

УДК:615.331:615.37

**ІМУНОМОДУЛЮЮЧА ДІЯ ЛІПОПОЛІСАХАРИДІВ *BACILLUS ALVEI*  
Волянський А.Ю.**

ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України»

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 до розвитку 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 *P. 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 їх високу реактогенність. Остання зумовлена тим, що продигіозан, пірогенал і сальмозан отримано з умовно патогенних мікроорганізмів, до антигенів яких імунна система сенсibiliзується вже на ранньому постнатальному періоді, тому на введення навіть невеликої дози ліпополісахариду організм, як правило, відповідає реакцією гіперчутливості негайного типу (Красочко П.А., Прудников В.С., Новиков О.Г., 2001).

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, що були виділені 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 за В.М. Нікітіним (1982).

Імуномодулюючу дію ліпополісахаридів (ЛПС-1, ЛПС-2, ЛПС-3) вивчали *in vitro* в реакції

макрофагальної трансформації мононуклеарів периферичної крові (Kvatchoff V.G., 1988).

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

Ліпополісахариди вносили до первинних культур імунокомпетентних клітин у кількості 5 мкг/см<sup>3</sup>, 50 мкг/см<sup>3</sup> і 100 мкг/см<sup>3</sup> та інкубували при 37 °С протягом 23 годин. З метою оцінки фагоцитарної активності макрофагів і їх попередників через 23 години культивування в культуру вносили референтний штам *Staphylococcus aureus*-209Р, 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 механізмі їх дії на імунокомпетентні клітини периферичної крові.

Наведені в таблиці результати свідчать про те, що ліпополісахариди, виділені з різних штамів *Bacillus alvei*, значною мірою стимулюють трансформаційну та фагоцитарну активність мононуклеарних клітин периферичної крові.

При внесенні ЛПС-1 до первинної культури імунокомпетентних клітин в дозі 5 мкг/мл відзначено 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 - на 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%.

**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		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, ( $p \leq 0,05$ )

При використанні ліпополісахаридів в дозі 100 мкг/см<sup>3</sup> була відзначена максимальна стимуляція функціональної активності імункомпетентних клітин.

Так, ЛПС-1 збільшив трансформаційну активність мононуклеарів на 92%, фагоцитарний індекс - на 51% і фагоцитарне число - на 79% у порівнянні з контролем. ЛПС-2 і ЛПС-3 підвищили трансформаційну 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/см<sup>3</sup>, 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/см<sup>3</sup>.

Одержані дані про наявність позитивної імуномодулюючої активності ліпополісахаридів *Bacillus alvei* підтверджують перспективність їх використання у розробці нових засобів і принципів корекції імунодефіцитів.

**Висновки.** Бактеріальні ліпополісахариди, виділені зі штамів *Bacillus alvei*, мають виражену стимулюючу дію на трансформаційну активність імункомпетентних клітин крові та підвищують їх функціональні характеристики. Встановлено, що найбільш виражену імуномодулюючу дію ЛПС-1 має в дозовому діапазоні від 5 до 100 мкг/см<sup>3</sup>.

#### Список літератури

1. Иммунитет и его коррекция в ветеринарной медицине / Красочко П. А., Прудников В. С., Новиков О. Г. и др. // Научн. ред. д-р вет. наук, проф. П. А. Красочко. – Смоленск, 2001. – 340 с.
2. Никитин В. М. Справочник методов иммунологии / В. М. Никитин - Кишинев: Штинца, 1982. - 304 с.
3. Kvatchoff V. G. Application de subculture de leucocytes en test-systeme d'evaluation immunomodule de vims in vitro / V. G. Kvatchoff // Abstracts of iV International Congress Cell Biology. - Montreal (Canada), 1988. - P. 205.

УДК:615.331:615.37

#### ІМУНОМОДУЛЮЮЧА ДІЯ ЛІПОПОЛІСАХАРИДІВ *BACILLUS ALVEI* Волянський А.Ю.

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.

Ключові слова: бактеріальні ліпополісахариди, імуномодуляція, імуококорекція, імункомпетентні клітини, *Bacillus alvei*.

УДК:615.331:615.37

#### ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ *BACILLUS ALVEI* Волянский А. Ю.

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.

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

**UDC:615.331:615.37**

**IMMUNOMODULATION ACTION OF LIPOPOLYSACCHARIDES FROM BACILLUS ALVEI**

**Volaynskiy A.U.**

The results of study in vitro of influence lipopolysaccharides from *Bacillus alvei* on functional activity 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 prospect of use lipopolysaccharide.. from *Bacillus alvei* for immunomodulation.

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