

СПОСОБНОСТЬ АНАЭРОБНОЙ ФЕКАЛЬНОЙ МИКРОФЛОРЫ К ИНАКТИВАЦИИ АНТИМИКРОБНОГО БЕЛКА ТРОМБОЦИТОВ

Описано новое биологическое свойство анаэробных микроорганизмов фекальной флоры при дисбиозе кишечника, направленное на инактивацию одного из факторов неспецифической резистентности – антимикробного белка тромбоцитов (b-лизина). Выявлены межвидовые различия в распространенности и выраженности данного признака среди копроштаммов анаэробных бактерий различных групп. Указанное свойство рассматривается в качестве одного из механизмов адаптации неспорообразующих анаэробных микроорганизмов к защитным системам организма хозяина.

ВВЕДЕНИЕ

Известна важная роль анаэробной индигенной микрофлоры кишечника в обеспечении колонизационной резистентности биотопов пищеварительного тракта к заселению патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, продукции витаминов, биологически активных соединений, формировании иммунного гомеостаза, участии в метаболических и ферментативных процессах и др. [5]. С другой стороны, анаэробным микроорганизмам принадлежит ведущая этиологическая роль в развитии гнойно-воспалительных заболеваний различной локализации [4]. При этом, способность к заселению различных экологических ниш зависит от наличия у бактерий определенных механизмов, способствующих адаптации патогенов к защитно-регуляторным системам хозяина [2].

Одним из факторов сохранения и поддержания иммунного гомеостаза макроорганизма является антимикробный белок тромбоцитов, описанный ранее как β -лизин [7,14]. Показано иммуномодулирующее и микробицидное действие антимикробного белка тромбоцитов [7]. Установлено, что содержание антимикробного белка тромбоцитов в копрофильтрах повышается при инфекционно-воспалительных процессах кишечника [3]. Однако до настоящего времени открытым остается вопрос о механизмах адаптации индигенной и условно-патогенной анаэробной фекальной микрофлоры к бактерицидному действию антимикробного белка тромбоцитов. Решение данного вопроса, на наш взгляд, позволило бы установить новые механизмы длительного переживания анаэробных бактерий в биотопах кишечника.

В связи с этим, целью настоящего исследования явилось изучение способности неспорообразующих анаэробных микроорганизмов фекальной флоры к угнетению бактерицидного действия антимикробного белка тромбоцитов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы 87 штаммов неспорообразующих анаэробных микроорганизмов, выделенных от больных с дисбиозом кишечника: 35 штаммов *Bifidobacterium longum*, 21 штамм *Actinomyces israelii*, 21 штамм *Bacteroides* группы *fragilis* (14 штаммов *B.distasonis*, 4 штамма *B.fragilis*, 3 штамма *B.vulgatus*), 6 штаммов *Eubacterium lentum*, 4 штамма *Prevotella oralis*.

Состояние микробиоценоза кишечника оценивали по микрофлоре фекалий в соответствии с методическими рекомендациями [6]. Анаэробные микроорганизмы выделяли в анаэробной камере «GasPak150» (BBL, США) на Shaedler-agar (BBL, США) с добавлением 5% взвеси бараньих эритроцитов при 37°C в течение 2-7 суток. Биохимический профиль выделенных микроорганизмов оценивали с помощью коммерческих тест-систем «Anaerotest» фирмы LACHEMA (Чехия). Видовую принадлежность устанавливали по Определителю бактерий Bergey's [8].

Антимикробный белок тромбоцитов – тромбоцитарный катионный белок (ТКБ) – получали по описанной методике [7]. Способность анаэробных микроорганизмов к инактивации бактерицидного действия антимикробного белка тромбоцитов тестировали по проективному действию экзометаболитов анаэробных бактерий по отношению к тест-штамму *Bacillus subtilis* ATCC 6633 в присутствии ТКБ в соответствии с разработанным нами методом [1].

Результаты обрабатывали статистически [10].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведенные исследования показали, что способность к угнетению бактерицидного действия ТКБ широко представлена среди фекальных штаммов анаэробных микроорганизмов различных групп (рис.1). Указанный признак

более часто встречался среди грампозитивных бактерий, представленных родами *Vifidobacterium*, *Eubacterium* и *Actinomyces*, тогда как среди грамотрицательных анаэробных микроорганизмов способность к инактивации ТКБ была зарегистрирована лишь у 66,7% бактероидов, и ни у одного из фекальных изолятов *R.oralis* данное свойство не было обнаружено.

При анализе степени выраженности угнетения бактерицидного действия ТКБ экзометаболитами анаэробных бактерий были выявлены существенные различия среди микроорганизмов различных таксонов (рис.2). Минимальные уровни признака были выявлены среди копроизолятов *E.lentum* ($3,94 \pm 0,9\%$). У штаммов *B.longum* и *A.israelii* характер распределения активности ингибиторов ТКБ был примерно одинаков. В то же максимально выраженная способность к инактивации ТКБ наблюдалась у штаммов бактероидов группы *фрагилис* $26,8 \pm 9,5\%$ ($p < 0,05$).

Проведенный анализ не выявил связи между способностью фекальных штаммов анаэробных микроорганизмов к продукции ингибиторов ТКБ и наличием у копроизолятов антилизоцимной активности.

ОБСУЖДЕНИЕ

Как видно из представленных результатов, способность к инактивации бактерицидного действия антимикробного белка тромбоцитов широко представлена среди копроизолятов анаэробных микроорганизмов различных таксонов. По всей видимости, данное свойство индуцируется у анаэробных микроорганизмов продуктами экзокриноцитов и других тканевых структур кишечника [13]. Существование подобных адаптационных

механизмов по отношению к антимикробному прессингу важно не только для патогенов, но и для представителей индигенной анаэробной микрофлоры, поскольку ранее было показано бактерицидное действие протегринов в отношении широкой группы анаэробных микроорганизмов [12].

В то же время нами были выявлены существенные различия среди различных представителей анаэробной микрофлоры фекалий по степени выраженности продукции ингибиторов ТКБ. Факт обнаружения у бактероидов группы *фрагилис* средних и высоких значений способности к инактивации ТКБ указывает на существенную патогенетическую роль данной группы микроорганизмов в развитии не только гнойно-воспалительных заболеваний [4], но и, возможно, дисбиотических состояний. Деградация антимикробного белка тромбоцитов экзометаболитами бактероидов может носить эволюционно сложившийся характер, поскольку структурные компоненты клеточной стенки бактероидов участвуют в активации фактора Хагемана [9], способствуя агрегации тромбоцитов [14], результатом которой является высвобождение антимикробных катионных белков из α -гранул тромбоцитов [14], вследствие чего содержание ТКБ в очаге воспаления резко повышается [3, 7]. С другой стороны, не исключено, что выявленные различия в степени выраженности способности анаэробных бактерий к инактивации ТКБ являются экологически детерминированными, и, следовательно, могут быть использованы для дифференциации копроизолятов анаэробных микроорганизмов на нормо- и патоварианты наряду с другими описанными факторами вирулентности анаэробных бактерий [11].

Список использованной литературы:

1. Бухарин О.В., Сулейманов К.Г., Иванов Ю.Б. и др. Способ определения антитромбоцитарной катионно-белковой активности микроорганизмов. Патент РФ № 2120999. Бюлл. № 30, 27.10.1998.
2. Бухарин О.В. Персистенция патогенных бактерий. М.: Медицина, 1999.
3. Бухарин О.В., Каган Ю.Д., Бурмистрова А.Л. Сальмонеллы и сальмонеллезы. Екатеринбург: УрО РАН, 2000.
4. Кулешов С.Е. Диагностика и лечение анаэробной неклостридиальной инфекции мягких тканей: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. Москва. 1989.
5. Петровская В.Г., Марко О.В. Микрофлора человека в норме и патологии. М.: Медицина, 1976.
6. Применение бактериальных биологических препаратов в практике лечения больных кишечными инфекциями. Диагностика и лечение дисбактериоза кишечника. Метод. рекомендации. М. 1986.
7. Сулейманов К.Г. Роль бактерицидного тромбоцитарного катионного белка (ТКБ) в инфекционной патологии и гомеостазе: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. Челябинск. 1998.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант №04-04-97508).