

Перфильева Марина Юрьевна,
Зав.кафедрой микробиологии и вирусологии, к.мед.н., доцент,
ФГБОУ ВО ЛГМУ им. Свт. Луки Минздрава России, Луганск,
Perfilyeva Marina Yurievna, FSBEI NI ST. LSMU of MOH of Russia

Волобуева Лариса Николаевна,
к.мед.н, доцент, ЛГМУ им. Свт. Луки

Салманова Оксана Николаевна,
к.б.н, доцент, ЛГМУ им. Свт. Луки

Дудка Анна Юрьевна,
ассистент, ЛГМУ им. Свт. Луки

Болгарова Алина Александровна,
ассистент, ЛГМУ им. Свт. Луки

Журба Анастасия Сергеевна,
студентка, ФГБОУ ВО ПСПбГМУ
им.И.П. Павлова, Санкт-Петербург

**ВЛИЯНИЕ ТЕЙХОЕВЫХ КИСЛОТ НА ФАГОЦИТАРНУЮ АКТИВНОСТЬ
МОНОЦИТОВ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА IN VITRO
THE EFFECT OF TEICHOIC ACIDS ON THE PHAGOCYTIC ACTIVITY
OF HUMAN BLOOD MONOCYTES IN VITRO**

Аннотация. Влияние тейхоевых кислот грамположительных бактерий на фагоцитарную активность моноцитов крови человека *in vitro* является дозозависимым и видоспецифическим. Малые действующие концентрации тейхоевых кислот (преимущественно 1,0 мг/л) стимулируют фагоцитоз моноцитов, в то время как высокие дозы тейхоевых кислот его угнетают. Наибольшие изменения фагоцитарной активности моноцитов крови человека регистрировались при внесении в суспензию моноцитов наибольших концентраций тейхоевых кислот –10,0 мг/л соответственно.

Abstract. The effect of teichoic acids of gram-positive bacteria on the phagocytic activity of human blood monocytes *in vitro* is dose-dependent and species-specific. Low active concentrations of teichoic acids (preferably 1.0 mg / l) stimulate phagocytosis of monocytes, while high doses of teichoic acids inhibit it. The largest changes in the phagocytic activity of human blood monocytes were recorded by us when the highest concentrations of teichoic acids were added to the monocyte suspension - and 10.0 mg / l, respectively.

Ключевые слова: моноциты, тейхоевые кислоты, фагоцитарная активность.

Key words: monocytes, teichoic acids, phagocytic activity.

В формировании защитных, компенсаторных и адаптационных реакций организма существенная роль принадлежит многофункциональной системе мононуклеарных фагоцитов, благодаря неспецифическому фагоцитозу, способности разрушать некоторые белки, обезвреживать чужеродные молекулы и клетки, образовывать макромолекулы, специфически реагирующие с чужеродными соединениями [1]. К системе мононуклеарных фагоцитов относятся монобласты, промоноциты, моноциты и макрофаги (печени, легких, центральной нервной системы, лимфоузлов, кожи, костного мозга, костной ткани). Они выполняют следующие основные функции: защищают от подавляющего большинства



микроорганизмов (фагоцитоз); поглощают поврежденные и/или старые клетки и их частицы; взаимодействуют с лимфоидными клетками в иммунных реакциях [2]. Фагоцитоз является одним из главных процессов защиты организма от инвазии чужеродных веществ [3,4]. Развитие инфекционного процесса во многом зависит от состояния фагоцитарной системы, способности фагоцитирующих клеток захватывать и переваривать микроорганизмы [5]. При инфекции, вызванной грамположительной кокковой микрофлорой, гуморальный иммунитет развивается слабо и не обеспечивает эффективной защиты [6]. Формирование гуморального иммунитета к условно-патогенным грамположительным коккам определяется антигенными свойствами компонентов клеточной стенки возбудителей с одной стороны и уровнем иммунореактивности хозяина – с другой [7,8]. В настоящее время выделяют ряд компонентов микробной клетки, которые способны напрямую, вызывать образование так называемых провоспалительных цитокинов – ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО и других [8,9]. К их числу относятся ЛПС, порины, поверхностные белки, белки ворсинок, липопротеины, гликопротеины, а также пептидогликаны и тейхоевые кислоты [10,11]. Концентрация последних во внутренней среде макроорганизма способна существенно повлиять на состояние иммунокомпетентных клеток и прежде всего на моноциты (макрофаги) – центральные клетки иммунной системы. Пептидогликан – основной полимер клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий – возглавляет список важнейших бактериальных молекул, обладающих иммуномодулирующей активностью вирулентности, подавляя иммунные реакции хозяина [12]. Работа является фрагментом плановой научной работы кафедры микробиологии и вирусологии совместно с кафедрой нормальной физиологии ФГБОУ ВО ЛГМУ им. Свт. Луки Минздрава России «Диагностика нарушений и возможности регуляции регенерации тканей организма при воспалении», шифр – 1904, № государственной регистрации – 615.276:616-602-07-08.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программного обеспечения Statistica 10.0, Microsoft Excel 2010.

Цель работы – изучить механизмы действия *in vitro* тейхоевых кислот на фагоцитарную активность моноцитов.

Материалы и методы исследования. В исследование включены 119 культур моноцитов периферической крови практически здоровых доноров-мужчин в возрасте 20-24 лет. Забор крови в объеме 20 мл производился из локтевой вены утром до еды. У всех доноров брали кровь для определения общего количества лейкоцитов и процентного содержания моноцитов. Была изучена фагоцитарная активность моноцитов (ФАМ) периферической крови чашечным методом [13]. В качестве объекта фагоцитоза использовали живую суточную культуру *Staph. aureus*, штамм 505. При этом учитывали следующие показатели: фагоцитарный индекс (ФИ), фагоцитарное число (ФЧ). Тейхоевые кислоты грамположительных кокков были получены из культур микроорганизмов, выделенных от 56 пациентов с гнойно-воспалительными заболеваниями, госпитализированных в травматологическое отделение Луганской республиканской клинической больницы. Было обнаружено, что тейхоевые кислоты грамположительных кокков *in vitro* могут влиять на фагоцитарную активность моноцитов крови человека. Направление и выраженность этого эффекта существенно зависят от дозы тейхоевых кислот, который вступает в контакт с моноцитами, а также от вида микроорганизма. В таблице 1 указаны показатели, принятые в качестве референтной нормы.

Таблица 1

Показатели, принятые в качестве референтной нормы

Показатель	Единица измерения	Референтная норма
ФИ моноцитов для <i>S. aureus</i>	%	28,6±1,6
ФЧ моноцитов для <i>S. aureus</i>	у.е.	3,3±0,18
ФИ моноцитов для <i>S. haemolyticus</i>	%	30,4±2,0
ФЧ моноцитов для <i>S. haemolyticus</i>	у.е.	3,7±0,25
ФИ моноцитов для <i>S. epidermidis</i>	%	38±2,7



ФЧ моноцитов для <i>S. epidermidis</i>	у.е.	5,8±0,38
ФИ моноцитов для <i>S. saprophyticus</i>	%	44,8±3,1
ФЧ моноцитов для <i>S. saprophyticus</i>	у.е.	7,4±0,5
ФИ моноцитов для <i>S. pyogenes</i>	%	29,5±2,0
ФЧ моноцитов для <i>S. pyogenes</i>	у.е.	3,7±0,25
ФИ моноцитов для <i>S. pneumoniae</i>	%	33,7±2,4
ФЧ моноцитов для <i>S. pneumoniae</i>	у.е.	4,3±0,3

Действие тейхоевых кислот грамположительных кокков на фагоцитарную активность моноцитов крови человека имело проявление в его ингибиции. Это указывало на существенное уменьшение ФИ (фагоцитарный индекс) – процента фагоцитирующих мононуклеаров и ФЧ (фагоцитарное число) – абсолютного количества бактерий, фагоцитированных одним моноцитом. По мере увеличения действующей на моноциты дозы тейхоевых кислот, показатели фагоцитоза моноцитов прогрессирующе снижались. Наибольшие изменения фагоцитарной активности моноцитов крови человека регистрировались нами при внесении в клеточную взвесь наибольших концентраций тейхоевых кислот – 10,0 и 1,0 мг/л соответственно. При этом максимальный антифагоцитарный эффект вызвали тейхоевые кислоты *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pyogenes*, наименьший – *Streptococcus pneumoniae*.

Таким образом, влияние тейхоевых кислот грамположительных бактерий родов *Staphylococcus*, *Streptococcus* на фагоцитарную активность моноцитов крови человека *in vitro* является дозозависимым, видоспецифическим. Полученные данные объясняют разные исходы инфекционного процесса в зависимости от этиологического фактора и инфицирующей дозы. Результаты исследования влияния тейхоевых кислот грамположительных кокков на фагоцитарную активность моноцитов крови человека *in vitro* представлены в таблице 2. Как следует из материалов таблицы 2, по мере увеличения действующей на моноциты дозы тейхоевых кислот угнетение показателей фагоцитоза прогрессивно возрастало. Наименьшие изменения ФИ и ФЧ регистрировались при использовании концентрации тейхоевых кислот 1,0 мг/л, наибольшие – при дозе 10,0 мг/л.

Отмеченная особенность была характерна для всех тейхоевых кислот независимо от их видовой принадлежности. При внесении в среду культивирования моноцитов тейхоевых кислот в концентрации 1,0 мг/л кратность понижения показателя ФИ составляла (с учетом видовой принадлежности) 1,05-1,4 раз, ФЧ – 1,02-1,65 раз.

Таблица 2

**Влияние тейхоевых кислот грамположительных бактерий
на фагоцитарную активность моноцитов крови человека *in vitro***

Вид возбудителя	Доза тейхоевых кислот (мг/л)	ФИ моноцитов, %	ФЧ моноцитов, у.е.
<i>Staphylococcus aureus</i>	0 (среда 199)	28,6±1,6	3,3±0,18
	1,0	20,3±1,4*	2,0±0,14*
	5,0	15,4±1,0*	1,6±0,11*
	10,0	10,6±0,7*	0,9±0,06*
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	0 (среда 199)	30,4±2,0	3,7±0,25
	1,0	26,0±1,8	3,2±0,22
	5,0	21,5±1,5*	2,7±0,19*
	10,0	17,3±1,2*	2,0±0,14*
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0 (среда 199)	38,0±2,7	5,8±0,38
	1,0	31,4±2,3	4,7±0,32*
	5,0	26,5±1,8*	4,0±0,27*
	10,0	20,0±1,4*	3,2±0,22*



Staphylococcus saprophyticus	0 (среда 199)	44,8 \pm 3,1	7,4 \pm 0,5
	1,0	40,3 \pm 2,8	6,2 \pm 0,43
	5,0	34,5 \pm 2,4*	5,3 \pm 0,37*
	10,0	26,7 \pm 1,9*	4,5 \pm 0,31*
Streptococcus pyogenes	0 (среда 199)	29,5 \pm 2,0	3,7 \pm 0,25
	1,0	22,1 \pm 1,5*	2,3 \pm 0,16*
	5,0	15,0 \pm 1,0*	1,7 \pm 0,12*
	10,0	8,8 \pm 0,6*	1,1 \pm 0,08*
Streptococcus pneumoniae	0 (среда 199)	33,7 \pm 2,4	4,3 \pm 0,3
	1,0	25,2 \pm 1,7*	2,8 \pm 0,2*
	5,0	19,6 \pm 1,4*	2,3 \pm 0,16*
	10,0	13,8 \pm 1,0*	1,6 \pm 0,11*

Примечание.* - $p \leq 0,05$ по сравнению с референтной нормой.

При действии тейхоевых кислот в дозе 5,0 мг/л степень угнетения фагоцитарной активности моноцитов по показателю ФИ составила 1,17-1,86 раза, по ФЧ - 1,14-2,18 раза. Наибольшее содержание тейхоевых кислот (10 мг/л) вызвало снижение ФИ в 1,3-1,5 раз, ФЧ – в 1,28-3,66 раз.

Таким образом, влияние тейхоевых кислот грамположительных бактерий на фагоцитарную активность моноцитов крови человека *in vitro* носит дозозависимый характер. Малые концентрации тейхоевых кислот, действующие на моноциты минимально угнетают фагоцитарную активность, тогда как высокие концентрации – больше всего. В целом влияние тейхоевых кислот на фагоцитоз моноцитов крови человека *in vitro* проявляется в снижении ФИ и ФЧ.

Выраженность антифагоцитарного действия на моноциты зависела от видовой принадлежности тейхоевых кислот. Наиболее активными в этом отношении оказались тейхоевые кислоты *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pyogenes*. Так, при добавлении к моноцитам крови человека тейхоевых кислот *Staphylococcus aureus* в действующей концентрации 1,0 мг/л ФИ и ФЧ были соответственно в 1,4 и 1,65 раза ниже аналогичных показателей референтной нормы. При использовании тейхоевых кислот данного патогена в дозе 5,0 мг/л кратность снижения ФИ составила 1,86 раз, ФЧ – 2,06 раз ($p < 0,05$), при действующей дозе 10 мг/л – 2,7 и 3,7 раз соответственно.

При концентрации тейхоевых кислот *Streptococcus pyogenes* в дозе 1,0 мг/л ФИ снижался в 1,3 раз, ФЧ – в 1,6 раз, при 5,0 мг/л и 10,0 мг/л – соответственно в 1,97, 2,18 и в 3,3, 3,4 раза ($p < 0,05$). Несмотря на то, что антифагоцитарная активность тейхоевых кислот *Streptococcus pyogenes* была несколько ниже такой для *Staphylococcus aureus*, статистически достоверной разницы между показателями ФИ и ФЧ при одинаковых действующих дозах тейхоевых кислот этих бактерий обнаружено не было. Это позволило считать антифагоцитарную активность тейхоевых кислот *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pyogenes* равной.

Менее выраженное угнетение фагоцитоза моноцитов крови человека вызывали тейхоевые кислоты *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus haemolyticus*, а также другие представители рода *Staphylococcus*. При использовании тейхоевых кислот *Streptococcus pneumoniae* в действующей концентрации 1,0 мг/л моноцитов ФИ оказался сниженным в 1,33 раз по сравнению с референтной нормой, тогда как ФЧ - в 1,5 раз ($p < 0,05$). При дозе тейхоевых кислот 5,0 мг/л угнетение показателей фагоцитарной активности увеличивалось, достигая наибольших показателей при концентрации тейхоевых кислот 10,0 мг/л. В последнем случае степень падения ФИ моноцитов составила 2,4 раза, ФЧ – 2,7 раза.

Подобные изменения фагоцитарной активности регистрировались также при внесении в среду культивирования моноцитов крови человека тейхоевых кислот *Staphylococcus haemolyticus*. Как оказалось, при действующей концентрации тейхоевых кислот этого патогена 1,0 мг/л достоверных расхождений ФИ и ФЧ с показателями референтной нормы не



выявлено. В то же время при дозе тейхоевых кислот 5,0 мг/л ФИ был снижен в 1,4 раз, а ФЧ - в 1,35 раз ($p < 0,05$). При содержании тейхоевых кислот *Staphylococcus haemolyticus* 10,0 мг/л угнетение фагоцитоза моноцитов крови человека было наибольшим (кратность понижения ФЧ составила 1,76 и 1,85 раз соответственно).

Таким образом, проведенные исследования позволили установить, что влияние тейхоевых кислот на фагоцитарную активность моноцитов носит дозозависимый и видоспецифический характер. Угнетение фагоцитоза было максимальным при использовании наибольших действующих доз тейхоевых кислот (10,0 мг/л), принадлежащих *Streptococcus pyogenes* и *Staphylococcus aureus*. Минимально влияли на фагоцитарную активность моноцитов тейхоевых кислот *Streptococcus pneumoniae*.

Вывод. Таким образом, влияние тейхоевых кислот грамположительных бактерий на фагоцитарную активность моноцитов крови человека *in vitro* является дозозависимым и видоспецифическим. Малые действующие концентрации тейхоевых кислот (преимущественно 1,0 мг/л) стимулируют фагоцитоз моноцитов, в то время как высокие дозы тейхоевых кислот его угнетают. Наибольшие изменения фагоцитарной активности моноцитов крови человека регистрировались при внесении в суспензию моноцитов наибольших концентраций тейхоевых кислот – 10,0 мг/л соответственно. Наиболее выраженные изменения функциональной активности моноцитов вызывают пептидогликаны *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pyogenes*, умеренные - *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, наименьшие - *Streptococcus pneumoniae*. Полученные данные объясняют разный исход инфекционного процесса в зависимости от этиологического фактора и инфицирующей дозы. Наименее патогенные возбудители вызывают минимальное негативное действие на иммунную систему макроорганизма, в частности на моноциты, тогда как наиболее патогенные – *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pyogenes* – способны вызывать глубокие нарушения иммуногенеза, что клинически может проявляться крайне тяжелым течением инфекционного заболевания. Данные, полученные нами в результате исследования, будут служить для дальнейшего изучения патогенеза, клиники и течения гнойно-воспалительных заболеваний, которые вызывают грамположительные бактерии.

Список литературы:

1. Sansonetti P. Phagocytosis of bacterial pathogens: implications in the host response / P. Sansonetti // *Semin. Immunol.* – 2001. – V.13, №6). - С.381-390.
2. Плехова Н.Г. Бактерицидная активность фагоцитов / Н.Г. Плехова // *Журн. микробиол.* - 2006. - № 6. - С. 89-96.
3. Годовалов А.П. Анализ фагоцитарной активности лейкоцитов периферической крови и экссудата у пациентов с флегмоной лица / А.П. Годовалов*, Г.И. Штраубе, И.А. Боев // *Пермский медицинский журнал.* – 2022. - 2022 том XXXIX № 2. – С. 55-60.
4. Shilov J.I. Role of adrenergic mechanisms in regulation of phagocytic cell functions in acute stress response / J.I. Shilov, E.G. Orlova // *Immunol. Lett.* – 2003. – V.86, №3. – С. 229-233.
5. Ernst J.D. Bacterial inhibition of phagocytosis / J.D. Ernst // *Cell. Microbiol.* -2000. – V.2, №5. - С. 37-386.
6. Фролов В.М. Определение фагоцитарной активности моноцитов периферической крови у больных / В.М. Фролов, Н.А. Пересадин, Л.А. Гаврилова // *Лабораторное дело.* – 1990. – № 9. – С. 27–29.
7. Ярилин А.А. Иммунология. – 2010. – С.63-7.
8. Вильсон С. Изменение фагоцитарной активности лейкоцитов на фоне местного инъекционного введения кислого пептидогликана у пациентов с акне / С. Вильсон, А.Л. Тищенко, В.С. Горский // *Аллергология и иммунология.* - 2015. - Том 16, № 2. - С. 213-215.



9. Аксенова А.В. Эпидемиологические аспекты стрептококковых и постстрептококковых заболеваний в Российской Федерации на современном этапе / А.В. Аксенова, Д.В. Абельдяев, Е.В. Глушкова // Клиницист. – 2020. - Т.14, №1- 2). – С. 14-23.
10. Перфильева М.Ю. Влияние пептидогликанов на фагоцитарную активность моноцитов крови человека *in vitro* / М.Ю. Перфильева, Л.Н. Волобуева, О.Н. Салманова, Н.А. Сотникова, А.Ю. Дудка, И.В. Луговскова, А.А. Дикая // Сборник научных трудов «Проблемы экологической и медицинской генетики и клинической иммунологии», г. Луганск. – 2022. - выпуск 1 (169). - С. 65-72
11. Фрейдлин И.С. Преодоление защитных функций макрофагов факторами вирулентности *Streptococcus pyogenes* / И.С. Фрейдлин, Э.А. Старикова, А.М. Лебедева // Бюллетень сибирской медицины. – 2019. – Т.18, №1. – С. 109–118.
12. Бурова Л.А. Основные факторы патогенности *Streptococcus pyogenes* / Л.А. Бурова, А.А. Тоголян // Инфекция и иммунитет. - 2022. - Т. 12, № 1. - С. 33–50.
13. Скороходкина О.В., Хакимова Р.Ф., Васильева А.А., Зиганшина Г.Ф., Ключарова А.Р., Валеева А.Р., Курмаева Н.Ш. Учебно-методическое пособие по дисциплине «Общая и клиническая иммунология», Казань. - 2018. - 192 с.

