

УДК 579.222.6]:618.15

ОСОБЛИВОСТІ ІОННОГО ФОСФОРИЛЮВАННЯ У СТАФІЛОКОКІВ ПРИ ДИСБІОЗІ УРОГЕНІТАЛЬНОГО ТРАКТА ЖІНОК

Полішко Т.М., Сірокваша О.А., Вінніков А.І.

Встановлено можливість синтезу АТФ при створенні градієнтів трансмембранної різниці потенціалів ($\Delta\psi$) або трансмембранного градієнту протонів (ΔpH) у стафілококів, виділених при нормобіозі урогенітального тракту (УГТ) та у стафілококів, які виділено при дисбіозі УГТ. Найбільша інтенсивність прироста АТФ характерна для стафілококів, виділених при дисбіозі, найменша – у стафілококів, виділених при дисбіозі і наявності додаткової інфекційної патології в порівнянні зі стафілококами, виділеними при нормобіозі УГТ.

Ключові слова: урогенітальний тракт, стафілококи, синтез АТФ, мембранний потенціал, градієнт протонів.

ВСТУП

Стафілококи, які є умовно-патогенними бактеріями, викликають особливий інтерес в зв'язку із значним набором факторів патогенності і можливістю швидкого надбання і розповсюдження штамів, стійких до антибіотиків. Кількість інфекцій стафілококової етіології в усьому світі постійно збільшується. Особливу тривогу викликає ріст внутрішньогоспитальної стафілококової інфекції в акушерсько-гінекологічних, дитячих, хірургічних та інших клініках [1 – 12].

Необхідно особливо зупинитися на тому, що багато культур стафілококів входять до складу індигенної мікрофлори відкритих біотопів організму людини, в тому числі урогенітального тракту (УГТ) жінок. При деяких умовах: зниженні фізіологічної активності організму, зниженні імунного статусу, порушенні гормональної активності, неконтрольованому застосуванні антибіотиків та інших лікарських засобів, впливу ряду сприятливих факторів зовнішнього середовища екологічна рівновага мікробіоценозу УГТ може бути порушена, і стан нормобіозу змінюється на дисбіоз УГТ. При цьому різко знижується кількість сапрофітних бактерій, насамперед, лактобацил і біфідобактерій, і збільшується кількість умовно-патогенних і патогенних бактерій і, в першу чергу, стафілококів [13 – 22].

З високим ступенем вірогідності можна припустити, що при дисбіозі змінюються не тільки кількісні характеристики бактерій мікробіоценозу УГТ, але і відбувається зміна метаболічних процесів, що у стафілококів напряму пов'язана з реалізацією патогенних ознак і вірогідністю розвитку інфекційного процесу. Між тим системних досліджень по порівняльному вивченню метаболізму стафілококів, виділених при нормобіозі та дисбіозі УГТ жінок, не проводиться.

У зв'язку з цим метою нашої роботи було порівняльне вивчення енергетичного обміну у штамів стафілококів, виділених при нормобіозі, і двох груп штамів, які

були виділено при дисбіозі. В якості параметрів вивчення енергозабезпечення було обрано динаміку синтезу АТФ під час іонного фосфорилування в зв'язку з тим, що синтез АТФ при створенні градієнтів $\Delta\psi$ і ΔpH є одним з ключових параметрів трансформації енергії в бактеріальній клітині [23,24].

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

В якості об'єкта дослідження було використано штами *Staphylococcus aureus*, які були виділені при бактеріологічному обстеженні жінок. Виділені штами входили до трьох груп: перша група – стафілококи, які були виділені із УГТ здорових жінок в стані нормобіозу; друга група – стафілококи, які були виділені із УГТ при дисбіозі; третя група – стафілококи, які були виділені із УГТ в стані дисбіоза при наявності додаткової інфекційної патології бактеріальної або вірусної етіології. Визначення таксономічної належності вказаних штамів стафілококів проводили згідно визначника Бергі [25].

Для вивчення параметрів енергетичного обміну було взято по п'ять штамів кожної групи. Вирощування стафілококів проводили при 37° С до кінця логарифмічної фази росту. Клітини відмивалися двічі при центрифугуванні 20 хв. при 5000 об/хв в 50 мМ трис-НСІ буфері, рН 7,4 і суспендировали в цьому ж буфері з додаванням 5 мМ MgCl_2 .

Транспорт іонів калію і водню у стафілококів вимірювали із застосуванням K^+ -електрода Критур тип 19-15 і рН-електродів. Вимірювальна схема включала іономер ЭВ-74, інтегральну схему обробки сигналів з вихідом на персональний комп'ютер. Концентраційний градієнт іонів K^+ створювали шляхом інкубації клітин в 0,3 М розчині КСІ на 40мМ трис-НСІ буфері, рН 7,0 протягом 30 хв, потім клітини відмивали від КСІ при центрифугуванні на холоді (2-4°). Градієнт рН створювали при добавленні в середовище НСІ або трис-основи. Швидкість іонних потоків калію або протонів виражали в $\text{нмоль}\cdot\text{хв}^{-1}\cdot\text{мг}^{-1}$ білка.

Для визначення кількості АТФ, яка синтезована в клітинах при наведенні мембранної різниці потенціалів, або градієнта рН, проводили екстракцію клітинної біомаси 30% HClO_4 по методу Cole et al.[26]. Кількість АТФ в екстракті визначали по методу Hempling [27] з використанням додаткової ферментаційної системи, яка містить гексокіназу і глюкозо-6-фосфатдегідрогеназу. 0,1 мл клітинного екстракта вносили в 2,5 мл 30мМ розчину морфолінпропансульфонової кислоти (MORS) рН 7,0, яка містить 0,5 мМ NADP, 1 мМ глюкози, 3 мМ MgCl_2 . Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназу добавляли в кількості 5 мкг, гексокіназу – 12 мкг. Кількість АТФ розраховували по кількості відновленого NADPH. Концентрацію АТФ виражали в молярних одиницях, беручи за основу при розрахунках кількість внутрішньоклітинної води для стафілококів 1,55 мкл на 1 мг сухої ваги клітин, встановлену Niven, Hamilton [28].

Концентрація добавок, які вносились: субстратів, інгібіторів дихального ланцюга, протонфорних роз'єднувачів та іонофорних антибіотиків приводяться в таблицях. Дані перераховувались на 1 мг білка, білок визначали методом Лоурі . Дані оброблялись статистично з використанням t-критерія Стюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Наведення електрохімічного потенціалу іонів водню через мембрану, як відомо, ініціює вхід протонів в клітину. Процеси трансформації енергії в енергоперетворюючих мембранах включають в себе ще одну складову частину: можливість синтезу АТФ при створенні на мембрані компонентів електрохімічного потенціалу іонів водню, тобто мембранного потенціалу та градієнту протонів. Синтез АТФ в цьому разі можливий як при роботі генераторів протонного електрохімічного потенціалу, так і при створенні штучних іонних градієнтів неензиматичним шляхом при відсутності метаболічних процесів. В цілому ряді робіт [29,30] було показано таку можливість синтезу АТФ шляхом створення градієнтів $\Delta\psi$ і ΔpH , але ці дослідження було проведено тільки на еталонних штаммах обмеженої кількості видів бактерій і зовсім не вивчались клінічні штами. Було показано, що присутність іонних градієнтів створює додаткові можливості постачання джерел конвертованої енергії для виконання різних видів роботи клітиною і, насамперед, осмотичної роботи, це має особливе значення при створенні в середовищі проживання біологічних об'єктів екстремальних умов існування.

Виходячи з цього, необхідним етапом вивчення процесів трансформації у стафілококів різних груп є порівняльне вивчення можливостей та динаміки синтезу АТФ при створенні градієнтів $\Delta\psi$ і ΔpH .

Спочатку необхідно було в'яснити можливість індукції іонних потоків з клітин стафілококів при створенні певних іонних градієнтів. Схема експериментів включала в себе інкубацію біомаси стафілококів вивчаємих груп в середовищі, насиченому іонами калію. Внаслідок перепаду концентрацій калію в середовищі і всередині клітин іони калію накопичувались всередині клітин. При наступному внесенні біомаси клітин з накопиченим калієм в середовища, де були відсутні іони калію, було зареєстровано вихід калію із клітин (табл. 1).

Таблиця 1.

Швидкість потоку іонів калію, що індукується валіноміцином в клітинах стафілококів в $\text{нмоль} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{мг}^{-1}$ білка ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)

Добавки	Група 1(n=5)	Група 2(n=5)	Група 3(n=5)
Без добавки	—	—	—
+ валіноміцин 1мкМ	170±18	240±18	100±9
+ХКФ 1мкМ	250±16	275±20	160±15

Із даних таблиці видно, що при відсутності добавок виходу калію не спостерігається і тільки добавка валіноміцина (специфічного переносника K^+ через мембрани) призводить до ініціації потоку іонів калію із клітин. Швидкість потоку в присутності валіноміцина для стафілококів 1-ої групи досягає 170 ± 18 $\text{нмоль} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{мг}^{-1}$ білка.

У стафілококів 2-ої групи швидкість потоку складає 141,2%, а у стафілококів 3-ої групи 58,8% в порівнянні зі швидкістю потоків іонів калію у стафілококів 1-ої контрольної групи. Добавка протоннофорного роз'єднувача ХКФ призводить до підвищення швидкості викиду іонів калію у стафілококів всіх трьох груп, причому

найбільша інтенсивність траслокації калію в присутності ХКФ зустрічається у стафілоkokів 2-ої групи.

Одночасно, з виходом калію із клітин, зафіксовано вхід іонів водню всередину клітини в обмін на іони калію (табл. 2). Цей процес ініціюється внесенням валіноміцина і має максимальне значення 250 ± 17 нмоль·хв⁻¹·мг⁻¹ білка у стафілоkokів 2-ої групи, що складає 131,6% проти 190 ± 12 нмоль·хв⁻¹·мг⁻¹ білка (100%) у стафілоkokів 1-ої групи та мінімальну швидкість встановлено для стафілоkokів 3-ої групи 120 ± 10 нмоль·хв⁻¹·мг⁻¹ білка, що складає 63,2% від значень 1-ої контрольної групи.

Таблиця 2.

Швидкість потоку іонів водню, що індукований валіноміцином в клітинах стафілоkokів в нмоль·хв⁻¹·мг⁻¹ білка ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)

Добавки \ Групи	1 (n=5)	2 (n=5)	3 (n=5)
Без добавки	—	—	—
+ валіноміцин 1мкМ	190±12	250±17	120±10
+ХКФ 1мкМ	240±14	290±19	170±11

Швидкість викиду іонів водню прискорюється при додаванні протонофорного роз'єднувача ХКФ, причому максимальна швидкість має місце у стафілоkokів 2-ої групи (290 ± 19 нмоль·хв⁻¹·мг⁻¹ білка) проти 240 ± 14 нмоль·хв⁻¹·мг⁻¹ білка у 1-ої групи і мінімальна (170 ± 11 нмоль·хв⁻¹·мг⁻¹ білка) у стафілоkokів 3-ої групи. Вихід іонів калію із клітини в присутності валіноміцина призводить до створення орієнтації поля «—» всередині клітини, додавання протонофорного роз'єднувача ХКФ підвищує проникливість мембрани для протонів, що призводить до прискорення потоків K⁺ і H⁺.

Наведення потенціалу в ході іонних потоків при створенні градієнтів концентрацій іонів давало змогу вивченню динаміки синтезу АТФ на мембрані стафілоkokів. Вивчення динаміки синтезу АТФ проводили при наведенні трансмембранної різниці потенціалів за рахунок концентраційного градієнта іонів калію. Біомасу клітин стафілоkokів навантажували іонами калію, а потім інкубували в середовищі, де була відсутність калію, щоб виключити можливість метаболічних процесів, пов'язаних з дією дихального ланцюгу, в середовищі були відсутні субстрати і вносився KCN. Результати цих експериментів наведено в таблиці 3.

При відсутності в середовищі валіноміцину, тобто відсутності потоку калію із клітин, концентрація АТФ всередині клітин знаходилась в межах 25-50 мкМ. При послідовному збільшенню концентрації валіноміцину з 10 до 30 мкг/мл спостерігається приріст АТФ, що пов'язаний з наведенням трансмембранної різниці потенціалів внаслідок виходу, під дією валіноміцину, калія із клітин.

Максимальні прирости АТФ визначаються при концентрації валіноміцину 30 мкг/мл. Так, для 1-ої контрольної групи стафілоkokів, концентрація досягає 300 ± 12 мкМ, що прийнято за 100%, для 2-ої групи концентрація досягає

максимальних значень 400 ± 15 мкМ, що складає 133,3%, і мінімальне значення для 3-ої групи 250 ± 11 мкМ, що дорівнює 83,3%. Таким чином, максимальний приріст при неензиматичному наведенні трансмембранної різниці потенціалів досягає 350 мкМ для стафілококів 2-ої групи, 270 мкМ для 1-ої групи та 225 мкМ для 3-ої групи.

Таблиця 3.
Взаємозв'язок прироста АТФ (мкМ) і концентрації валіноміцина при створенні градієнта рН у вивчаємих груп стафілококів ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)

Концентрація валіноміцина (мкг/мл) / Групи	0	10	20	30
1 (n=5)	30 ± 2	50 ± 6	70 ± 5	300 ± 12
2 (n=5)	50 ± 3	300 ± 11	350 ± 10	400 ± 15
3 (n=5)	25 ± 5	70 ± 8	150 ± 9	250 ± 11

Для послідовного доказу того, що приріст АТФ відбувається за рахунок наведеної трансмембранної різниці потенціалів, було проведено експерименти по впливу класичних енергетичних інгібіторів на утворення АТФ (табл. 4).

Таблиця 4.
Вплив інгібіторів мембранного потенціала на утворення АТФ (мкМ) в клітинах вивчаємих груп стафілококів при створенні валіноміцином трансмембранної різниці потенціалів ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)

Групи / Добавки	Добавки, які вносились		
	Без добавки	ХКФ 3 мкМ	ДЦКД 0,1 мМ
1 (n=5)	300 ± 12	20 ± 3	70 ± 7
2 (n=5)	400 ± 15	10 ± 2	30 ± 5
3 (n=5)	250 ± 11	10 ± 1	50 ± 6

Як видно з результатів таблиці, добавка протонного роз'єднувача ХКФ викликає найбільший пригнічуючий ефект на приріст АТФ у стафілококів 2-ої групи з 400 ± 12 до 10 ± 2 мкМ АТФ, що складає відсоток пригнічення 97,5%, трохи менший ефект у стафілококів 1-ої групи з 300 ± 10 до 20 ± 3 мкМ, що складає пригнічуючий ефект 93,3%, і наприкінці у стафілококів 3-ої групи концентрація зменшилась з 250 ± 8 до 10 ± 1 мкМ, що складає пригнічуючий ефект 96,0%.

ХКФ як протонний роз'єднувач знімає весь електрохімічний потенціал іонів водню на мембрані, в той час як ДЦКД пригнічує можливий приріст АТФ при дії тільки протонної H^+ -АТФази. ДЦКД теж подавляє приріст АТФ, але в меншому ступені, чим ХКФ. Так, для стафілококів 2-ої групи концентрація АТФ зменшується з 400 ± 12 до 30 ± 5 мкМ, що відповідає пригнічуючому ефекту 92,5%, для стафілококів 1-ої та 3-ої груп пригнічуючі ефекти ДЦКД суттєво не відрізняються 76,7% та 80,0% відповідно.

Наступним доказовим аргументом можуть бути експерименти, що показують залежність приросту АТФ від перепаду концентрацій K^+ зовні та всередині клітини (табл. 5).

Таблиця 5.

Синтез АТФ (мкМ) в клітинах стафілококів, що індукований валіноміцином, при зниженні перепаду концентрацій іонів калію зовні та всередині клітини ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)

Групи	Концентрація K^+ в середовищі (мМ)			
	0	30	100	200
1(n=5)	300±12	120±7	70±9	30±5
2(n=5)	400±15	200±11	150±17	50±6
3(n=5)	250±11	150±13	100±14	20±4

В серії експериментів, результати яких представлено в табл. 5, клітини, що навантажені іонами калію, вносили в інкубаційні середовища з різними концентраціями іонів калію від 0 до 200 мМ.

При такій ситуації концентраційний градієнт між іонами калію всередині клітини і в середовищі знижувався, досягаючи практично нульових значень при концентрації в середовищі іонів калію 200 мМ.

Зупиняючись на даних табл. 5, можна відмітити, що при відсутності іонів калію в середовищі максимальна концентрація АТФ – 400±15 мкМ відмічається у стафілококів другої групи, у відсотковому співвідношенні це на 33,3% вище концентрації АТФ у стафілококів, виділених при нормобіозі (перша група). У стафілококів третьої групи (дисбіоз на фоні інфекційного процесу бактеріальної або вірусної етіології) – найменша концентрація АТФ, на 16,7% нижча в порівнянні зі стафілококами першої групи, де концентрацію АТФ 300±12 мкМ прийнято за 100%.

Для стафілококів всіх трьох груп відмічається чітка тенденція зниження синтезованого за рахунок концентраційного градієнта іонів калію АТФ при зменшенні градієнта концентрації в середовищі по відношенню до внутрішньоклітинної концентрації іонів калію. При концентрації 200 мМ K^+ в середовищі концентрації АТФ – мінімальні, вони досягають 10,0%; 12,5% і 8,0% відповідно для стафілококів 1, 2 та 3 груп від максимальних концентрацій АТФ при максимальному градієнті іонів калію. Це переконливе свідчення того, що синтез АТФ, індукований валіноміцином, обумовлений концентраційним градієнтом іонів калію.

Як відомо, електрохімічний потенціал іонів водню ($\Delta\mu H^+$) складається із двох компонентів: $\Delta\psi$ і ΔpH , причому при зміні ΔpH середовища співвідношення між ними в загальному кількісному значенні $\Delta\mu$ може змінюватись. Отже і створення концентраційного градієнта ΔpH повинно приводити до синтезу АТФ. Результати експериментів по синтезу АТФ при створенні ΔpH приведено в табл. 6. В ході експериментів в середовище з рН 7,4, де знаходились клітини стафілококів, вносили дозовану кількість HCl, з метою зниження рН з 7,4 до 5,0.

Таблиця 6.
Синтез АТФ (мкМ) у вивчаємих груп стафілококів при створенні градієнта ΔpH
($\bar{x} \pm S \bar{x}$)

Добавки, які вносились	НСІ рН 7,4→5,0	Трис рН 5,0→7,4
Групи		
1(n=5)	190±19	35±5
2(n=5)	300±20	57±9
3(n=5)	140±15	29±4

Це приводило до створення трансмембранного градієнта протонів, енергія якого витрачалася на синтез АТФ. Стафілококи першої групи (нормобіоз) характеризувались концентрацією АТФ – 190±19 мкМ, що було прийнято за 100%. Для стафілококів другої групи (дисбіоз) концентрація АТФ була 300±20 мкМ, що на 57,9% вище, ніж в першій групі. Мінімальна концентрація АТФ відмічена у стафілококів третьої групи (дисбіоз з наявністю додаткового інфекційного процесу) – 140±15 мкМ, що на 26,3% нижче, ніж у стафілококів контрольної першої групи.

На другому етапі експеримента в це ж середовище інкубації, де рН 5,0, вносили дозовану кількість розчину трис-основи з тим, щоб рН виросло з 5,0 до 7,4. Це внесення привело до зняття концентраційного градієнта ΔpH і відповідно до різкого зниження концентрації внутрішньоклітинної АТФ. Якщо прийняти за 100% концентрації АТФ при створенні градієнта протонів (стрижку рН 7,4 → 5,0) для кожної із трьох груп стафілококів, то при знятті градієнта ΔpH значення концентрацій АТФ упали до 18,4%; 19,0% і 20,7 відповідно для 1, 2 і 3 груп стафілококів. Отримані дані однозначно свідчать про можливість синтезу АТФ за рахунок створення градієнта ΔpH .

Розглядаючи перспективи подальших досліджень, необхідно відмітити, що в теперішній час відбувається інтеграція функціональної геноміки, протеоміки і вивчення метаболізму в єдину системну біологію, яка дозволить у повному обсязі представити процеси, які відбуваються в клітині, від експресії генів до окремих метаболічних реакцій [31].

Виходячи з цього, вважається доцільним комплексне вивчення енергетичного та конструктивного обміну в порівнянні з даними геноміки та протеоміки еталонних штамів стафілококів і клінічних штамів стафілококів, виділених при різних формах патології УГТ жінок. Це дозволить підвищити рівень діагностики, профілактики і лікування інфекційних захворювань УГТ жінок.

ВИСНОВКИ

1. Генерація трансмембранної різниці електричних потенціалів при створенні концентраційного градієнта іонів калію та індукції валіноміцином потоку K^+ призводить до синтезу АТФ у стафілококів вивчаємих груп.

2. Створення концентраційного градієнта ΔpH при закисненні середовища призводить до синтезу АТФ у стафілококів вивчаємих груп.
3. Найбільший приріст АТФ при неензиматичній генерації $\Delta\psi$ і ΔpH встановлено у стафілококів, виділених при дисбіозі УГТ (група 2), а найменший – у стафілококів при дисбіозі з супутньою інфекційною патологією (група 3) в порівнянні з синтезом АТФ у стафілококів, виділених при нормобіозі УГТ (група 1).

Список літератури

1. Goetz F. Staphylococci in colonization and disease: prospective targets for drugs and vaccines // *Curr. Opin. Microbiol.* – 2004. – V. 7. – P. 477–487.
2. da Silva M. C., Zahm J. M., Gras D., Bajolet O., Abely M., Hinrasky J., Milliot M., de Assis M. C., Hologne C., Bonnet N., Merten M., Plotkowski M. C., Puchelle E. Dynamic interaction between airway epithelial cells and Staphylococcus aureus // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* – 2004. – V. 287. – P. 543–551.
3. Dinges M. M., Orwin P. M., Schlievert P. M. Exotoxins of Staphylococcus aureus // *Clin. Microbiol. Rev.* – 2000. – V. 13. – P. 16–34.
4. Hauck C. R., Ohlsen K. Sticky connections: extracellular matrix protein recognition and integrin-mediated cellular invasion by Staphylococcus aureus // *Curr. Opin. Microbiol.* – 2006. – V. 9. – P. 5–11.
5. Palmqvist N., Silverman G. J., Josefsson E., Tarkowski A. Bacterial cell wall-expressed protein A triggers supraclonal B-cell responses upon in vivo infection with Staphylococcus aureus // *Microbes Infect.* – 2005. – V. 7. – P. 1501–1511.
6. Que Y. A., Haefliger J. A., Piroth L., Francois P., Widmer E., Entenza J. M., Sinha B., Herrmann M., Francioli P., Vaudaux P., Moreillon P. Fibrinogen and fibronectin binding cooperate for valve infection and invasion in Staphylococcus aureus experimental endocarditis // *J. Exp. Med.* – 2005. – V. 201. – P. 1627–1635.
7. Tormo M. A., Knecht E., Goetz F., Lasa I., Penade's J. R. Bap-dependent biofilm formation by pathogenic species of Staphylococcus: evidence of horizontal gene transfer? // *Microbiology.* – 2005. – V. 151. – P. 2465–2475.
8. Chambers H.F. The changing epidemiology of Staphylococcus aureus? // *Emerg. Infect. Dis.* – 2001. – V. 7. – P. 178–182.
9. Palavecino E. Community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections // *Clin. Lab. Med.* – 2004. – V. 24. – P. 403–418.
10. Weber S.G., Gold H.S., Hooper D.C., Karchmer A.W., Carmeli Y. Fluoro-quinolones and the risk for methicillin-resistant Staphylococcus aureus in hospitalized patients // *Emerg. Infect. Dis.* – 2003. – V. 9. – P. 1415–1422.
11. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Vancomycin-resistant Staphylococcus aureus. – New York, 2004. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* – 2004. – V. 53. – P. 322–323.
12. Buescher E.S. Community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus in pediatrics // *Curr. Opin. Pediatr.* – 2005. – V. 17. – P. 67–70.
13. Dobrindt U., Hochhut B., Hentschel U., Hacker J. Genomic islands in pathogenic and environmental microorganisms // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2004. – V. 2. – P. 414–424.
14. Назарова Е.К., Гиммельфарб Е.И., Созаева Л.Г. Микробиоценоз влагалища и его нарушения // *Клиническая лабораторная диагностика.* – 2003. – №2. – С. 25–53.
15. Подгорский В.С., Лясковский Т.М., Коваленко Н.К., Олещенко Л.Т. Изучение вагинальной и кишечной микрофлоры женщин в предродовом периоде и её коррекция при дисбиотических нарушениях // *Мікробіологічний журнал.* – 2006. – №2. – С. 92–104.
16. Сидорова И.С., Воробьев А.А., Боровкова Е.И. Микробиоценоз половых путей женщин репродуктивного возраста // *Акушерство и гинекология.* – 2005. – №2. – С. 7–9.
17. Руденко А.В., Ромащенко О.В., Брудько А.П. Діагностика бактеріального вагінозу // *Лабораторна діагностика.* – 2002. – №4. – С. 30–34.

18. Назарова Е.К., Гиммельфарб Е.И., Созаева Л.Г. Микробиоценоз влагалища и его нарушения //Клиническая лабораторная диагностика. – 2003. – №2. – С. 25-53.
19. Кудрявцева Л.В., Ильина Е.Н., Говорун В.М., Минаев В.И., Зайцева С.В., Липова Е.В., Баткаев Э.А. Бактериальный вагиноз. – М: Издательство МГУ, 2001. – 78с.
20. Григорович Л.В. Бактериальный вагиноз: клиника, течение, лечение //Журнал практичного лікаря. – 2005. – №1. – С. 17-20.
21. Вальшев А.В., Елагина Н.Н., Бухарин О.В. Анаэробная микрофлора женского репродуктивного тракта //Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2001. – №4. – С. 78-84.
22. Анкирская А.С. Бактериальный вагиноз //Акушерство и гинекология. – 2005. – №3. – С. 10-13.
23. Mitchell P. Vectorial chemiosmotic processes //Annu.Rev.Biochem. – 1977. – V.46. – P. 996 – 1005.
24. Скулачев В.П. Энергетика биологических мембран. – М.: Наука, 1989. – 564 с.
25. Определитель бактерий Берги: Пер. с англ. / Под ред. Хоулта Дж., Криля Н., Синта П. и др. в 2-х тт. – М.: Мир, 1997. – Т.1. – 430 с.; т.2. – 368 с.
26. Cole U.A., Wimpenny J.M.T., Hughes D.E. The ATP pool in Escherichia coli 1 Measurement of the pool using a modified luciferase assay //Biocim. Biophys. Acta.– 1967. – V. 143. – P. 445-453.
27. Hempling W.P. Studies on the efficiency of oxidative phosphorylation in intact Escherichia coli //Biochem. Biophys. Acta. – 1970. – V. 205. – P. 169-182.
28. Niven D.f., Hamilton W. A. The mechanism of energy coupling in the active transport of amino acid by Staphylococcus aureus //Biochem. J. – 1972. – V. 127. – P. 58.
29. Винников А.И. Синтез АТФ в клетках Staphylococcus aureus при наведении мембранного потенциала и градиента протонов //Биохимия. – 1988. – Т.53, в. 5. – с. 853-855.
30. Гринюс Л.Л., Транспорт макромолекул у бактерий.– М.: Наука, 1986. – 240с.
31. Hecker M., Engelmann S., Cordwell S.J. Proteomics of Staphylococcus aureus—current state and future challenges //Journal of Chromatography B. – 2003. – V. 787. – P. 179-195

Полішко Т.Н., Сіроковаша Е.А., Вінніков А.І. Особенности ионного фосфорилирования у стафилококков при дисбиозе урогенитального тракта женщин //Ученые записки Таврического национального университета имени В. И. Вернадского. Серия «Биология, химия»– 2008. – Т. 20 (59). – № 4. – С. 98-106.

Установлена возможность синтеза АТФ при создании градиентов трансмембранной разности потенциалов ($\Delta\psi$) или трансмембранного градиента протонов (ΔpH) у стафилококков, выделенных при нормобиозе урогенитального тракта (УГТ) и у стафилококков, выделенных при дисбиозе УГТ. Наибольшая интенсивность прироста АТФ характерна для стафилококков, выделенных при дисбиозе, наименьшая – у стафилококков, выделенных при дисбиозе и наличии дополнительной инфекционной патологии в сравнении со стафилококками, выделенными при нормобиозе УГТ.

Ключевые слова: урогенитальный тракт, стафилококки, синтез АТФ, мембранный потенциал, градиент протонов.

Polishko T.N., Sirokvasha E.A., Vinnikov A.I. Singularities of ionic phosphorylation at staphylococcus in the presence of vaginitis of women's urogenital tract //Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2007. – V.20 (59). – № 4. – P. 98-106.

The possibility of synthesis ATP is indicated at formation of gradients transmembrane potential differences ($\Delta\psi$) or transmembrane gradient of protons (ΔpH) at staphylococcus, isolation at normal state of urogenital tract (UGT) and at staphylococcus, isolation at vaginitis of UGT. The greatest intensity of increase ATP is characteristic for staphylococcus, isolation at vaginitis, the least - at staphylococcus, isolation at vaginitis and presence of an additional infectious pathology in comparison with staphylococcus, isolation at normal state of UGT.

Keywords: urogenital tract, staphylococcus, synthesis ATP, membrane potential, gradient of protons.

Поступила в редакцию 20.03.2008 г.