

Кучма І.Ю., Лебедева Н.Ю., Волянська Н.П., Поліщук Н.М., Супрун Е.В.
ІМУНОМОДУЛЮЮЧІ ВЛАСТИВОСТІ ЛІПОПОЛІСАХАРИДІВ BACILLUS ALVEI

Харківська медична академія післядипломної освіти, Донецький державний медичний університет,
Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України, Запорізька обласна СЕС

ІМУНОМОДУЛЮЮЧІ ВЛАСТИВОСТІ ЛІПОПОЛІСАХАРИДІВ BACILLUS ALVEI – Наведено результати вивчення *in vitro* впливу ліпополісахаридів *Bacillus alvei* на функціональну активність макрофагів і їх гематогенних попередників. Встановлено, що бактеріальні ліпополісахариди виявляють дозозалежну стимулюючу дію на трансформаційну та фагоцитарну активність макрофагів і їх мононуклеарних попередників. Результати досліджень підтверджують перспективу використання ліпополісахаридів *Bacillus alvei* з метою корекції імунопатологічних станів.

ИМУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ BACILLUS ALVEI – Представлены результаты изучения *in vitro* влияния липополисахаридов *Bacillus alvei* на функциональную активность макрофагов и их гематогенных предшественников. Установлено, что бактериальные липополисахариды проявляют дозозависимое стимулирующее действие на трансформационную и фагоцитарную активность макрофагов и их мононуклеарных предшественников. Результаты исследований подтверждают перспективу использования липополисахаридов *Bacillus alvei* для иммунокоррекции.

IMMUNOMODULATION PROPERTIES OF LIPOPOLYSACCHARIDES FROM BACILLUS ALVEI – The results of study *in vitro* of influence of lipopolysaccharides from *Bacillus alvei* on functional activity of macrophages and their predecessors are submitted. The immunomodulating peculiarities of lipopolysaccharides from 3 strains of *Bacillus alvei* have been studied. The results of researches confirm the prospect of use of lipopolysaccharides from *Bacillus alvei* for immunomodulation.

Ключові слова: бактеріальні ліпополісахариди, імуномодуляція, імунокорекція, імунокомпетентні клітини, *Bacillus alvei*.

Ключевые слова: бактериальные липополисахариды, иммуномодуляция, иммунокоррекция, иммунокомпетентные клетки, *Bacillus alvei*.

Key words: lipopolysaccharides from *Bacillus alvei*, immunomodulation, immunocompetent cells, *Bacillus alvei*.

ВСТУП У зв'язку з погіршенням стану навколишнього середовища та соціальних умов життя населення в останні роки збільшується вплив негативних факторів на здоров'я людей і адаптаційні системи організму. Вплив комплексу несприятливих факторів на організм призводить до зниження рівня функціональної активності імунокомпетентних клітин системи мононуклеарних фагоцитів, Т- і В - лімфоцитів, що зумовлює зміну імунологічної реактивності організму та викликає, зрештою, розвиток вторинних імунодефіцитів.

Отже, особливої актуальності набуває проблема пошуку препаратів, які мають позитивну імуномодулюючу активність.

Одними з найдієвіших в арсеналі імуностимулюючих препаратів є бактеріальні ліпополісахариди. У клінічній імунології в останні десятиріччя широко використовуються продигіозан (з *Bact. Prodigiosum*), пірогенал (з *Ps. Aeruginosa*) і сальмозан (з бактерій групи *Salmonella*). Ці препарати застосовують як стимулюючі засоби для неспецифічної профілактики та комплексної терапії захворювань, що супроводжуються зниженням імунологічної реактивності організму. Однак в останні роки їх виробництво та застосування значно скоротилося, насамперед, через високу реактогенність. Остання зумовлена тим, що продигіозан, пірогенал і сальмозан отримано з умовно патогенних мікроорганізмів, до антигенів яких імунна система сенсибілізується вже у ранньому постнатальному періоді, тому на введення навіть невеликої дози ліпополісахариду організм, як правило, відповідає реакцією гіперчутливості негайного типу [1, 2, 4].

У зв'язку з цим для розробки імуностимулюючих препаратів особливий інтерес становлять спороутворюючі аеробні мікроорганізми – бацили. Це пов'язано з рядом переваг останніх над іншими бактеріями: високою енергією росту; різноманітною ферментативною активністю; продукцією біологічно активних речовин.

Метою дослідження є вивчення імуномодулюючої дії ліпополісахаридів, вилучених з 3-х штамів *Bacillus alvei*, на трансформаційну і функціональну активність макрофагів і їх гематогенних попередників.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Бактеріальні ліпополісахариди з штамів *Bacillus alvei* виділяли методом лужного термогідролізу [3].

Імуномодулюючу дію ліпополісахаридів (ЛПС-1, ЛПС-2, ЛПС-3) вивчали *in vitro* в реакції макрофагальної трансформації мононуклеарів периферичної крові [5].

Первинні культури імунокомпетентних клітин одержували з гепаринізованої крові донорів шляхом відстоювання при температурі 4-8°C. Мононуклеарні клітини крові культивували в середовищі 199 з 10% фетальної сироватки. До живильного середовища додавали по 100 ОД/см³ натрієвої солі бензилпеніциліну та стрептоміцину, а також амфотерицин В.

Ліпополісахариди вносили до первинних культур імунокомпетентних клітин у кількості 5 мкг/см³, 50 мкг/см³ і 100 мкг/см³ та інкубували при 37°C протягом 23 годин. З метою оцінки фагоцитарної активності макрофагів і їх попередників через 23 години культивування в культуру вносили референтний штам *Staphylococcus aureus*-209P, інактивований прогріванням.

Оцінку імуномодулюючої дії бактеріальних ліпополісахаридів на імунокомпетентні клітини проводили за наступними показниками:

- ПМТМ - показник макрофагальної трансформації мононуклеарів;
- фагоцитарний індекс (ФІ);
- фагоцитарне число.

Контроль включав постановку реакції макрофагальної трансформації мононуклеарів периферичної крові без додавання бактеріальних ліпополісахаридів.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ При введенні ліпополісахаридів з різних штамів *Bacillus alvei* в культури гематогенних попередників макрофагів не спостерігали різниці у ступені та механізмі їх дії на імунокомпетентні клітини периферичної крові. При внесенні ЛПС-1 до первинної культури імунокомпетентних клітин в дозі 5 мкг/мл відзначене підвищення трансформаційної активності мононуклеарів периферичної крові на 53 %, фагоцитарного індексу – на 26 %, фагоцитарного числа – на 42 %, порівняно з інтактним контролем. ЛПС-2, використаний у тій же дозі, збільшив трансформаційну активність мононуклеарів на 44 %, фагоцитарний індекс – на 16 % і фагоцитарне число – на 47 %. ЛПС-3 підвищив ПМТМ на 31 %, фагоцитарний індекс – на 31 %, фагоцитарне число – 34 %.

Збільшення дози ліпополісахаридів до 50 мкг/мл призвело до більш вираженої стимуляції трансформаційної і фагоцитарної активності макрофагів і їх попередників. Так, ЛПС-1 збільшив трансформаційну активність мононуклеарів на 80 %, фагоцитарний індекс – на 42 %, фагоцитарне число – на 68 % порівняно з контролем. З використанням ЛПС-2 ПМТМ збільшився на 66 %, фагоцитарний індекс – на 38 %, фагоцитарне число на – 58 %; ЛПС-3 збільшив трансформаційну активність на 60 %, фагоцитарний індекс – на 45 % і фагоцитарне число – на 55 %.

При використанні ліпополісахаридів в дозі 100 мкг/см³ була відзначена максимальна стимуляція функціональної активності імунокомпетентних клітин. Так, ЛПС-1 збільшив трансформаційну активність мононуклеарів на 92 %, фагоцитарний індекс – на 51 % і фагоцитарне число – на 79 % порівняно з контролем. ЛПС-2 і ЛПС-3 підвищили транс-

Таблиця Вплив ліпополісахаридів з *Bacillus alvei* на показники макрофагальної трансформації й фагоцитарної активності гематогенних попередників макрофагів

Ліпополісахариди	Концентрація ЛПС мкг/мл	ПМТМ, (%)	Фагоцитарний індекс, (%)	Фагоцитарне число
ЛПС-1	5	49,8±4,6	58,6*±2,8	10,8±0,8
	50	58,8±3,8	65,8±3,6	12,8±1,0
	100	62,7±2,4	70,2±2,4	13,6±0,9
ЛПС-2	5	46,8±3,2	54,2±2,2	11,2±1,2
	50	54,0±2,6	64,2±2,6	12,0±0,7
	100	58,2±4,0	67,0±3,2	12,6±1,2
ЛПС-3	5	42,8±3,6	60,8±4,2	10,2±1,2
	50	52,0±4,2	67,4±2,4	11,8±0,8
	100	50,6±2,8	65,6±3,2	13,2±1,0
Контроль	-	32,6±3,4	46,4±2,8	7,6±0,6

Різниця достовірна відносно контролю, (p<0,05)

формаційну активність на 79 % і 55 %, фагоцитарний індекс – на 44 % і 41 %, а фагоцитарне число – на 66 % і 74 % відповідно.

З наведених даних випливає той факт, що всі ліпополісахариди мають дозозалежну стимулюючу дію на трансформаційну та фагоцитарну активність макрофагів і їх мононуклеарних попередників.

Порівняльна оцінка активності ліпополісахаридів з *Bacillus alvei* показала, що найбільш виражену імуномодулюючу дію, при використанні доз від 5 до 100 мкг/см³, має ЛПС-1. Цей факт пояснюється, можливо, розходженнями в полісахаридному складі біополімерів бацил.

У ході експериментів отримані непрямі дані, які вказують на відсутність у досліджуваних ліпополісахаридів токсичності відносно макрофагів і їх мононуклеарних попередників у дозовому діапазоні 5-100 мкг/см³.

Результати експериментів свідчать про наявність позитивної імуномодулюючої активності ліпополісахаридів *Bacillus alvei*, підтверджують перспективність їх використання у розробці нових засобів і принципів корекції імунодефіцитів.

ВИСНОВОК Бактеріальні ліпополісахариди, виділені зі штамів *Bacillus alvei*, мають виражену стимулюючу дію на трансформаційну активність імунокомпетентних клітин крові та підвищують їх функціональні характеристики. Встановлено, що найбільш виражену імуномодулюючу дію ЛПС-1 має в дозовому діапазоні від 5 до 100 мкг/см³.

Література

1. Иммуитет и его коррекция в ветеринарной медицине. Красочко П.А., Прудников В.С., Новиков О.Г. и др. / Под. ред. П.А. Красочко. – Смоленск, 2001. – 340 с.
2. Коваленко Е.О. Позаклітинні лектини бактерій роду *Bacillus*: Автореф. дис... д-ра біол. наук / Ін-т мікробіології і вірусології НАН України. – К., 1999. – 36 с.
3. Никитин В.М. Справочник методов иммунологии. – Кишинев: Штиинца, 1982. – 304 с.
4. Сорокоулова І.Б. Теоретичне обґрунтування і практика застосування бактерій роду *Bacillus* для конструювання нових пробіотиків: Автореф. дис... д-ра біол. наук / Ін-т мікробіології і вірусології НАН України. – К., 1999. – 37 с.
5. Kvatchoff V.G. Application de subculture de leucocytes en test-systeme d evaluation immunomodule de virus in vitro // Abstracts of IV International Congress Cell Biology. – Montreal (Canada). – 1988. – P. 205.

Кучма І.Ю., Лебедева Н.Ю., Іщенко Т.І., Волянська Н.П. СТУПІНЬ ВПЛИВУ α -ФЕРОЦЕНІЛВІСНИХ ГЕТЕРОЦИКЛІЧНИХ СПОЛУК НА ГЕМАТОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН

Інститут мікробіології і імунології ім. І.І. Мечникова АМН України, Донецький державний медичний університет ім. М. Горького

СТУПІНЬ ВПЛИВУ α -ФЕРОЦЕНІЛВІСНИХ ГЕТЕРОЦИКЛІЧНИХ СПОЛУК НА ГЕМАТОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН – Статтю присвячено дослідженню впливу α -фероценілвісних гетероциклічних сполук на показники функціонального стану еритроцитарної системи щурів. Доведено, що деякі з цих сполук з першого тижня використання виявляли ефект в дозі 100,0 мг/кг, а в дозах 200,0 і 400,0 мг/кг викликали найбільш виражену дію на кількість еритроцитів в сторону підвищення. В порівнянні з досліджуваними речовинами загальновідомий фероцерон вірогідно підвищував рівень еритроцитів тільки в дозах 200,0-400,0 мг/кг та тільки через три тижні щоденного введення. При цьому гетероциклічні сполуки та фероцерон суттєво не впливали на осмотичну резистентність еритроцитів, кольоровий показник та гематокрит.

СТЕПЕНЬ ВЛИЯНИЯ α -ФЕРОЦЕНИЛСОДЕРЖАЩИХ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ НА ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ – Статья посвящена изучению влияния α -фероценілвісних гетероциклічних сполук на показники функціонального стану еритроцитарної системи

лабораторных крыс. Доказано, что изучаемые соединения с первой недели применения проявили эффект в дозе 100,0 мг/кг, а в дозах 200,0 и 400,0 мг/кг эти соединения вызвали наиболее выраженное увеличение количества эритроцитов. В сравнении с изучаемыми соединениями известный препарат фероцерон вероятно повысил уровень эритроцитов только в дозах 200,-400,0 мг/кг и только через три недели ежедневного введения. При этом фероценілвісні гетероциклічні сполуки та фероцерон не влияли на осмотическую резистентность эритроцитов, цветовой показатель и гематокрит.

DEGREE OF THE INFLUENCE OF α -FERROCENILALKILATED HETEROCYCLIC COMPOUNDS ON HEMATOLOGIC INDEX OF THE EXPERIMENTAL ANIMALS – Article is devoted to examination of the influence of α -ferrocenilalkilated heterocyclic compounds on functional status of the erythrocyte system of rats. Tested substances raised the level of erythrocytes in dose 100,0 mg/kg during the first week. This compounds raised quantity of the rat erythrocytes in doses 200,0 and 400,0 mg/kg as most effective. Ferroceron raised the erythrocyte level only in doses 200,0-400,0 mg/kg and only after three weeks of using as compared with α -ferrocenilalkilated heterocyclic compounds. For all that tested