

ЗАКОНОМЕРНОСТИ ПРОДУКЦИИ ИНТЕРЛЕЙКИНА-8 КЛЕТКАМИ КРОВИ В ОТВЕТ НА СТИМУЛЯЦИЮ ИММОБИЛИЗОВАННЫМИ АНТИГЕНАМИ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

¹Рябцева Т. В., *ta-yana@mail.ru*,

¹Макаревич Д. А., *demkarevich@yandex.ru*,

²Лобачева Г. А., *galina-lga@mail.ru*,

²Дусь Д. Д., *dmitrydus@yandex.ru*

¹Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь,

²Государственное учреждение «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии», г. Минск, Республика Беларусь

Несмотря на принимаемые меры, перед международным медицинским сообществом проблема резистентности патогенных возбудителей к антибактериальным препаратам остается актуальной. Частота обнаружения пенициллиноустойчивых стафилококков достигает 80–90 %, стрептомицин устойчивых – 60–70 %. Данная устойчивость возбудителей к лечебным препаратам приводит к резкому снижению эффективности антимикробной терапии. Главным фактором, определяющим начало развития, варианты течения и исходы заболеваний, связанных с инфекцией, является состояние иммунологических сил организма. Поэтому в первую очередь необходимо применение средств, направленных на повышение общей резистентности организма [1].

Применение существующих препаратов иммуномодулирующего действия биологического происхождения, которые являются мощными активаторами иммунокомпетентных клеток (ИРС-19, пирогенал, рузам, бронхомунал, ридостин, ликопид, продигозан, рибомунил и др.) характеризуется определенными недостатками: низкая концентрация препаратов в крови, недостаточное время полужизни соединений и развитие аллергических и других побочных эффектов [2].

Актуальным является поиск средств профилактики и терапии заболеваний человека на основе клеточных и нанотехнологий, поэтому в данной работе исследовали возможность использования иммобилизованных антигенов дрожжевых клеток для стимуляции иммунокомпетентных клеток с целью дальнейшего применения полученных данных в разработке изделий медицинского назначения, способных стимулировать резистентность организма к инфекционным заболеваниям.

Для выделения гликопротеинов (далее – ГП) из клеточной стенки *Saccharomyces cerevisiae* применяли механический способ разрушения клеточной стенки с дальнейшим центрифугированием, осаждением и фильтрованием белковой фракции [3]. В надосадочной жидкости проводили качественные реакции на наличие пептидной связи и содержание углеводов.

В качестве носителя для иммобилизации использовали полиакриламидный гель. Иммобилизацию проводили путем введения лиганда в смесь в процессе полимеризации геля. Для исследования активирующей способности иммобилизованных ГП дрожжей использовали гепаринизированную кровь из периферической вены. Критерий активации иммунокомпетентных клеток – синтез провоспалительного цитокина интерлейкин-8 (далее – ИЛ-8).

Было проведено семь динамических экспериментов, в которых проводили моделирование проведения процедуры эфферентной гемокоррекции. Данная модификация эксперимента заключается в однократном пропускании цельной крови через емкость, содержащую полимер с иммобилизованным ГП. Далее кровь помещали в термостат (37 °С) и инкубировали в течение 120 мин, отбирая каждые 30 мин пробы для исследования концентрации цитокина ИЛ-8. Динамика концентрации цитокинов в пробах свидетельствовала об интенсивности цитокин продуцирующей активности клеток, которую выражали в виде изменения концентрации цитокинов в единицу времени (скорость продукции цитокинов).

Статистический анализ проводили методом Фридмана (ANOVA) и медианным тестом. Результаты представлены в виде медианы 25 и 75 процентилей.

Результаты определения концентрации ИЛ-8 в пробах плазмы крови, полученной после активации клеток в ходе динамического стендового эксперимента, показали достоверное увеличение концентрации ИЛ-8 после 120 мин эксперимента. В остальных временных интервалах достоверного изменения концентрации установлено не было, однако наблюдалась тенденция к увеличению концентрации ИЛ-8 (таблица 1).

Таблица 1 – Концентрация ИЛ-8 (пг/мл), синтезированного клетками крови после динамического контакта с иммобилизованными гликопротеинами

Время инкубации после контакта с ГП, мин	Концентрация ГП в геле			Медианный тест
	15 мг/мл	30 мг/мл	60 мг/мл	
0	1,4 (1,1–4,7)	1,4 (1,1–4,7)	1,4 (1,1–4,7)	–
60	8,0 (16,7–12,1)	12,4 (5,3–20,2)	5,9 (3,7–8,9)	p = 0,41
90	57,6 (40,0–62,7)	51,7 (31,6–57,7)	45,8 (33,4–65,1)	p = 0,01
120	126,6 (115,5–140,8)	105,0 (85,7–140,4)	113,2 (103,3–143,0)	p = 0,007
Метод Фридмана (ANOVA)	p = 0,00011	p = 0,00011	p = 0,00017	–

На основании полученных данных была рассчитана интенсивность (скорость) продукции ИЛ-8 клетками крови после контакта с иммобилизованными ГП. Результаты определения интенсивности продукции ИЛ-8 в пробах плазмы крови, полученных в ходе динамического стендового эксперимента, показали отсутствие статистической разницы интенсивности синтеза цитокина ИЛ-8 в ответ на взаимодействие с различными концентрациями ГП. Однако установлены достоверные изменения в скорости наработки ИЛ-8 при действии ГП в концентрациях 30 мг/мл и 60 мг/мл. В концентрации 15 мг/мл достоверного изменения интенсивности синтеза ИЛ-8 установлено не было, однако наблюдалась тенденция к увеличению скорости синтеза ИЛ-8 (таблица 2).

Таблица 2 – Интенсивность продукции ИЛ-8 (пг/мл/мин) клетками крови после динамического контакта с иммобилизованными гликопротеинами

Этапы исследования	15 мг/мл	30 мг/мл	60 мг/мл	Сравнение независимых данных, медианный тест
1 этап (0–60 мин), пг/мл/мин	0,09 (0,08–0,11) max = 0,77	0,09 (0,076–0,23) max = 0,42	0,08 (0,04–0,09) max = 0,32	p = 0,46
2 этап (60–90 мин), пг/мл/мин	1,47 (1,29–1,55) max = 2,05	0,93 (0,84–1,54) max = 1,90	1,32 (0,82–1,77) max = 2,33	p = 0,83
3 этап (90–120 мин), пг/мл/мин	2,30 (1,72–2,86) max = 18,20	1,67 (1,43–2,39) max = 12,21	2,03 (1,78–2,26) max = 18,93	p = 0,47
Сравнение зависимых данных, метод Фридмана (ANOVA)	p = 0,012	p = 0,002	p = 0,002	–

Результаты исследования показали, что динамика изменения интенсивности синтеза цитокина одинаковая при всех использованных концентрациях лиганда. В первые 60 мин интенсивность синтеза ИЛ-8 минимальная, за последующие 30 мин интенсивность синтеза возрастает в 16 раз, и далее в течение еще 30 мин интенсивность увеличивается лишь в 2 раза. Таким образом, максимальная интенсивность синтеза отмечается по истечении 60 мин после контакта с иммобилизованными ГП.

Установленная скорость синтеза ИЛ-8 после динамического контакта клеток крови с иммобилизованными ГП в концентрации 30 мг/мл к 120 мин составила 1,67 пг/мл/мин.

Наиболее высокие концентрации ИЛ-8 синтезируются после 90–120 мин инкубации клеток крови после контакта с ГП, иммобилизованными на полиакриламидном геле в максимальной (60 мг/мл) концентрации. Однако статистический анализ разницы в интенсивности продукции ИЛ-8 клетками крови в зависимости от концентрации иммобилизованного лиганда не показал статистической значимости. Возможно, интенсивность синтеза больше зависит от функциональной активности клеток индивидуума, чем от концентрации ГП.

Таким образом, впервые проведена оценка динамики продукции ИЛ-8 клетками крови человека в ответ на стимуляцию иммобилизованными гликопротеинами *Saccharomyces cerevisiae* при моделировании процедуры эфферентной гемокоррекции. Было показано, что существует возможность применения иммобилизованных гликопротеинов для дальнейшей разработки изделия медицинской техники для проведения экстракорпоральной иммунокоррекции. Результаты свидетельствуют, что кратковременный контакт клеток крови, который происходит при прохождении крови через емкость, заполненную матрицей с иммобилизованными гликопротеинами, активирует секрецию ИЛ-8 клетками крови.

Литература

1. Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report: 2022 [Electronic resource] // World Health Organization. – Mode of access: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/364996/9789240062702-eng.pdf?sequence=1>. – Date of access: 03.10.2024.
2. Илюкевич, Г. В. Антибиотики в интенсивной терапии угрожающих жизни инфекций: учеб.-метод. пособие / Г. В. Илюкевич. – Минск : БелМАПО, 2022. – 61 с.
3. Меледина, Т. В. Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. Морфология, химический состав, метаболизм: учеб. пособие / Т. В. Меледина, С. Г. Давыденко. – СПб. : Университет ИТМО, 2015. – 88 с.

Поступила 13.09.2024

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ГИГИЕНЫ, ТОКСИКОЛОГИИ,
ЭПИДЕМИОЛОГИИ, ВИРУСОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ
ГОСУДАРСТВЕННОГО УЧРЕЖДЕНИЯ
«РЕСПУБЛИКАНСКИЙ ЦЕНТР ГИГИЕНЫ, ЭПИДЕМИОЛОГИИ
И ОБЩЕСТВЕННОГО ЗДОРОВЬЯ» (НИИ ГТ ЭВМ РЦГЭиОЗ)
ОБЩЕСТВЕННОЕ ОБЪЕДИНЕНИЕ
«НАУЧНОЕ ОБЩЕСТВО ГИГИЕНИСТОВ»

**СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ
МЕЖДУНАРОДНОЙ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
«ЗДОРОВЬЕ И ОКРУЖАЮЩАЯ СРЕДА»**

5–6 декабря 2024 года, г. Минск

Гомель
Редакция газеты «Гомельская праўда»
2024