

# ИММУНОМОДУЛИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ ГЛИКОПРОТЕИНОВ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ ПЕКАРСКИХ ДРОЖЖЕЙ

Т.В. Рябцева<sup>1</sup>, Д.А. Макаревич<sup>2</sup>, Е.М. Ермола<sup>2</sup>

1 – Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь,

2 – Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь,

E-mail: Ta-yana@mail.ru

Проблема резистентности патогенных возбудителей к антибактериальным препаратам осознана международным медицинским сообществом в полной мере. В 2001 г. Всемирной Организацией Здравоохранения (ВОЗ) был принят и опубликован фундаментальный документ «Глобальная стратегия по сдерживанию антимикробной резистентности» [1].

Главные факторы, определяющие начало развития, варианты течения и исходы заболеваний, связанных с инфекцией, является состояние иммунологических сил организма. Определено полирезистентные к антибактериальным средствам штаммы возбудителей одновременно имеют повышенную устойчивость к действию факторов естественного иммунитета. Поэтому широко применяют средства, направленные на повышение общей резистентности организма. На сегодняшний день, средства, используемые в системе профилактики и терапии инфекционных заболеваний считаются основными для повышения естественного иммунитета и устойчивости организма к инфекции [2]. Таким образом, применение направленной иммуномодуляции в процессе терапии хронической рецидивирующей патологии может существенно снизить продолжительность и стоимость лечения пациентов.

Существует ряд препаратов иммуномодулирующего действия биологического происхождения, которые являются мощными активаторами иммунокомпетентных клеток (ИРС-19, пирогенал, рузам, бронхомунал, ридостин, ликопид, продигозан, рибомунил и др.). Однако есть определённые недостатки их использования: низкая концентрация препаратов в крови, недостаточное время полужизни соединений и различные побочные эффекты [3]. Для устранения недостатков была предложена возможность использования методик эfferентной терапии в качестве инструмента для иммунокоррекции ex vivo основанная на контактной активации клеток иммунной системы.

**Цель работы** – изучить влияние химической иммобилизации на способность активировать продукцию цитокинов клетками периферической крови человека гликопротеинами (ГП) клеточной стенки дрожжей.

**Материалы и методы.** Биологически активный лиганд получали из механически диспергированных пекарских дрожжей методами многократного центрифугирования, фильтрования и осаждения. Экспериментальные образцы с различной концентрацией иммуномодулирующего лиганда вводились в полимерную матрицу. Оценка иммуномодулирующей активности проводилась в условиях статического эксперимента. В качестве показателя активации иммунокомпетентных клеток оценивали концентрацию цитокинов: интерлейкин-6 (ИЛ-6), интерлейкин-8 (ИЛ-8) и фактор некроза опухоли-альфа (ФНО-α) произведенных активированными клетками. Статистическую обработку результатов проводили и использованием непараметрических методов.

**Химический синтез.** Ковалентную иммобилизацию гликопротеинов *Saccharomyces cerevisiae* проводили методом химического синтеза, в качестве полимерной матрицы использовали полиакриламидный гель.

**Исследование иммуномодулирующей активности в эксперименте.** Для исследования иммуномодулирующей активности гель с лигандом инкубировали с кровью условно здоровых доноров. По истечении времени инкубации отбирали пробы, центрифугировали и определяли изменение концентрации цитокинов в плазме методом иммуноферментного анализа. Результаты описывали в виде медианы и 25 и 75 процентилей.

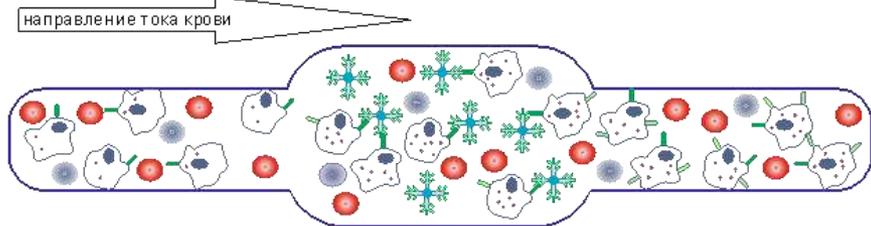
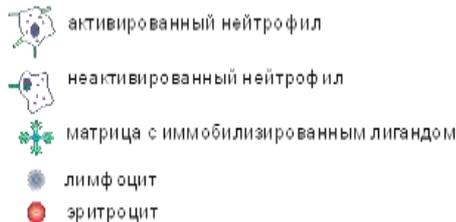
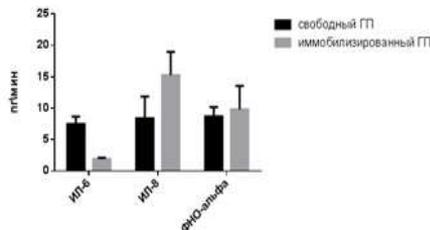


Рисунок 1. Скорость синтеза провоспалительных цитокинов клетками крови человека после контакта с иммобилизованным и свободным гликопротеином клеточной стенки дрожжей



Из полученных результатов следует, что

в свободной форме ГП стимулирует синтез цитокинов, который происходит в среднем со скоростью 8,39 (7,50;8,69) пг/мин. При иммобилизации ГП происходит изменение его активирующей способности. При контакте крови с иммобилизованным ГП скорость синтеза ИЛ-8 и ФНО-α увеличивается (Рисунок 1).

Значительный синтез (Рисунок 2) ИЛ-8 и ФНО-α под действием иммобилизованного ГП дрожжей наблюдается с 60й минуты эксперимента. Через 90 минут контакта происходит достоверное повышение концентрации ИЛ-8 с 3,95 (3,46;4,30) пг/мл до 161,92 (129,23;192,35) пг/мл. Через 120 минут эксперимента концентрация ИЛ-8 достигает 620,48 (545,96;730,98) пг/мл. Концентрация ФНО-альфа через 90 минут эксперимента составила 277,10 (273,69;332,25) пг/мл, через 120 минут – 682,38 (531,22;696,36) пг/мл. Дисперсионный анализ с помощью критерия Фридмана показал статистически значимые различия между группами с  $p \leq 0,003$ .

В данной работе показана возможность создания иммуномодулирующего устройства способного оказывать иммуномодулирующее действие. Суть разработки состоит в подаче активирующего сигнала иммунокомпетентным клеткам при прохождении их через массообменное устройство, содержащее селективный лиганд ковалентно иммобилизованный на полимерной матрице.

Данная разработка может быть использована для активации нейтрофилов крови через альтернативный путь активации – Toll-like, NOD рецепторы. На этой основе предложен «Способ коррекции функциональной активности лейкоцитов у пациента со вторичным иммунодефицитом различной этиологии» (Патент на изобретение: Способ коррекции функциональной активности лейкоцитов крови у пациента с вторичным иммунодефицитом № 21990 от 30.06.2018). Последующая регистрация изделия медицинского назначения, позволит его использовать в качестве иммуномодулирующего устройства для применения в различных медицинских учреждениях.

**Выводы:** Иммобилизация гликопротеинов клеточной стенки дрожжей позволяют сохранить все иммуномодулирующие свойства. Контакт иммобилизованного гликопротеина с периферической кровью человека приводит к активации синтеза провоспалительных цитокинов клетками крови.

## Литература

- [1] Глобальная стратегия ВОЗ по сдерживанию устойчивости к антимикробным средствам, Женева, Всемирная организация здравоохранения, 2001 [http://whqlibdoc.who.int/hq/2001/WHO\\_CDS\\_CSR\\_DRS\\_2001.2a\\_rus.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/2001/WHO_CDS_CSR_DRS_2001.2a_rus.pdf)
- [2] Ланчини Д., Паренти Ф. Антибиотики. Пер. с англ. — М.: Мир, 1985. — 272 с.
- [3] Доценко Э.А., Рожественский Д.А., Юлатов Г.И. Иммунодефициты и некоторые иммуномодулирующие средства / Вестник ВГМУ, 2014, Т.13, №3, с.103-120

Рисунок 2. Сравнительный анализ динамики синтеза провоспалительных цитокинов клетками крови человека после контакта с иммобилизованным и свободным гликопротеином клеточной стенки дрожжей

