

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ИММУНОТРОПНЫХ СВОЙСТВ НОВОГО БИОСОЕДИНЕНИЯ

Забокрицкий Н.А.

ФГБНУ «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук,
г. Екатеринбург, Россия

Резюме. Тематика заявленной публикации посвящена актуальным вопросам экспериментального изучения нового биосоединения, в основе которого предлагаются консорциум биологически активных композитных соединений – биологически активных веществ (метабиотиков), продуцируемых пробиотическими штаммами 59Т и 60Т сапрофитных микроорганизмов рода *Bacillus subtilis*. Данные штаммы представляются весьма перспективными для конструирования гепатопротекторов – новых лекарственных кандидатов – в создании и разработке нового фармакологического класса препаратов гепатопротекторов. В ранее проведенных исследованиях были показаны безопасность и гепатопротективное действие вышеуказанных биологически активных соединений. Сочетанное применение данных соединений обеспечивает потенцированный фармакологический эффект. Кроме того, имеются существенные основания полагать о наличии влияния изучаемых биологических активных веществ на звенья иммунной системы. В связи с этим представлялось целесообразным в условиях моделирования четыреххлористым углеродом токсического поражения печени провести экспериментальную оценку иммуностропного действия биологически активных веществ (БАВ) на лабораторных животных с целью подтверждения влияния на гуморальные факторы иммунной системы. Целью исследования было изучить влияние сочетанного применения БАВ, продуцируемых микроорганизмами сенной палочки на показатели гуморального иммунитета у лабораторных животных с острым токсическим гепатитом. Экспериментальную модель токсического поражения воспроизводили на белых лабораторных крысах при внутрижелудочном многократном введении четыреххлористого углерода. Препаратом сравнения был зарегистрированный гепатопротекторный препарат – урсосан. Действие БАВ на гуморальные показатели иммунной системы оценивали по следующим факторам: иммуноглобулиновый титр М, G, A, E, количественные показатели α -интерферона и циркулирующих иммунных комплексов. В результате выполненных исследований получены достоверные данные об увеличении количества всех типов иммуноглобулинов, индукцию эндогенного альфа-интерферона и антителобразующих клеток в условиях острого токсического поражения печени, а по истечении 15 суток под действием БАВ зарегистрировано достоверное возвращение всех измененных показателей до первоначальных значений факторов гуморального иммунитета. Полученные данные позволяют рекомендовать изучаемое биосоединение для создания новых лекарственных кандидатов микробиологического происхождения гепатопротекторных средств с иммуностропным действием.

Ключевые слова: пробиотики, гуморальный иммунитет, иммуностропная активность, метаболиты, сенная палочка, токсический гепатит, гепатопротекторы

Адрес для переписки:

Забокрицкий Николай Александрович
ФГБНУ «Институт иммунологии и физиологии»
Уральского отделения Российской академии наук
620049, Россия, г. Екатеринбург,
ул. Первомайская, 106.
Тел.: 8 (343) 374-00-70.
E-mail: pharmusma@rambler.ru

Address for correspondence:

Nikolay A. Zabokritskiy
Institute of Immunology and Physiology,
Ural Branch, Russian Academy of Sciences
106 Pervomayskaya St
Yekaterinburg
620049 Russian Federation
Phone: +7 (343) 374-00-70.
E-mail: pharmusma@rambler.ru

Образец цитирования:

Н.А. Забокрицкий «Экспериментальная оценка иммуностропных свойств нового биосоединения» // Российский иммунологический журнал, 2025. Т. 28, № 1. С. 39-42.
doi: 10.46235/1028-7221-16959-EAO

© Забокрицкий Н.А., 2025

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

N.A. Zabokritskiy “Experimental assessment of the immunotropic properties of the new biocomplund”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 1, pp. 39-42.
doi: 10.46235/1028-7221-16959-EAO

© Zabokritskiy N.A., 2025

The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16959-EAO

EXPERIMENTAL ASSESSMENT OF THE IMMUNOTROPIC PROPERTIES OF THE NEW BIOCOMPLUND

Zabokritskiy N.A.

Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

Abstract. The article concerns topical issues of studying the new biocompound within a consortium of biologically active substances (BAS). These compounds (metabiotics) are produced by probiotic strains 59T and 60T of saprophytic microorganisms which belong to *Bacillus subtilis* genus. These strains seem to be quite promising for the design of hepatoprotectors, the new drug candidates, for creation and development of a new class of hepatoprotector drugs. Previous studies have shown safety and hepatoprotective effects of abovementioned BAS. It is important to note that the combined use of these compounds provides a potentiated pharmacological effect. Moreover, there are significant reasons to believe that these BAS may influence different compartments of immune system. In this regard, it seemed appropriate to perform experimental assessment of the immunotropic effect of BAS in laboratory animals using a model of toxic liver damage with carbon tetrachloride, in order to confirm the effect on the humoral factors of immunity. The purpose of the present study is to provide experimental comparative assessment of humoral immunity indexes upon combined usage of biologically active substances in acute toxic liver damage. The experimental model of toxic damage was reproduced in white laboratory rats with repeated intragastric administration of carbon tetrachloride. The comparison drug was ursosan, a registered hepatoprotective drug. The following factors of humoral immunity were measured to assess the effects of biologically active substances: immunoglobulins M, G, A, quantitative indices of α -interferon and circulating immune complexes (CIC). As a result of the studies performed, we obtained reliable data showing increased amounts of all Ig classes as well as induction of endogenous α -interferon and antibody-forming cells under the conditions of acute toxic liver damage. Meanwhile, a significant restoration of the humoral immunity indices to initial values was registered after the 15-day treatment with biologically active substances. The data obtained allow us to recommend the studied BAS for creation of new drug candidates of microbial origin, hepatoprotective agents with immunotropic effects.

Keywords: probiotics, humoral immunity, immunotropic activity, metabolites, Bacillus subtilis, toxic hepatitis, hepatoprotectors

Работа выполнена в рамках госзадания ИИФ УрО РАН (тема № 122020900136-4).

Введение

На сегодняшний день известно, что медицинские иммунобиологические препараты (МИП) являются весьма эффективными иммунотропными средствами для лечения и коррекции иммунопатологических состояний [1, 2]. Известно, что одной из распространенных фармакологических групп, принадлежащих к МИП, являются пробиотики, эубиотики и метабиотики [3, 4]. Так, отечественными и зарубежными исследователями отдается предпочтение метабиотикам при разработке новых лекарственных кандидатов [4, 5, 6]. Именно отсутствие вегетативных пробиотических клеток позволяет снизить антигенную нагрузку в условиях иммунокоррекции. При этом фармакологическая активность и эффективность метабиотиков не уступает самим пробиотикам.

Целесообразно отметить, что сегодня активно ведется поиск новых направлений использования метабиотиков, например иммунопротекторов, иммунокорректоров, гепатопротекторов, иммуно-

модуляторов и др. [8]. В проведенных нами ранее исследованиях гепатопротекторов — перспективных биологически активных соединениях, продуцируемых микроорганизмами сенной палочки, были установлены гепатопротективные свойства. Кроме того, метаболиты штаммов 59Т и 60Т проявляли свойства индуктора α -интерферона. В связи с этим, представляется целесообразным выполнить исследования по оценке иммунотропных свойств на показатели гуморального иммунитета метаболитов данных штаммов в условиях острого токсического повреждения печени.

Цель исследования — изучить влияние сочетанного применения БАД, продуцируемых микроорганизмами сенной палочки на характеристики гуморального статуса у лабораторных животных с острым токсическим гепатитом.

Материалы и методы

Объектом исследования являлся комплекс метаболитов (БАД) сенной палочки штаммов 59Т и 60Т в равных частях. Комплекс БАД получали в соответствии с общепринятыми и имеющимися в научной литературе методами [7].

С помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии оценивали количественное и качественное содержание биологически активных веществ: полисахаридный и белковый комплексы 210-320 г/л; протеины и аминокислоты (свободные) – 110-190 г/л; гексозамин – 50-60 г/л; основания пуриновые и пиримидиновые (аденин 21-22 г/л; гуанин 3-4 г/л; цитозин г/л; тимин 4-6 г/л; урацил 14-16 г/л); витамины и витаминоподобные соединения: пиридоксин 2,0 г/л; рибофлавин 2,2 г/л; ферментные комплексы: ферменты: протеолитические 800-890 ед/г; амилитические 900-950 ед/г; антибиотики и антибиотикоподобные вещества 0,09-0,4%; другие соединения < 5%.

Воспроизведение модели острого токсического поражения печени осуществляли на лабораторных животных – белые крысы линии Wistar. В течение двухнедельного срока интрагастрально белым лабораторным животным вводили четыреххлористый углерод (40%-ный раствор расчета 2,0 dg.kg⁻¹). Критерием оценки острого гепатита были общий, биохимический анализ периферической крови и гистоморфологическое исследование.

Все животные в эксперименте были разделены на 6 групп, по 8 лабораторных животных в каждом. Первой группе назначали исследуемый БАД. Вторая группа получала метаболиты штамма сенной палочки 59Т. Третьей группе вводили метаболиты штамма сенной палочки 60Т. Четвертая группа получала препарат сравнения урсосан. Пятая группа – контроль – острый токсический гепатит без лечения. Шестая группа – интактные животные. Лечение назначалось в течение 7 дней с момента возникновения острого гепатита. Наблюдение за подопытными животными осуществляли в течение 30 суток.

Оценку иммуотропного действия проводили по таким показателям, как: иммуноглобулиновый титр М, G, A, E, количественные показатели α -интерферона и циркулирующих иммунных комплексов.

Статистическую обработку полученных данных осуществляли с применением компьютерных программ Microsoft Office Excel 2019 и Statistica 23.0. Использовали метод дисперсионного анализа (ANOVA). Нормальность распределения полученных данных оценивали по методу Колмогорова–Смирнова. Применяли параметрический критерий Фишера в зависимости от нормальности распределения данных, также непараметрический W-критерий Вилкоксона при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В результате проведенного исследования установлено, что у животных с воспроизведенной мо-

делью острого токсического поражения печени на третьи сутки наблюдали возникновение иммуновоспалительного синдрома, о чем свидетельствует увеличении всех исследуемых параметров гуморального иммунитета. Так, следует отметить, что содержание иммуноглобулинов E увеличилось в 2,2 раза, количественный показатель IgM повысился в 4 раза, а титр циркулирующих иммунных комплексов – в 2,9 раза. При этом в экспериментальной группе отмечали индукцию эндогенного интерферона в 3,1 раза по сравнению с контрольной группой.

На четвертые сутки после начала введения исследуемых образцов в группах лабораторных животных, которым назначали начало достоверного снижения количественных показателей IgE, IgM и СІС. При этом установлено увеличение таких факторов, как IgG и IgA, а также повышение индукции α -интерферона 74,8±3,3 нг/л (группа I) 24,1±1,5 нг/л (группа V). В группе, где животные получали препарат сравнения (группа IV), данный показатель составлял 25,6±1,4 нг/л и достоверно коррелировал с группой V. Дальнейшего достоверного снижения во всех экспериментальных группах титра СІС не регистрировали.

На пятнадцатые сутки эксперимента установлена регрессия исследуемых показателей гуморального иммунитета во всех группах лабораторных животных. Однако титр IgM превышал в 4 раза, чем аналогичный показатель в контроле (группа VI). При этом остальные количественные параметры также оставались высокими. Кроме того, титр α -IFN в группе I составлял 59,1±2,7 нг/л по сравнению с группой IV 24,3±1,4 нг/л и группой V – 22,6±1,2 нг/л.

На двадцать четвертые сутки эксперимента в группе I отмечали возвращение показателей гуморального иммунитета до первоначальных величин. В группах II и III зарегистрирована регрессия всех показателей гуморального иммунитета до верхних границ нормальных величин только на тридцатые сутки. Следует отметить, что в группе IV сохранялся повышенный титр циркулирующих иммунных комплексов.

Заключение

В результате проведенных исследований получены достоверные данные об увеличении количества всех типов иммуноглобулинов, индукцию эндогенного альфа-интерферона и антителобразующих клеток в условиях острого токсического поражения печени, а по истечении 15 суток под действием БАВ зарегистрировано достоверное возвращение всех измененных показателей до первоначальных значений факторов гуморального иммунитета.

Таким образом, на основании выполненных исследований можно сделать заключение о потенцированном действии изучаемого БАД (метаболизмы двух штаммов) по сравнению с метаболитами от одного из штаммов и препаратом

сравнения. В связи с этим целесообразно в качестве будущего лекарственного кандидата рекомендовать именно сочетанное использование консорциума метаболитов двух штаммов сенной палочки.

Список литературы / References

1. Ардатская М.Д., Столярова Л.Г., Архипова Е.В., Филимонова О.Ю. Метабиотики как естественное развитие пробиотической концепции // Рецепт, 2019. Т. 22, № 2. С. 291-298. [Ardatskaya M.D., Stolyarova L.G., Arkhipova E.V., Filimonova O.Yu. Metabiotics as a natural development of a probiotic concept. *Retsept = Recipe*, 2019, Vol. 22, no. 2, pp. 291-298. (In Russ.)]
2. Забокрицкий Н.А. Оценка иммуностропного действия пробиотика бацилакт в составе трансдермальных терапевтических систем // Российский иммунологический журнал, 2017. Т. 11, № 2 (20). С. 126-129. [Zabokritskiy N.A. Preclinical evaluation of immunotropic action of probiotics bacilact transdermal therapeutic system. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2017, Vol. 11, no. 2 (20), pp. 126-129. (In Russ.)]
3. Забокрицкий Н.А. Принципиальные направления научных исследований по обоснованию и разработке новых иммунобиологических препаратов // Экспериментальная и клиническая фармакология, 2018. Т. 81, № 5. С. 85-86. [Zabokritskiy N.A. Principal directions of scientific research on the justification and development of new immunobiological drugs. *Ekspperimentalnaya i klinicheskaya farmakologiya = Russian Journal of Experimental and Clinical Pharmacology*, 2018, Vol. 81, no. 5, pp. 85-86. (In Russ.)]
4. Забокрицкий Н.А., Сарапульцев П.А. Экспериментальное обоснование возможности создания нового метаболического препарата // Российский иммунологический журнал, 2018, Т. 12 (21), № 3. С. 295-300. [Zabokritskiy N.A., Sarapultsev P.A. Experimental justification of the possibility of creating the new metabolic drug. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2018, Vol. 12 (21), no. 3, pp. 295-300. (In Russ.)] doi: 10.31857/S102872210002398-2.
5. Забокрицкий Н.А. Фармакологическая оценка иммуностропной активности нового гелевого метаболита на факторы клеточного и гуморального иммунитета при экспериментальном моделировании термических ожогов кожи // Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 2. С. 125-132. [Zabokritskiy N.A. Pharmacological assessment of immunotropic activity of new gel metabiotic on cellular and humoral immunity in experimental modeled thermal skin burns. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2020, Vol. 23, no. 2, pp. 125-132. (In Russ.)] doi: 10.46235/1028-7221-314-PAO.
6. Забокрицкий Н.А. Изучение цитопротекторных свойств метаболитов штамма *Bacillus subtilis* В-9909 на культуре выделенных гепатоцитов // Вестник уральской медицинской академической науки, 2022. Т. 19, № 3. С. 203-209. [Zabokritskiy N.A. Experimental evaluation of the cytoprotective effect of probiotic metabolites of *Bacillus subtilis* В-9909 strain on the culture of isolated hepatocytes. *Vestnik uralskoy meditsinskoy akademicheskoy nauki = Journal of Ural Medical Academic Science*, 2022, Vol. 19, no. 3, pp. 125-132. (In Russ.)]
7. Лабинская А.С., Блинкова Л.П., Ещина А.С., Булаева Г.В., Вертиев Ю.В., Винокуров А.Е., Горобец О.Б., Дарбеева О.С., Жиленков Е.Л., Зверьков Д.А., Иванова С.М., Иванова Т.С., Корн М.Я., Кривопалова Н.С., Лукин И.Н., Мельникова В.А., Нехорошева А.Г., Романова Ю.М., Сидоренко С.В., Скаженник В.Ю., Скала Л.З., Трухина Г.М. Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологических исследований. СПб: Лань, 2016. 588 с. [Labinskaya A.S., Blinkova L.P., Eshina A.S., Bulaeva G.V., Vertiev Yu.V., Vinokurov A.E., Gorobets O.B., Darbeeva O.S., Zhilenkov E.L., Zverkov D.A., Ivanova S.M., Ivanova T.S., Korn M.Ya., Krivopalova N.S., Lukin I.N., Melnikova V.A., Nekhorosheva A.G., Romanova Yu.M., Sidorenko S.V., Skazenik V.Yu., Skala L.Z., Trukhina G.M. General and Sanitary Microbiology with the Technique of microbiological research]. St. Petersburg: Lan, 2016. 588 p.
8. Lee N.K., Paik H.D., Kim W.S. *Bacillus* strains as human probiotics: characterization, safety, microbiome, and probiotic carrier. *Food Sci. Biotechnol.*, 2019, Vol. 28, no. 5, pp. 1297-1305.

Автор:

Забокрицкий Н.А. — д.м.н., доцент, старший научный сотрудник лаборатории иммунофизиологии и иммунофармакологии ФГБНУ «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Author:

Zabokritskiy N.A., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Senior Research Associate, Laboratory of Immunophysiology and Immunopharmacology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

Поступила 22.04.2024
Принята к печати 31.07.2024

Received 22.04.2024
Accepted 31.07.2024