УДК 579.262:57.02

РОЛЬ ДИСТАНТНОГО ЗВ'ЯЗКУ У МІЖКЛІТИННИХ ВЗАЄМОДІЯХ

ВодяникА.А., Берлінець Б.В.

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ, Україна

Ключові слова: *антибіотикорезистентність, дистантний фізичний зв'язок.*

Вступ. Еволюція прокаріотів відбувалася шляхом формування гомогенних багатоклітинних систем - популяцій, в яких диференційовані та спеціалізовані клітини є повністю розділені у просторі, а тимчасове узгодження їх функцій і взаємодій забезпечувалося гуморальними та фізико-хімічними механізмами. Саме таке розмежування в просторі бактеріальних клітин робить їх надзвичайно витривалими в екстремальних умовах, а скоординований зв'язок забезпечує цілеспрямований розвиток бактерій [5].

На даний момент великої соціальної та медичної значущості набула проблема госпітальних інфекцій, що пов'язано з появою антибіотикорезистентних штамів умовно-патогенних мікроорганізмів. Головною причиною набуття антибіотикорезистентності, на думку дослідників, є безконтрольне та нераціональне застосуванням антибіотиків [2].

Залишається актуальним питання щодо лікування хронічних інфекційних захворювань шлунково-кишкового тракту, дихальних шляхів та ін. Втрату чутливості до антибіотиків у бактерій в таких випадках вчені пов'язують з формуванням біоплівок. Для досягнення діючої концентрації антибіотика у глибоких шарах біоплівки потрібно збільшення концентрації хіміопрепарату у сотні разів, що не можливо у терапевтичній практиці [1].

В науковій літературі існують дані про можливість зниження чутливості до антибіотиків у різних культур бактерій завдяки, виключно, дистантній міжклітинній комунікації [6,7].

Мета дослідження. З'ясування ролі дистантного зв'язку у формуванні резистентності до антибіотиків у прокаріотичних клітинах.

Матеріали і методи

Для експерименту обрано музейну культуру E.coїі K12. Визначено чутливість даної культури до хлорамфенікола методом ДИСКІВ та відібрано два штами, що відрізнялися вихідною чутливістю до антибіотика (штам А та В). Бактерії штаму А культивували на м'ясо-пептонному бульйоні з використанням пробірок з кварцового скла (пробірки №1 та №2). До пробірки №1, окрім культури, було додано 100 мг хлорамфенікола та проведено інкубацію у термостаті протягом трьох діб, так щоб пробірки №1 та №2 з бактеріями штаму А були у безпосередній близькості одна до одної. Через 3 доби визначено чутливість культури бактерій з пробірки №2 методом дисків та зроблено пересів даної культури до пробірки №1 з подальшим інкубуванням. Дослід повторювали 6 разів, так що загальний час перебування пробірок у термостаті склав 18 діб. З бактеріями штаму В проводили аналогічні досліди, але ріст культури відбувався у скляних пробірках.

Результати і обговорення.

При визначенні чутливості до хлорамфенікола у культури бактерій E.coїі K12 штам А зона затримки росту склала 21 міліметр (рис 1), що дає підставу вважати даний штам чутливим до антибіотика. Після вирощування культури на МПБ з використанням кварцових пробірок №1 та № 2 протягом трьох діб ріст у пробірці №1, що містила 100мг хроламфенікола, був відсутнім. У культури, що перебувала у пробірці №2, і не мала контакту з антибіотиком, визначено зону затримки росту (ЗЗР) методом стандартних

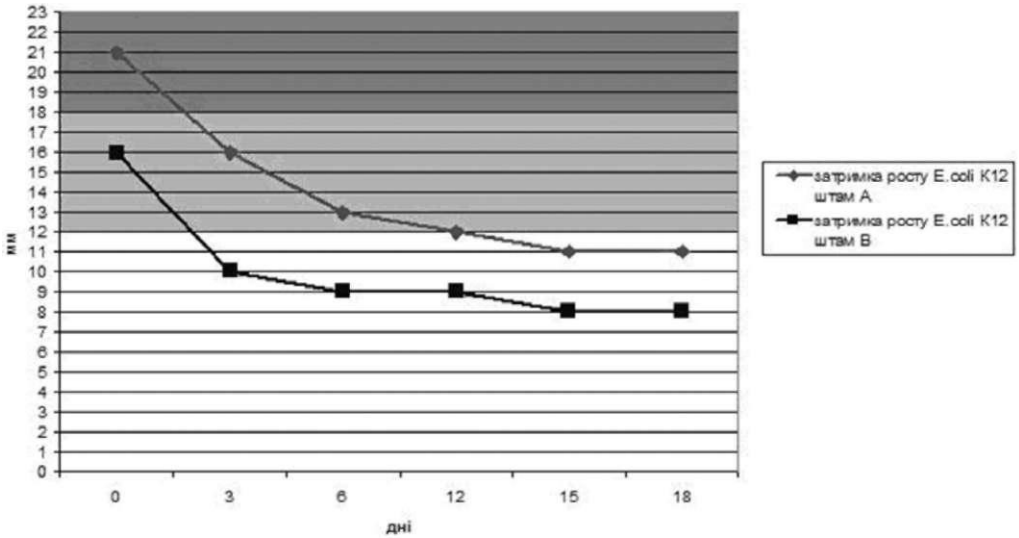


Рис. 1. Зміна чутливості культури E.coli K12 до хлорамфенікола.

Затримка росту менше 12 мм - культура не чутлива до антибіотика; 12-18 мм - помірно чутлива; більше 18 - чутлива до антибіотика.

У відповідності з Performance Standarts for Antimicrobial Disk Suspectibility Tests, CLSI

дисків, яка склала 16мм. Таким чином, за перші три доби експерименту ЗЗР зменшилася на 24%. В подальшому бактерій зі зміненою чутливістю було пересіяно на МПБ з додаванням 100 мг хлорамфенікола - пробірка №1 та на МПБ - пробірка №2. На 18 добу експерименту у бактерій, що не мали контакту з антибіотиком, ЗЗР склала 11мм, це становить 52% від початкової величини. Відомо, що культура бактерій з ЗЗР менше 12 мм вважається нечутливою до антибіотика.

Крім того аналогічні досліди проводилися з бактеріями Е.соїі К12 штам В. Початкова ЗЗР склала 16мм, тому культуру бактерій можна вважати помірно чутливою до антибіотика. Експеримент з штамом В проводився у скляних пробірках, однак динаміка зменшення ЗЗР була схожою на бактерій штаму А. Відмічено зменшення зони затримки росту на 3 добу на 38%, загальне зменшення ЗЗР на 18 добу -складає 50% від початкової затримки (рис 2).

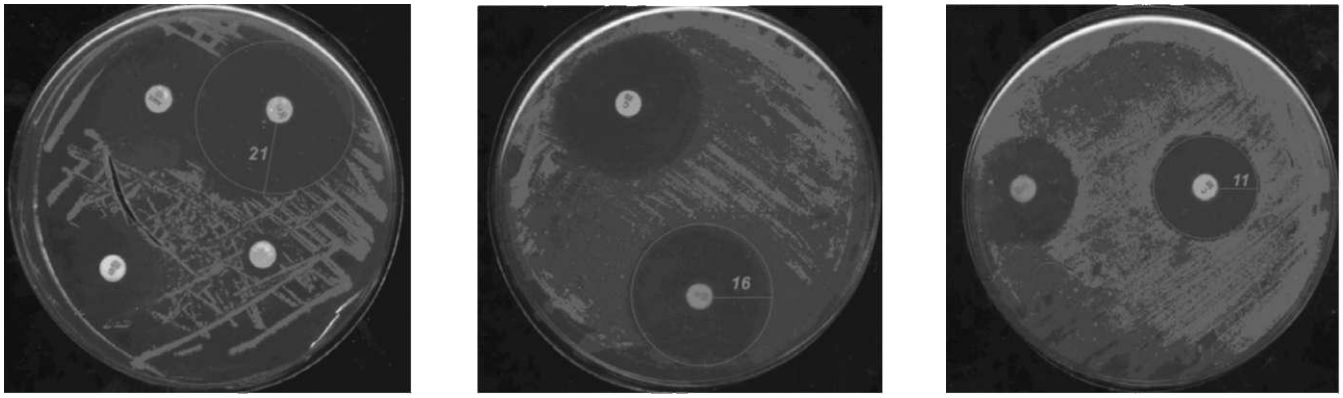
Також були відзначені зміни у культурі бактерій при мікроскопічному вивченні: бактерії формували "ланцюги", що складалися з декількох клітин. На 12 добу експерименту виявлено "ланцюги" з 10-15 клітин (рис 3).

Висновки

Встановлено, що культура Е.соїі К12, яка була раніше чутлива до хлорамфенікола, набуває резистентності до антибіотика протягом 18 діб не контактуючи з ним. Причиною набуття резистентності культури до антибіотика можна вважати вплив фізичних факторів міжклітинної комунікації на бактерії.

Гіпотетично, до конкретних факторів фізичної комунікації між мікроорганізмами належать мітогенетичні промені Гурвіча, ультразвук [3]. Мітогенетичні промені - ультрафіолетове випромінювання малої інтенсивності, що продукується живими тканинами та стимулює поділ клітин. У ході експерименту встановлено, що фізичний дистантний зв'язок відбувається як через кварцове так і через звичайне скло. Оскільки мітогенетичні промені не можуть проникати через звичайне скло, можна вважати дані промені не основним чинником міжклітинної комунікації.

Крім того, мікроскопічно встановлено, що бактерії культури Е.соїі К12, протягом експерименту, починають інтенсивно агрегувати, що проявляється утворенням "ланцюгів", які складаються з 10-15 клітин. Наявність даних "ланцюгів" не характерна для вихідної культури E.coli K12.



B *C*

Рис. 2. Затримка росту Е.соїі К12 штам А. Антибіотик хлорамфенікол.
Затримка росту до експерименту (А); на 3 добу експерименту (В); на 15 добу (С)

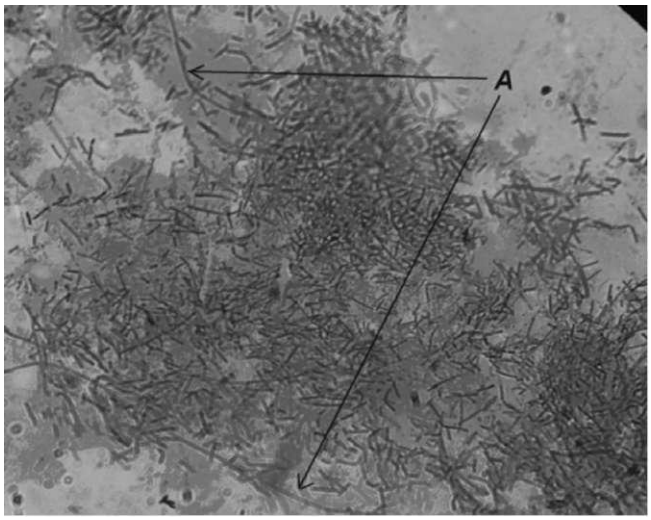


Рис. 3. Е.соїі К12 штам В, 12 доба експерименту. А - "ланцюги", які утворюються в культурі бактерій протягом експерименту.
Забарвлення за Грамом. Збільшення: окуляр 10, об'єктив 100

Необхідно визнати, що вивчення фізичних факторів дистантної комунікації мікробних клітин знаходиться на стадії початкового накопичення емпіричних даних [4]. Наразі точно відомо, що мікробіота це не набір видів, а динамічне середовище, яке визначають різні форми взаємодії між його складовими, можливо однією з них і є фізичний дистантний зв'язок роль якого допоки невідома.

Рецензент: академік НАН і НАМИ України, д.мед.н., професор Широбоков В.П.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія /[Адріанова Т.В., Бобир В.В., Виноград Н.О., Войцехівський В.Г.]; під ред. В.П. Широбокова - [2 вид.] - В. : Нова Книга, 2011. - 951 с.

2. Навашин С М. Рациональная антибиотикотерапия / Навашин С М., Фомина И. П. — М.: Медицина, 1982 — 496 с

3. Николаев Ю.А. Дистантные взаимодействия между клетками бактерий /Николаев Ю.А //Микробиология. - 1992. - Т. 61 - № 6. - С.1066-1071.

4. Колониальная организация и межклеточная коммуникация у микроорганизмов: (Биологический ф-т Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова) [Електроннийресурс] / А.В. Олескин, И.В. Ботвинко, Е.А. Цавкелова - 1999. - Режим доступу http://evolution.powernet.ru/library/colony.htm

5. Этология бактерий (Актоваяречь доктора медицинских наук, профессора Смирнова Станислава Григорьевича) [Електронний ресурс] / С.Г. Смирнов — Режим доступу http://liga-ivanovo.narod.ru/ethologia.htm.

6. Matsuhashi M. Bacillus carbonifillus cells respond to growth-promoting physical signals from cells of homologous and heterologous bacteria / Matsuhashi M., Pankrushina A. N., Endoh K., Watanabe H., Ohshima H., Tobi M., Endo S., Mano Y., Hyodo M., Kaneko T., Otani S., Yoshimura// J. Gen. Appl. Microbiol. — 1996. — V.42. — IP. 315-323.

7. Matsuhashi M. Cellular signals regulating antibiotic sensitivities of bacteria /Matsuhashi M. // Microbial Drug Res. — 1996. — V.2. — N. 1. — P.91-93.

РОЛЬ ДИСТАНТНОЙ СВЯЗИ В МЕЖКЛЕТОЧНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯХ

Водяник А.А., Берлинец Б.В.

Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, г. Киев, Украина

Резюме: Работа содержит экспериментальные данные о приобретении антибиотикорезистентности у музейной культуры Б.соИ К12 под влиянием дистантной физической связи. Культура бактерий теряет чувствительность к хлорамфениколу в течении 18 суток не имея непосредственного контакта с антибиотиком. Коротко приведены возможные механизмы межклеточной коммуникации. Описаны изменения в культуре прокариотических клеток на микроскопическом уровне, которые возникают у бактерий при их адаптации к действию антибиотика.

Ключевые слова: антибиотикорезистентность, дистантная физическая связь.

THE ROLE OF DISTANT COMMUNICATION IN INTERCELLULAR INTERACTIONS

Vodianyk A., Berlinets B.

National O.O. Bogomolets Medical University, Kyiv, Ukraine

Summary: The work includes the experimental data of the acquisition of antibiotic resistance in museum culture E.coli K12 under the influence of distant physical connection. Within 18 days, bacterial culture loses its sensitivity to chloramphenicol without having direct contact with the antibiotic. This article briefly reports possible mechanisms of intercellular communication. It describes the changes in the culture of prokaryotic cells on the microscopic level, which occur when bacteria adapt to antibiotics.

Key words: antibiotic resistance, distant physical connection.