руководитель:
кандидат химических наук,
доцент Д.О. Герловский

Минск, 2025

АННОТАЦИЯ

Дипломная работа состоит из 62 страниц, 22 рисунков, 12 таблиц, включая список использованных источников из 26 позиций.

ФОСФОЛИПАЗА A_2 , ФОСФОЛИПИДЫ, ФОСФАТИДИЛХОЛИН, ФОСФАТИДИЛЭТАНОЛАМИН, СПЕКТРОФОТОМЕТРИЯ, ОСТРЫЙ ПАНКРЕАТИТ.

Объект исследования: Секреторные фосфолипазы A_2 (ФЛА $_2$); Сыворотка крови больного острым панкреатитом и здорового донора; Тест-культуры микроорганизмов (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida utilis*).

Цель: рассмотреть активность секреторных ФЛА $_2$, как маркер в диагностике и лечении различных заболеваний человека и животных, а также исследовать антимикробную активность сыворотки крови.

Методы: Спектрофотометрический метод; Чашечный метод Коха; Диско-диффузионный метод.

Выделены очищены субстраты фосфолипазы A_2 – фосфатидилхолин и фосфатидилэтанолламин – определена концентрация: 5,1 мкмоль/мл – фосфатидилхолин, 4,8 мкмоль/мл – фосфатидилэтанолламин. Определена ферментативная активность ФЛА $_2$ в сыворотке крови: средняя скорость гидролиза фосфатидилхолина сывороткой крови больного человека составила 0,00623 мкмоль/мл·ч, что в 2,5 раза выше, чем у здорового донора. Средняя скорость гидролиза фосфатидилэтанолламина сывороткой крови больного – 0,001725 мкмоль/мл·ч, что также превышает показатели здорового донора в 2,5 раза. Полученные данные подтверждают субстратную специфичность ФЛА $_2$ с преобладанием активности в отношении фосфатидилхолина. Повышение активности ФЛА $_2$ наблюдается при патологии, что согласуется с литературными данными о роли ФЛА $_2$ в воспалительных процессах, в частности при остром панкреатите. Исследование бактерицидного и фунгицидного действия сыворотки крови больного донора на тест-культурах показало: выявлено полное подавление роста у *A. tumefaciens*, *S. marcescens*, *P. aeruginosa* и *C. utilis* (чашечный метод Коха); зафиксированы обширные зоны задержки роста в присутствии сыворотки больного: для *P. aeruginosa* и *A. tumefaciens* - 6-7 см в диаметре, для *St. saprophyticus* - 1.0–1.4 см, для *C. utilis* - 8-9 см, у *B. subtilis* 6-7 см, а у *S. marcescens* зоны просветления достигали 3–5 см (диско-диффузионный метод); спектрофотометрическим методом подтверждено замедление роста всех тест-культур в присутствии сыворотки больного на 80-95%. Обнаружена зависимость между антимикробной и фосфолипазной активностями сыворотки крови больного: чем выше активность ФЛА $_2$ в сыворотке, тем сильнее выражен антимикробный эффект. Это позволяет предположить, что ФЛА $_2$ не только участвует в липидном метаболизме, но и определяет защитные функции сыворотки крови за счет лизиса мембран патогенов.

АНАТАЦЫЯ

Дыпломная праца складаецца з 62 старонак, 22 малюнкаў, 12 табліц, уключаючы спіс выкарыстаных крыніц з 26 пазіцый.

ФАСФАЛІПАЗА A_2 , ФАСФАЛІПІДЫ, ФАСФАТЫДЫЛХАЛІН, ФАСФАТЫДЫЛЭТАНАЛАМІН, СПЕКТРАФАТАМЕТРЫЯ, ВОСТРЫ ПАНКРЭАТЫТ.

Аб'ект даследавання: сакраторныя фасфаліпазы A_2 (ФЛА $_2$); сываратка крыві хворага на востры панкрэатыт і здоровага донара; тэст-культуры мікраарганізмаў (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida utilis*).

Мэта: разгледзець актыўнасць сакраторных ФЛА $_2$ як маркер у дыягностыцы і лячэнні розных захворванняў чалавека і жывёл, а таксама даследаваць антымікробную актыўнасць сывараткі крыві.

Методы: спектрафотаметрычны метада; чашачны метада Коха; дыска-дыфузійны метада.

Выдзелены ачышчаныя субстраты фасфаліпазы A_2 – фасфатыдылхалін і фасфатыдылетаналамін – вызначана канцэнтрацыя: 5,1 мкмоль/мл – фасфатыдылхалін, 4,8 мкмоль/мл – фасфатыдылетаналамін.

Вызначана ферментатыўная актыўнасць ФЛА $_2$ у сываратцы крыві: сярэдняя хуткасць гідролізу фасфатыдылхаліну сывараткай крыві хворага чалавека склала 0,00623 мкмоль/мл·г, што ў 2,5 разы вышэй, чым у здоровага донара. Сярэдняя хуткасць гідролізу фасфатыдылетаналаміну сывараткай крыві хворага – 0,001725 мкмоль/мл·г, што таксама перавышае паказчыкі здоровага донара ў 2,5 разы. Атрыманыя даныя пацвярджаюць субстратную спецыфічнасць ФЛА $_2$ з перавагай актыўнасці ў адносінах да фасфатыдылхаліну. Павышэнне актыўнасці ФЛА $_2$ назіраецца пры паталогіі, што адпавядае літаратурным даным пра ролю ФЛА $_2$ у запаленчых працэсах, у прыватнасці пры вострым панкрэатыце. Даследаванне бактэрыцыднага і фунгіцыднага дзеяння сывараткі крыві хворага данара на тэст-культурах паказала: выяўлена поўнае падаўленне росту ў *A. tumefaciens*, *S. marcescens*, *P. aeruginosa* і *C. utilis* (чашачны метада Коха); зафіксаваны шырокія зоны затрымкі росту ў прысутнасці сывараткі хворага: для *P. aeruginosa* і *A. tumefaciens* – 6-7 см у дыяметры, для *St. saprophyticus* – 1.0–1.4 см, для *C. utilis* – 8-9 см, у *B. subtilis* 6-7 см, а ў *S. marcescens* зоны прасвятлення дасягалі 3–5 см (дыска-дыфузійны метада); спектрафотаметрычным метадам пацверджана запаволенне росту ўсіх тэст-культур у прысутнасці сывараткі хворага на 80-95%. Выяўлена залежнасць паміж антымікробнай і фасфаліпазнай актыўнасцямі сывараткі крыві хворага: чым вышэй актыўнасць ФЛА $_2$ у сываратцы, тым больш выяўлены антымікробны эфект. Гэта дазваляе выказаць здагадку, што ФЛА $_2$ не толькі ўдзельнічае ў ліпідавым абмене, але і вызначае ахоўныя функцыі сывараткі крыві за кошт лізісу мембран патогенаў.

ANNOTATION

The graduation project consists of 62 pages, 22 figures, 12 tables, including a list of used sources of 26 items.

PHOSPHOLIPASE A_2 , PHOSPHOLIPIDS, PHOSPHATIDYLCHOLINE, PHOSPHATIDYLETHANOLAMINE, SPECTROPHOTOMETRY, ACUTE PANCREATITIS.

Object of study: Secretory phospholipases A_2 (PLA₂); Blood serum of a patient with acute pancreatitis and a healthy donor; Test cultures of microorganisms (Bacillus subtilis, Staphylococcus saprophyticus, Agrobacterium tumefaciens, Serratia marcescens, Pseudomonas aeruginosa, Candida utilis).

Aim of study: To examine the activity of secretory PLA₂ as a marker in the diagnosis and treatment of various human and animal diseases, and to study the antimicrobial activity of blood serum.

Methods: Spectrophotometric method; Koch's cup method; Disk diffusion method.

Purified substrates of phospholipase A_2 – phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine – were isolated, with concentrations determined: 5.1 $\mu\text{mol/ml}$ – phosphatidylcholine, 4.8 $\mu\text{mol/ml}$ – phosphatidylethanolamine. The enzymatic activity of PLA₂ in blood serum was determined: The average rate of phosphatidylcholine hydrolysis by the serum of a sick patient was 0.00623 $\mu\text{mol/ml}\cdot\text{h}$, which is 2.5 times higher than that of a healthy donor. The average rate of phosphatidylethanolamine hydrolysis by the patient's serum was 0.001725 $\mu\text{mol/ml}\cdot\text{h}$, which also exceeds the healthy donor's levels by 2.5 times. The obtained data confirm the substrate specificity of PLA₂ with predominant activity towards phosphatidylcholine. Increased PLA₂ activity is observed in pathology, which is consistent with literature data on the role of PLA₂ in inflammatory processes, particularly in acute pancreatitis. The study of bactericidal and fungicidal effects of the patient's blood serum on test cultures showed: Complete suppression of growth in A. tumefaciens, S. marcescens, P. aeruginosa and C. utilis (Koch's cup method); Extensive growth inhibition zones were recorded in the presence of the patient's serum: for P. aeruginosa and A. tumefaciens – 6-7 cm in diameter, for St. saprophyticus – 1.0–1.4 cm, for C. utilis – 8-9 cm, for B. subtilis 6-7 cm, while for S. marcescens the clearing zones reached 3–5 cm (disk diffusion method); Spectrophotometric method confirmed 80-95% growth inhibition of all test cultures in the presence of the patient's serum. A correlation between antimicrobial and phospholipase activities of the patient's blood serum was found: The higher the PLA₂ activity in the serum, the more pronounced the antimicrobial effect. This suggests that PLA₂ not only participates in lipid metabolism but also determines the protective functions of blood serum through pathogen membrane lysis.