

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

УДК 577.12

М. О. Саакян, А. А. Шагинян, А. З. Пепоян, академик К. Г. Карагезян

**Некоторые аспекты антибиотикорезистентности
штаммов *Escherichia coli* из кишечной микрофлоры человека**

(Представлено 14/VII 2000)

Известно, что состояние микробной экологии хозяина имеет важную, а возможно, и решающую роль в возникновении определенных форм спонтанных и индуцированных злокачественных новообразований человека и животных. Между тем мало известно о закономерностях поведения кишечных микроорганизмов в ответ на внешние воздействия.

Целью настоящей работы явилось изучение антибиотикорезистентности клеток *E.coli*, характерных для нормальной кишечной микрофлоры человека.

В экспериментах использовали штаммы *E.coli* G35 № 59, 60, 61, характерные для нормальной микрофлоры человека, а также штамм *E.coli*, характерный для онкологического больного. Антибиотики тетрациклин гидрохлорида (*Tc*), ампициллин натриевой соли (*Amp*), пенициллин натриевой соли (*Pn*), хлорамфеникола (*Cm*), цефазолина (*Cf*) и доксациклина (*Dc*) использовали в концентрациях 22; 44; 22; 22; 23.8; 22 мкг/мл соответственно. Питательными средами для выращивания бактериальных культур служили 2%-ный мясопептонный агар, а жидкой средой – питательный бульон. Определение качественного и количественного состава фосфолипидов (ФЛ) изученных штаммов проводили известным способом [1].

В табл. 1 приведены данные по антибиотикорезистентности штаммов *E.coli*. Как видно из таблицы, общими признаками штаммов *E.coli* G35 № 59, 60, 61, отличающими их от штамма *E.coli*, выделенного от онкологических больных, является их чувствительность к антибиотикам *Amp* и *Cm*. С другой стороны, установлено различие этих штаммов по чувствительности к *Dc* и *Cf*. Результаты экспериментов свидетельствуют об отсутствии влияния *Pn* на рост и размножение исследуемых клеток *E. coli* при данной концентрации *Pn*.

**Антибиотикорезистентность клеток
Escherichia coli из кишечной микрофлоры человека**

Штаммы	<i>Tc</i> , 22 мкг/мл	<i>Pn</i> , 22 мкг/мл	<i>Sm</i> , 22 мкг/мл	<i>Amp</i> , 44 мкг/мл	<i>Cf</i> , 23.8 мкг/мл	<i>Dc</i> , 22 мкг/мл
E.coli G35 №59	–	+	–	–	–	–
E.coli G35 №60	–	+	–	–	+	–
E.coli G35 №61	–	+	–	–	–	+
E.coli от больного человека	–	+	+	+	–	–

Примечание: + – нормальный рост клеток на полноценной среде;

– – отсутствие роста на полноценной среде.

В настоящее время достигнут значительный прогресс в понимании механизмов действия многих антибиотиков. Известно, что *Tc* относятся к антибиотикам широкого спектра действия. Антибиотическая активность *Tc* определяется тем, что они оказывают прямое ингибирующее действие на биосинтез белка. Подавление активного транспорта тетрациклинов лежит в основе наиболее общей формы устойчивости к этим антибиотикам.

По антимикробному спектру действия *Sm* сходен с *Tc*. Он является ингибитором, влияющим на образование пептидной связи и транслокацию. *Sm* относится к лекарственным веществам, проникающим через цитоплазматическую мембрану путем пассивной диффузии. Для его перемещения через внешнюю мембрану грамотрицательных бактерий требуется нормальное функционирование комплекса пор.

По всей вероятности, полученные нами данные по *Tc* и *Sm*-чувствительности изученных клеток *E.coli* свидетельствуют о том, что механизм влияния *Tc* на биосинтез белка во всех типах одинаков, в то время как результаты действия *Sm* могут объясняться различным состоянием комплекса пор изученных штаммов *E.coli*.

Как явствует из табл. 1, различие в чувствительности бактерий к антибиотикам *Amp*, *Tc*, *Sm*, *Dc* и *Cf* может быть обусловлено составом и структурой клеточных оболочек. Механизмом этого может быть изменение транспортных реакций биомембран, зависящих от состава и состояния липидной фазы мембран. Возможно также, что на устойчивость бактерий к антибиотикам может оказывать влияние антирадикальная активность липидов.

Известно, что основную часть мембранных липидов составляют амфифильные ФА, а количество нейтральных липидов в клеточных мембранах незначительно.

В табл. 2 приведены данные по ФА спектру штаммов *E.coli*. Как явствует из таблицы, количество основного ФА граммотрицательных бактерий – фосфатидилэтаноламинов (ФЭ) у штаммов *E.coli*, характерных для нормальной микрофлоры человека, увеличивается.

Таблица 2

Состав фосфолипидов клеточных стенок и цитоплазматических мембран штаммов *E.coli*, выделенных от здоровых и больного раком людей

ФА	<i>E.coli</i> G35 № 59, от здорового человека	<i>E.coli</i> G35 № 60, от здорового человека	<i>E.coli</i> G35 № 61, от здорового человека	<i>E.coli</i> G35 от больного раком человека
Лизофосфатидилхлориды (182)	1.4	1.5	1.4	2.5
Сфингомиелины (183)	2.5	2.7	2.6	4.6
Фосфатидилсерин (183)	8.1	5.4	6.7	11.6
Фосфатидилинозиты (258)	16.11	7.8	8.1	9.1
Фосфатидилхолин (182)	10.7	25.9	20.3	8.3
Фосфатидилэтаноламины (129)	25.5	30.5	27	35.7
Фосфатидилглицерин (170)	22.0	15.5	23.3	16.8
Кардиолипиды (220)	13.7	10.7	10.2	11.4

Известно, что при $pH 7.0$ молекулы ФЭ являются цвиттерионами с общим зарядом, равным нулю. В то же время ФЭ является основным ФА, обеспечивающим высокую устойчивость мембран граммотрицательных бактерий к Ca^{++} и другим полиионам [3]. Следовательно, можно полагать, что мембраны клеток больных раком людей должны обладать несколько более высокой устойчивостью к поливалентным ионам, чем мембраны клеток *E.coli*, полученных от здоровых людей. Это, несомненно, может влиять на антибиотикочувствительность клеток *E.coli*. С другой стороны, результаты экспериментов свидетельствуют об изменении количества фосфатидилхолинов (ФХ) в бактериях в зависимости от физиологического состояния человека (табл. 2). Изменение процентного содержания ФХ в *E.coli* приводит к изменению вязкоэластичных свойств клеточных стенок *E.coli*.

В мембранах *E.coli* от больного человека изменяется количество кислых ФА – фосфатидилсерин и фосфатидилинозитолов (табл. 2). В результате в клеточных стенках *E.coli*, характерных для больного раком человека, изменяется средний отрицательный заряд молекул ФА.

Все вышеуказанные особенности в фосфолипидных спектрах штаммов *E.coli* свидетельствуют об изменении физико-химических характеристик клеточных стенок *E.coli* в зависимости от состояния хозяина. Эти изменения, по всей вероятности, играют невторостепенную роль в определении антибиотикорезистентности штаммов *E.coli*.

Институт молекулярной биологии НАН РА

**Մ. Օ. Սահակյան, Ա. Ա. Շահինյան, Ա. Զ. Փեփոյան,
ակադեմիկոս Կ. Գ. Ղարազյոզյան**

**Մարդու աղիքային միկրոֆլորայի *Escherichia coli* շտամների
հակաբիոտիկակայունության որոշ տեսանկյուններ**

Ուսումնասիրվել է մարդու նորմալ աղիքային միկրոֆլորայի ներկայացուցիչներ *Escherichia coli* G35 N 59,60,61 շտամների և օնկոլոգիական հիվանդների միկրոֆլորայում գերակշռող *Escherichia coli* շտամի զգայունությունը *Tc*-ի, *Amp*-ի, *Pn*-ի, *Cm*-ի, *Cf* և *Dc* նկատմամբ:

Պարզվել է, որ ի տարբերություն նորմալ միկրոֆլորային բնորոշ շտամների, հիվանդ մարդուն բնորոշ *Escherichia coli* շտամը *Amp* և *Cm* հակաբիոտիկների նկատմամբ ցուցաբերում է կայունություն:

Բացահայտվել է, որ միկրոֆլորայի *Escherichia coli* G35 N 59, 60, 61 շտամները, չնայած նման են միմյանց *Amp*-ի և *Cm*-ի նկատմամբ զգայունությամբ, բայց տարբերվում են *Dc*-ի և *Cf*-ի նկատմամբ ցուցաբերած զգայունությամբ:

Ուսումնասիրվող *Escherichia coli* շտամներում ֆոսֆոլիպիդային կազմի բացահայտումը թույլ է տալիս եզրակացնելու, որ հակաբիոտիկների նկատմամբ հետազոտվող բակտերիալ շտամների առանձնահատկությունները որոշակիորեն կարող են պայմանավորված լինել ֆոսֆոլիպիդային սպեկտրում նկատվող փոփոխություններով:

Литература

1. Пепоян А. З., Осипян Л. Н., Овеян А. Г. и др. - Биохимия. 1993. Т. 58. С. 1881-1885.
2. Yokota T. – Nippon. Rinsho. 1997. V. 55. P. 1155-1160.
3. Ивков В. Г., Берестовский В. Н. - Липидный бислой биологических мембран. М. Наука, 1982. 224 с.