Российский иммунологический журнал 2026, Т. 29, № 2, стр. 353-362

Оригинальные статьи
Original articles

Russian Journal of Immunology / Rossiyskiy Immunologicheskiy Zhurnal 2026, Vol. 29, № 2, pp. 353-362

ВЛИЯНИЕ МОНОАЦИЛТРЕГАЛОЗНОЙ ФРАКЦИИ *RHODOCOCCUS*-БИОСУРФАКТАНТА НА ОТДЕЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ

Гейн С.В.[1, 2], Южанинова Ю.Д.[1], Куюкина М.С.[1, 2], Ившина И.Б.[1, 2]

[1] *Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук, г. Пермь, Россия*

[2] *ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия*

Резюме. В последнее десятилетие микробные биосурфактанты, наряду с традиционным применением в качестве эмульгаторов и солюбилизаторов гидрофобных веществ, привлекают внимание как возможные агенты биомедицины. Это обусловлено уникальными проявлениями биологической активности биосурфактантов, не обнаруживаемыми у синтетических аналогов: способность проявлять антибактериальную, противогрибковую, противовирусную, противоопухолевую или иммуномодулирующую активность в зависимости от структуры молекул. Цель работы – изучение влияния *Rhodococcus*-биосурфактанта и его моноацилтрегалозной фракции на продукцию IL-2, IL-4, IFNγ, IL-17, апоптоз $CD4^+$ и $CD8^+$ спленоцитов при однократном пероральном введении, а также на гуморальный и клеточноопосредованный иммунитет и реакцию «хозяин против трансплантата» (РХПТ) при курсовом пероральном введении *in vivo*. Установлено, что при пероральном однократном введении моноацилтрегалозная фракция *Rhodococcus*-биосурфактанта угнетала КонА-индуцированную продукцию IL-2 и IFNγ, стимулировала выработку IL-4 и не влияла на уровень IL-17 спленоцитами, нефракционированный *Rhodococcus*-биосурфактант оказывал угнетающее действие только на продукцию IFNγ. Пероральное однократное введение мышам моноацилтрегалозы приводило к снижению процента раннего и позднего апоптоза $CD8^+$ лимфоцитов, а также позднего апоптоза $CD4^+$Т-клеток. При этом нефракционированный биосурфактант снижал только процент раннего апоптоза $CD8^+$Т-лимфоцитов. В процессе 24 ч культивирования $CD4^+$ и $CD8^+$Т-лимфоцитов выявлено лишь единичное статистически значимое снижение процента $CD4^+$ клеток в состоянии позднего апоптоза в стимулированных КонА культурах у мышей, получавших моноацилтрегалозу. В условиях курсового перорального введения моноциалтрегалозная фракция приводила к снижению количества ядросодержащих клеток в селезенке, угнетению антителогенеза, а также к подавлению выраженности ре-

Адрес для переписки:
Гейн Сергей Владимирович
Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук
614081, Россия, г. Пермь, ул. Голева, 13.
Тел.: 8 (342) 280-74-42.
Факс: 8 (342) 280-92-11.
E-mail: gein@iegm.ru

Address for correspondence:
Sergey V. Gein
Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms
13 Golev St
Perm
614081 Russian Federation
Phone: +7 (342) 280-74-42.
Fax: +7 (342) 280-92-11.
E-mail: gein@iegm.ru

Образец цитирования:
С.В. Гейн, Ю.Д. Южанинова, М.С. Куюкина, И.Б. Ившина «Влияние моноацилтрегалозной фракции Rhodococcus-биосурфактанта на отдельные показатели иммунной системы при пероральном введении» // Российский иммунологический журнал, 2026. Т. 29, № 2. С. 353-362.
doi: 10.46235/1028-7221-17066-IOM

For citation:
S.V. Gein, Yu.D. Yuzhaninova, M.S. Kuyukina, I.B. Ivshina "Influence of monoacyltrehalose fraction of Rhodococcus biosurfactant on distinct indices of immune system upon oral administration", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskiy Zhurnal, 2026, Vol. 29, no. 2, pp. 353-362.
doi: 10.46235/1028-7221-17066-IOM

DOI: 10.46235/1028-7221-17066-IOM

акций ГЗТ и РХПТ. Таким образом, пероральное введение мышам моноацилтрегалозной фракции *Rhodococcus*-биосурфактанта приводило к снижению продукции Th1-цитокинов, что способствует смещению дифференцировки Th0 в сторону Th2-клеток. Моноацилтрегалоза не оказывала апоптогенного действия и даже, напротив, снижала процент позднего апоптоза $CD4^+$ и $CD8^+$T-лимфоцитов. Следовательно, апоптоз не является одним из возможных механизмов реализации иммуносупрессии, индуцированной компонентами *Rhodococcus*-биосурфактанта.

Ключевые слова: моноацилтрегалоза, Rhodococcus, цитокины, апоптоз, лимфоциты, трансплантат

INFLUENCE OF MONOACYLTREHALOSE FRACTION OF *RHODOCOCCUS* BIOSURFACTANT ON DISTINCT INDICES OF IMMUNE SYSTEM UPON ORAL ADMINISTRATION

Gein S.V.[a, b], Yuzhaninova Yu.D.[a], Kuyukina M.S.[a, b], Ivshina I.B.[a, b]

[a] *Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation*
[b] *Perm State National Research University, Perm, Russian Federation*

Abstract. Over last decade, microbial biosurfactants, being conventionally used as emulsifiers and solubilizers of hydrophobic substances, have attracted attention as potential biomedical agents, due to their unique biological effetcs that are not found in synthetic analogs, i.e., their antibacterial, antifungal, antiviral, antitumor, or immunomodulatory activity depending on the molecular structure. The purpose of the work was to study the effect of *Rhodococcus* biosurfactant and its monoacyltrehalose fraction on the production of IL-2, IL-4, IFNγ, IL-17, apoptosis of $CD4^+$ and $CD8^+$ splenocytes caused by a single oral administration, as well as upon humoral and cell-mediated immunity as well as on host versus graft (HVG) response during a course of *in vivo* oral administration. We have found that a single oral administration of monoacyltrehalose fraction of *Rhodococcus* biosurfactant caused inhibition of ConA-induced production of IL-2 and IFNγ, stimulated IL-4 production and had no effect on IL-17 levels in splenocytes. Unfractionated *Rhodococcus* biosurfactant had an inhibitory effect only on IFNγ production. Oral administration of monoacyltrehalose to mice resulted in decreased percentage of early and late apoptosis of $CD8^+$ lymphocytes, and lower rates of late apoptosis of $CD4^+$T cells. Only the percentage of early apoptosis among $CD8^+$T cells was reduced by unfractionated biosurfactant. During 24 hours in ConA-stimulated cultures from mice treated with monoacyltrehalose, we have found a significantly reduced percentage of $CD4^+$ cells in late apoptosis. When being orally administered, the monocyaltrehalose fraction led to a decreased number of nucleated cells in the spleen, inhibition of antibody levels, as well as milder severity of DTH and HVG responses. Thus, oral administration of the monoacyltrehalose fraction of *Rhodococcus* biosurfactant to mice resulted in decreased Th1 cytokine production, which contributes to a shift in Th0 differentiation towards Th2 cells. The monoacyltrehalose fraction had no apoptogenic effect and, on the contrary, reduced the percentage of late apoptosis of $CD4^+$ and $CD8^+$T lymphocytes. Therefore, apoptosis of lymphoid cells is not a potential mechanism of immunosuppression induced by the components of *Rhodococcus ruber* biosurfactant.

Keywords: monoacyltrehalose, Rhodococcus, cytokines, apoptosis, lymphocytes, transplant

Исследования проведены в рамках государственного задания, номер государственной регистрации темы № 124020500027-7 и 123041400034-2.

Введение

В последнее десятилетие микробные биосурфактанты, наряду с традиционным применением в качестве эмульгаторов и солюбилизаторов гидрофобных веществ, привлекают внимание как возможные агенты биомедицины. Это обусловлено уникальными проявлениями биологической активности биосурфактантов, не обнаруживаемыми у синтетических аналогов: способность проявлять антибактериальную, противогрибковую, противовирусную, противоопухолевую или иммуномодулирующую активность в зависимости от структуры молекул [16]. Микроорганизмы активно синтезируют биосурфактанты, главным образом, при использовании источников углерода с низким сродством к воде, например, углеводородов. Наиболее изученной и широко применяемой подгруппой микробных поверхностно-активных веществ природного происхождения (БиоПАВ) являются гликолипиды, к которым относятся: рамнолипиды, софоролипиды, трегалолипиды и др. [14].

В последние годы обсуждается применение гликолипидных биосурфактантов в биомедицине с акцентом на терапевтическую практику [7, 12]. Наиболее перспективными для применения в качестве иммуномодуляторов являются биосурфактанты, продуцируемые бактериями родов *Mycobacterium*, *Corynebacterium*, *Nocardia* и *Rhodococcus*. Они представлены трегалолипидами, содержащими в молекуле гидрофильный остаток трегалозы, ковалентно связанный с одним или двумя остатками высокомолекулярных жирных (миколовых) кислот [6, 13]. Однако токсичность биоПАВ патогенных продуцентов существенно ограничивает их терапевтическое применение. В сравнении с биоПАВ патогенных бактерий трегалолипиды родококков обладают меньшей токсичностью, что обусловлено меньшей длиной углеродной цепи миколовых кислот [15].

Механизм иммуномодулирующего действия бактериальных гликолипидов основан на их взаимодействии с лектиновыми рецепторами С-типа, экспрессированных на мембране клеток врожденного иммунитета (CLRs). Связываясь с CLRs-рецепторами на клеточной мембране клеток врожденного иммунитета, гликолипид активирует экспрессию транскрипционного фактора NF-κB [11]. Ранее проведенные нами исследования иммуномодулирующего потенциала биосурфактантов, синтезируемых *Rhodococcus ruber*, выявили [2, 3] их способность влиять как на врожденный, так и адаптивный иммунитет. Так, внесение трегалолипидного биосурфактанта *R. ruber* ИЭГМ 231 в культуру моноцитов периферической крови человека в системе *in vitro* стимулировало выработку провоспалительных цитокинов IL-1β, IL-6, TNFα [5, 10], также была отмечена индукция секреции IL-8 нейтрофилами [1]. В системе *in vivo*, напротив, исследуемый трегалолипид оказывал угнетающее влияние на продукцию IL-1β, TNFα и стимулировал секрецию IL-10 [2].

Цель данной работы – изучение влияния *Rhodococcus*-биосурфактанта и его моноацилтрегалозной фракции на продукцию IL-2, IL-4, IFNγ, IL-17, апоптоз $CD4^+$ и $CD8^+$ спленоцитов при однократном пероральном введении, а также на гуморальный и клеточноопосредованный иммунитет и реакцию «хозяин против трансплантата» (РХТП) при курсовом пероральном введении *in vivo*.

Материалы и методы

Все эксперименты были проведены на мышах линии Swiss средней массой 20-22 г. Животные содержались в условиях лабораторного вивария, двухразовом питании натуральным кормом в количестве, соответствующем суточным нормам, при неограниченном доступе к воде. Эксперименты проведены в соответствии с этическими нормами и рекомендациями по гуманизации работы с лабораторными животными и одобрены локальным этическим комитетом ИЭГМ УрО РАН.

Все животные были разбиты на 3 группы: 1-я группа – контрольная, мышам этой группы однократно перорально вводили 2 мкл 0,9% NaCl; 2-я – мыши, которым однократно перорально вводили моноацилтрегалозу (МАТ) в дозе 100 мг/кг; 3-я – мыши, которым однократно перорально вводили нефракционированный биосурфактант в дозе 100 мг/кг. Выделение доминирующей фракции из гликолипидного комплекса *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 231 проводили согласно опубликованной ранее методике [10]. Через 3 ч после введения препаратов животных выводили из эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом и выделяли спленоциты путем гомогенизации селезенки в среде RPMI 1640. Взвесь спленоцитов центрифугировали при 1500 об/мин в течение 10 мин. Получившийся осадок ресуспендировали в среде, проводили подсчет клеток в камере Горяева, необходимый для приготовления концентрации 1×10^7 клеток/мл. Для анализа цитокиновой секреции спленоциты культивировали в течение 24 ч в 96-луночных планшетах при температуре 37 °С. Культивирование проводили в полной культуральной среде, которую готовили на основе среды RPMI 1640 (Gibco, Великобритания) с добавлением 10 mM HEPES (ООО «БиолоТ», Россия), 100 мкг/мл гентамицина (РУП «Белмедпрепараты», Беларусь), 2 mM Glutamax (Invitrogen, США), 1% MEM-заменимых аминокислот (Invitrogen, США), 1 mM натрий пирувата (Invitrogen, США) и 20 мкл фетальной коровьей сыворотки (FCS, ICN) (Invitrogen, США). Для индукции синтеза цитокинов использовали конканавалин А (КонА) в концентрации 20 мкг/мл (MP Biomedicals, Франция).

Оценку концентрации цитокинов IL-17, IL-2, IL-4 и IFNγ проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью иммуноферментных тест-систем R&D Systems (США) и спектрофотометра Infinite M200 (Tecan, Швейцария).

Оценку апоптоза $CD4^+$ и $CD8^+$Т-лимфоцитов проводили в первый день сразу после выведения животных из эксперимента и во второй день после 24 ч культивирования в полной питательной среде. Изолированные селезенки гомогенизировали для получения суспензии спленоцитов. Клетки из суспензии разносили по пробам для анализа на 1-е и 2-е сут. При пробоподготовке для анализа на 1-е сут. эритроциты в суспензии лизировали раствором NH_4Cl с ЭДТА, клетки окрашивали моноклональными антителами PE anti-mouse CD4 и PE anti-mouse CD8 (BioLegend, США) в течение 20 мин в соответствии с инструкцией производителя, после чего клетки отмывали DPBS (Sigma, США) и окрашивали с помощью реагентов Annexin V-FITC/7-AAD kit (Beckman Coulter, США) в соответствии с инструкцией производителя и регистрировали апоптоз лимфоцитов методом проточной цитометрии на проточном цитофлюориметре CytoFLEX (Beckman Coulter, США). Для анализа на 2-е сут. пробы с культивированными спленоцитами готовили аналогичным способом. Путем гейтирования в популяции CD4/CD8 лимфоцитов выделяли 3 субпопуляции клеток, в разной степени окрашенных красителями Annexin V и 7-AAD: жизнеспособные неапоптотические клетки (AnV^-, $7\text{-}ADD^-$); ранние апоптотические клетки (AnV^+, $7\text{-}ADD^-$); поздние апоптотические-некротические клетки (AnV^+, $7\text{-}ADD^+$).

Антителогенез и РХТП оценивали на фоне курсового введения биосурфактанта и моноацилтрегалозной фракции. Для оценки антителогенеза соединения вводили перорально, последовательно, через день, в дозировке 100 мг/кг, в течение 5 сут. Через 3 ч после введения последней дозы животных иммунизировали эритроцитами барана в брюшную полость, в концентрации в 200 мкл физиологического раствора. На 4-й день мышам вводили разрешающую дозу эритроцитов барана в 200 мкл под кожу левой стопы и аналогичный объем физиологического раствора NaCl, 0,9% под кожу правой стопы, для индукции реакции гиперчувствительности замедленного типа. На 5-й день животных выводили из эксперимента методом декапитации под эфирным наркозом. Количество антителообразующих клеток (АОК) оценивали в селезенке методом локального гемолиза в геле агарозы по Ерне. Клеточноопосредованный иммунитет оценивали по выраженности реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ), результаты представляли в виде разницы толщины опытной и контрольной стопы в виде индекса реакции, который рассчитывали по формуле:

$$(Ро - Рк)/Рк \times 100\%,$$

где Ро – показатели массы или толщины в опытной конечности; Рк – то же в контрольной конечности.

Выраженность иммунного ответа на аллогенные спленоциты в РХПТ регистрировали по увеличению клеточности регионального подколенного лимфатического узла [6]. Для моделирования реакции РХПТ использовали модель трансплантации аллогенных обработанных камптотецином спленоцитов с оценкой разницы в клеточности регионального и отдаленного лимфатического узла. МАТ вводили один раз в сутки перорально в дозе 100 мг/кг в течение 7 сут. с момента введения аллогенных спленоцитов. Для этого животным подкожно под апоневроз стопы вводили 100 мкл суспензии аллогенных спленоцитов в дозе 1×10^7, обработанных камптотецином 50 мкг/мл. На 7-е сут. животных выводили из эксперимента, выделяли региональный (правый) и отдаленный (левый) л/у, подсчитывали количество клеток.

Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием непарного t-критерия Стьюдента. Данные представлены в виде средней и стандартной ошибки ($M \pm m$).

Результаты

Установлено, что в КонА-стимулировнанных культурах спленоцитов мыщей при пероральном способе введения МАТ оказывала угнетающее действие на продукцию IL-2 и IFNγ, стимулировала выработку IL-4 и не влияла на уровень IL-17 (рис. 1). По сравнению с очищенной доминирующей фракцией нефракционированный *Rhodococcus*-биосурфактант показал значительно менее выраженный иммуномодулирующий эффект. Биосурфактант статистически значимо снижал продукцию IFNγ, не влияя на секрецию остальных цитокинов. Продукция цитокинов в нестимулированных культурах была ниже предела детекции тест-систем. Таким образом, судя по полученным данным, моноацилтрегалозная фракция *Rhodococcus*-биосурфактанта может обладать выраженным Th2-поляризующим эффектом.

При оценке влияния *Rhodococcus ruber*-биосурфактанта и его моноацилтрегалозной фракции на апоптоз $CD4^+$ и $CD8^+$Т-лимфоцитов было отмечено (табл. 1), что на момент выведения животных из эксперимента процент апоптотирующих Т-лимфоцитов, находящихся на стадии раннего апоптоза, был выше процента лимфоцитов в позднем апоптозе/некрозе. Данный факт

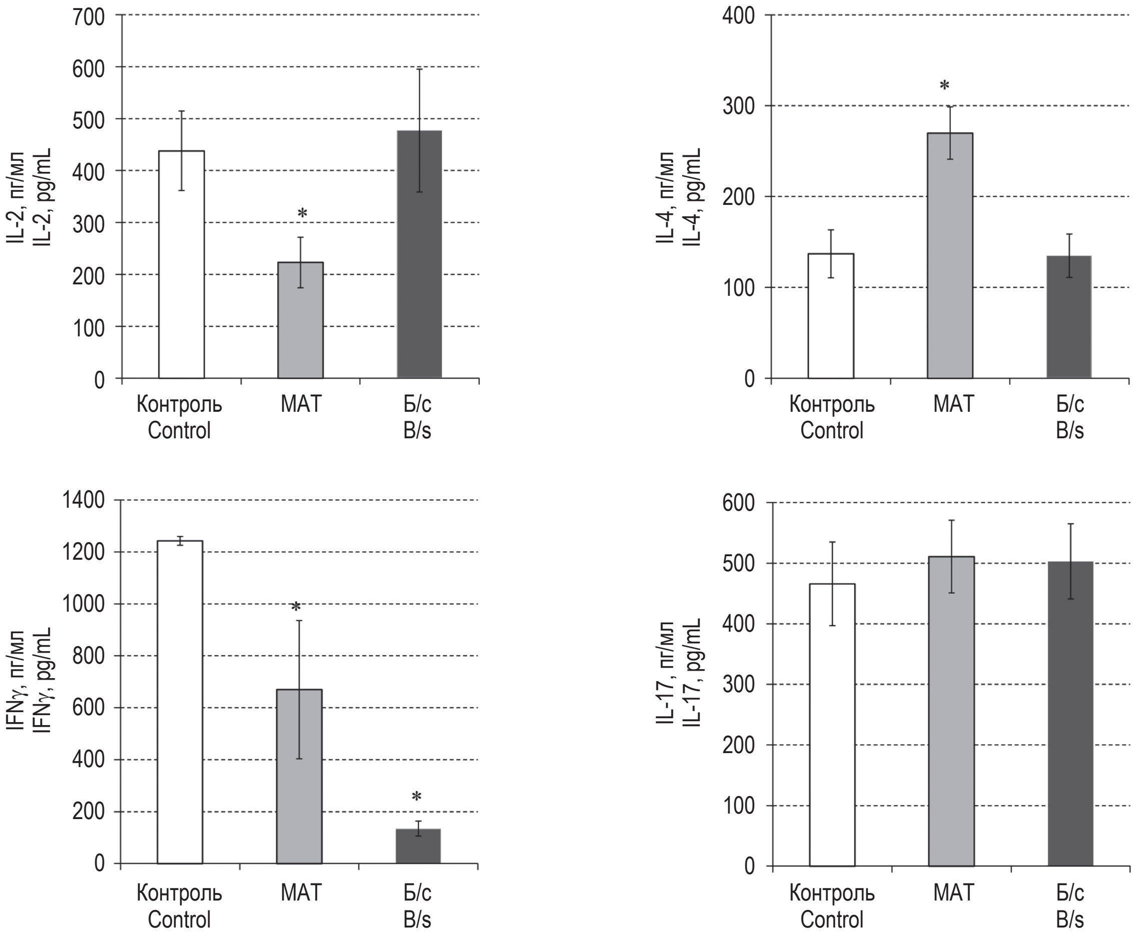

Рисунок. 1. Влияние моноацилтрегалозы и *Rhodococcus*-биосурфактанта на продукцию IL-2, IL-4, IFNγ и IL-17 в стимулированных культурах спленоцитов

Примечание. По оси абсцисс: К – контроль, МАТ – моноацилтрегалоза, Б/с – *Rhodococcus*-биосурфактант; sp – спонтанные пробы, st – стимулированные КонА пробы. * – p < 0,05 к контролю, n = 7.

Figure 1. Effect of monoacyltrehalose and *Rhodococcus* biosurfactant on the production of IL-2, IL-4, IFNγ and IL-17 in stimulated splenocyte cultures

Note. On the abscissa axis: K, control; MAT, monoacyltrehalose; B/s, *Rhodococcus*-biosurfactant; sp, spontaneous tests; st, ConA stimulated tests. *, p < 0.05 in relation to control, n = 7.

ТАБЛИЦА 1. ВЛИЯНИЕ БИОСУРФАКТАНТА *R. RUBER* IEGM 231 И ЕГО МОНОАЦИЛТРЕГАЛОЗНОЙ ФРАКЦИИ НА ПОКАЗАТЕЛИ РАННЕГО И ПОЗДНЕГО АПОПТОЗА В $CD4^+$ И $CD8^+$ СУБПОПУЛЯЦИЙ Т-ЛИМФОЦИТОВ

TABLE 1. EFFECT OF BIOSURFACTANT *R. RUBER* IEGM 231 AND ITS MONOACYLTREHALOSE FRACTION ON EARLY AND LATE APOPTOSIS IN $CD4^+$ AND $CD8^+$T LYMPHOCYTE SUBPOPULATIONS

Экспериментальная группа Experimental group	**Апоптотические лимфоциты, %** Apoptotic lymphocytes, %			
	$CD4^+$		**$CD8^+$**	
	Ранний апоптоз Early apoptosis	**Поздний апоптоз** Late apoptosis	**Ранний апоптоз** Early apoptosis	**Поздний апоптоз** Late apoptosis
Контроль Control	7,50±0,41	3,85±0,34	6,4±0,2	4,29±0,56
МАТ	7,89±0,66	2,93±0,24*	5,11±0,52*	2,26±0,34*
Б/с B/s	7,27±0,60	3,30±0,16	5,37±0,47	3,41±0,46

Примечание. МАТ – моноацилтрегалоза; Б/с – биосурфактант. * – p < 0,05 к контролю, n = 11.

Note. MAT, monoacyltrehalose; B/s, biosurfactant. *, p < 0.05 to control, n = 11.

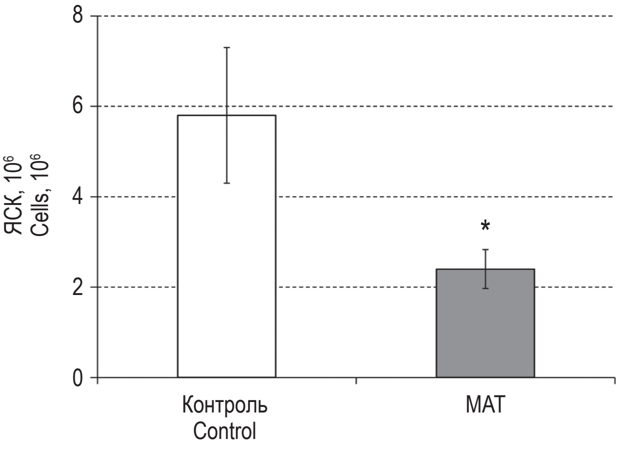

Рисунок 2. Влияние моноацилтрегалозы (МАТ) на разницу в количестве ЯСК между регионарным и отдаленным лимфатическим узлом в РХПТ

Примечание. * – p < 0,05 к контролю, n = 8.

Figure 2. The effect of monoacyltrehalose (MAT) on the difference in the number of cells between regional and distant lymph nodes in the RHVG

Note. *, p < 0.05 in relation to control, n = 8.

свидетельствует о том, что большая часть апоптотирующих клеток либо была активирована, либо только вступила на путь апоптоза и еще сохраняла целостность поверхностной мембраны. Пероральное введение мышам МАТ приводило к снижению уровня раннего и позднего апоптоза $CD8^+$ лимфоцитов, а также к снижению уровня позднего апоптоза $CD4^+$Т-клеток. Нефракционированный биосурфактант снижал только уровень раннего апоптоза $CD8^+$Т-лимфоцитов. На динамику позднего апоптоза биосурфактант статистически значимо не влиял, однако обращает на себя внимание в соответствующих группах животных явная тенденция к снижению процента $CD4^+$ и $CD8^+$Т-клеток.

Помимо этого, мы оценили динамику апоптотических процессов $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-лимфоцитов в процессе 24 ч культивирования в спонтанных и в КонА-стимулированных культурах. В стимулированных КонА культурах процент клеток в состоянии апоптоза был значительно выше, нежели в нестимулированных. Нами был выявлен единичный статистически значимый эффект, заключающийся в снижении процента $CD4^+$ кле-

ТАБЛИЦА 2. ВЛИЯНИЕ БИОСУРФАКТАНТА *R. RUBER* IEGM 231 И ЕГО МОНОАЦИЛТРЕГАЛОЗНОЙ ФРАКЦИИ НА ПОКАЗАТЕЛИ РАННЕГО И ПОЗДНЕГО АПОПТОЗА $CD4^+$ И $CD8^+$ СУБПОПУЛЯЦИЙ Т-ЛИМФОЦИТОВ В 24-ЧАСОВЫХ КУЛЬТУРАХ СПЛЕНОЦИТОВ

TABLE 2. EFFECT OF BIOSURFACTANT *R. RUBER* IEGM 231 AND ITS MONOACYLTREHALOSE FRACTION ON EARLY AND LATE APOPTOSIS IN $CD4^+$ AND $CD8^+$T LYMPHOCYTE SUBPOPULATIONS IN 24 HOUR CULTURES

Экспериментальная группа Experimental group	**Ранний апоптоз, %** Early apoptosis, %			
	$CD4^+$		**$CD8^+$**	
	sp	**st**	**sp**	**st**
Контроль Control	7,19±1,11	29,14±3,46#	7,55±1,22	35,43±4,49#
МАТ	7,78±0,97	33,04±4,16	7,94±0,99	27,12±5,73
Б/с B/s	9,21±1,42	35,55±5,27	7,63±1,44	40,67±5,35
Экспериментальная группа Experimental group	**Поздний апоптоз, %** Late apoptosis, %			
	$CD4^+$		**$CD8^+$**	
	sp	**st**	**sp**	**st**
Контроль Control	14,85±2,61	37,85±5,96#	25,07±6,33	36,48±7,17
МАТ	21,72±3,86	24,74±1,26*	34,39±4,73	37,54±3,00
Б/с B/s	19,99±4,30	25,78±3,29	27,74±6,12	33,10±6,25

Примечание. МАТ – моноацилтрегалоза; Б/с – биосурфактант; sp – спонтанные пробы, st – стимулированные КонА пробы. * – p < 0,05 к контролю, # – p < 0,05 к спонтанным культурам, n = 8.

Note. MAT, monoacyltrehalose; B/s, biosurfactant; sp, spontaneous cultures; st, ConA stimulated cultures. *, p < 0.05 to control; #, p < 0.05 to spontaneous cultures, n = 8.

ТАБЛИЦА 3. ВЛИЯНИЕ БИОСУРФАКТАНТА *R. RUBER* IEGM 231 И ЕГО МОНОАЦИЛТРЕГАЛОЗНОЙ ФРАКЦИИ НА КОЛИЧЕСТВО АОК И ВЫРАЖЕННОСТЬ РЕАКЦИИ ГЗТ ПРИ КУРСОВОМ ПЕРОРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ

TABLE 3. EFFECT OF BIOSURFACTANT *R. RUBER* IEGM 231 AND ITS MONOACYLTREHALOSE FRACTION ON NUMBER OF PLAQUE FORMING CELL AND DTH REACTION WITH A COURSE OF ORAL ADMINISTRATION

Экспериментальная группа Experimental group	**ЯСК** Nucleated cells	**Log АОК/млн** Log PFC/mln	**Log АОК/орг** Log PFC/spleen	**ГЗТ, %** DTH, %
Контроль Control	376,00±36,44	2,80±0,08	5,36±0,07	12,98±3,77
МАТ	203,33±15,26*	2,58±0,12	4,88±0,11*	4,10±1,10*
Б/с B/s	343,50±41,85	3,00±0,07	5,52±0,08	14,88±0,83

Примечание. МАТ – моноацилтрегалоза; Б/с – биосурфактант. * – p < 0,05 к контролю, n = 7.

Note. MAT, monoacyltrehalose; B/s, biosurfactant. *, p < 0.05 to control, n = 7.

ток в состоянии позднего апоптоза в стимулированных КонА культурах у мышей, получавших МАТ. Статистически недостоверная тенденция к угнетению данного параметра прослеживалась в группе животных, получавших биосурфактант. Изменений динамики раннего и позднего апоптоза $CD8^+$Т-лимфоцитов в спонтанных и КонА-индуцированных культурах у мышей, как получавших МАТ, так и нефракционированный биосурфактант, зарегистрировано не было (табл. 2).

Установлено, что в условиях курсового введения моноциалтрегалозная фракция приводила к снижению количества ядросодержащих клеток (ЯСК) в селезенке и, как следствие, к угнетению абсолютного числа АОК, а также подавляла выраженность реакции ГЗТ, в то время как нефракционированный биосурфактант статистически значимого влияния на данные показатели не оказывал (табл. 3). Аналогичные по направленности эффекты были зафиксированы при анализе влияния моноциалтрегалозной фракции на динамику РХПТ. Как видно из рисунка 2, в группе мышей, получавших МАТ, было выявлено статистически достоверное снижение разницы в клеточности между регионарным и отдаленным лимфатическим узлом по сравнению с животными контрольной группы.

Обсуждение

Таким образом, пероральное введение моноацилтрегалозной фракции *Rhodococcus* – биосурфактанта приводит к подавлению функциональной активности спленоцитов, аналогичное тому, что ранее было показано для внутримышечного и внутрибрюшинного путей введения [10]. Этот факт свидетельствует о независимости биологического действия МАТ от пути введения в организм. Как установлено в настоящей работе, моноацилтрегалозная фракция *Rhodococcus*-биосурфактанта не оказывала апоптогенного действия и даже, напротив, снижала уровень апоптоза $CD4^+$ и $CD8^+$Т-лимфоцитов, как непосредственно после выведения животных из эксперимента, так и после 24 ч культивирования. Следовательно, апоптоз не является одним из возможных механизмов реализации иммуносупрессии, индуцированной компонентами *Rhodococcus*-биосурфактанта. Предположительно, снижение апоптотической гибели Т-лимфоцитов связано с увеличением экспрессии белков-ингибиторов апоптоза за счет активации NF-κB, экспрессия которого возрастает при взаимодействии гликолипидов с лектиновыми рецепторами С-типа [11]. В то же время, опираясь на данные исследования [8] о влиянии софоролипидов на дифференцировку макрофагов с провоспалительных на супрессорные, можно предположить, что МАТ также может способствовать поляризации макрофагов в сторону М2-фенотипа. Ранее нами было показано, что при внутримышечном и внутрибрюшинном способах введения моноацилтрегалозная фракция *Rhodococcus*-биосурфактанта модулировала ряд показателей врожденного и адаптивного иммунитета, в частности снижала количество антителообразующих клеток, угнетала продукцию IL-1β, TNFα, IFNγ [2, 10] и стимулировала секрецию IL-10 [10]. Макрофаги, поляризированные в М2-фенотип, продуцируют IL-10, который, в свою очередь, ингибирует секрецию Th1-цитокинов, что смещает дифференцировку Т-лимфоцитов в сторону Th2-клеток.

Ранее нами было показано, что на фоне однократного внутрибрюшинного и внутримышечного введения МАТ наблюдалось угнетение антителогенеза [3]. Данный феномен нашел свое подтверждение и при курсовом пероральном введении, при этом снижение количества АОК зависело от снижения клеточности селезенки, а не от непосредственного угнетения функциональной активности лимфоцитов. Аналогичным образом наблюдалось снижение клеточности регионарного лимфатического узла на фоне введения в стопу аллогенных спленоцитов при РХПТ, что подтверждает наличие иммуносупрессорного эффекта у доминирующего компонента *Rhodococcus*-биосурфактанта.

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о том, что моноацилтрегалозная фракция биосурфактанта *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 231 оказывает угнетающее влияние на адаптивный иммунитет как при однократном, так и при курсовом пероральном введении. Выявленные иммунорегуляторные свойства углеводной фракции *Rhodococcus*-биосурфактанта могут быть использованы для разработки новых лекарственных средств.

Список литературы / References

1. Баева Т.А., Гейн С.В., Куюкина М.С., Ившина И.Б., Кочина О.А., Черешнев В.А. Влияние гликолипидного Rhodococcus–биосурфактанта на секреторную активность нейтрофилов in vitro // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2014. Т. 157, № 2. С. 202-206. [Baeva T.A., Gein S.V., Kuyukina M.S., Ivshina I.B., Kochina O.A., Chereshnev V.A. Effect of glycolipid Rhodococcus biosurfactant on secretory activity of neutrophils in vitro. *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 2014, Vol. 157, no. 3, pp. 202-206.* (In Russ.)]

2. Гейн С.В., Кочина О.А., Куюкина М.С., Клименко Д.П., Ившина И.Б. Влияние моноацилтрегалозной фракции *Rhodococcus*-биосурфактанта на показатели врождённого и адаптивного иммунитета *in vivo* // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2020. Т. 169. № 4. С. 457-461. [Gein S.V., Kochina O.A., Kuyukina M.S., Klimenko D.P., Ivshina I.B. Effects of monoacyltrehalose fraction of Rhodococcus biosurfactant on the innate and adaptive immunity parameters in vivo. *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 2020, Vol. 169, no. 4, pp. 457-461.* (In Russ.)]

3. Куюкина М.С., Ившина И.Б., Гейн С.В., Баева Т.А., Черешнев В.А. In vitro иммуномодулирующая активность биосурфактантного гликолипидного комплекса из Rhodococcus ruber // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2007. Т. 144, № 9. С. 301-305. [Kuyukina M.S., Ivshina I.B., Gein S.V., Baeva T.A., Chereshnev V.A. In vitro immunomodulating activity of biosurfactant glycolipid complex from Rhodococcus ruber. *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 2007, Vol. 144, no. 9, pp. 301-305.* (In Russ.)]

4. Черешнев В.А., Гейн С.В., Баева Т.А., Галкина Т.В., Куюкина М.С., Ившина И.Б. Модуляция цитокиновой секреции и окислительного метаболизма эффекторов врожденного иммунитета под влиянием Rhodococcus-биосурфактанта // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2010. Т. 149, № 6. С. 673-677. [Chereshnev V.A., Gein S.V., Baeva T.A., Galkina T.V., Kuyukina M.S., Ivshina I.B. Modulation of cytokine secretion and oxidative metabolism of innate immune effectors by Rhodococcus biosurfactant. *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 2010, Vol. 149, no. 6, pp. 673-677.* (In Russ.)]

5. Ширшев С.В., Шилов Ю.И., Владыкина В.П. Динамика функциональной активности фагоцитирующих клеток при реакциях трансплантационного иммунитета и ее модуляция женскими стероидными гормонами // Медицинская иммунология, 2000. Т. 2, № 2. С. 205. [Shirshev S.V., Shilov J.I., Vladikina V.P. Dynamics of functional activity of phagocytic cells during transplantation immunity reactions and its modulation by female steroid hormones. *Meditsinskaya Immunologiya = Medical Immunology (Russia), 2000, Vol. 2, no. 2, p. 205.* (In Russ.)]

6. Banat I.M., De Rienzo M.A.D., Quinn G.A. Microbial biofilms: biosurfactants as antibiofilm agents. *Appl. Microbiol. Biotechnol., 2014, Vol. 98, no. 24, pp. 9915-9929.*

7. Cameotra S.S., Makkar R.S. Recent applications of biosurfactants as biological and immunological molecules. *Curr. Opin. Microbiol., 2004, Vol. 7, no. 3, pp. 262-266.*

8. Diaz-Rodriguez P., Chen H., Erndt-Marino J.D., Liu F., Totsingan F., Gross R.A., Hahn M.S. Impact of select sophorolipid derivatives on macrophage polarization and viability. *ACS Appl. Bio Mater., 2018, Vol. 2, no. 1, pp. 601-612.*

9. Gein S.V., Kuyukina M.S., Ivshina I.B., Baeva T.A., Chereshnev V.A. *In vitro* cytokine stimulation assay for glycolipid biosurfactant from *Rhodococcus ruber*: role of monocyte adhesion. *Cytotechnology, 2011, Vol. 63, no. 6, pp. 559-566.*

10. Gein S.V., Yuzhaninova J.D., Kuyukina M.S., Ivshina I.B. Effects of Monoacyltrehalose Biosurfactant from *Rhodococcus ruber* on the *in vivo* Production of IL-2, IL-4, IFN-γ, IL-17. In: Isaeva E., Rocha Á. (eds.). Science and Global Challenges of the 21st Century – Innovations and Technologies in Interdisciplinary Applications. Perm Forum 2022. Lecture Notes in Networks and Systems, 2023, pp. 444-449.

11. Fujiwara Y., Shiba H., Iwase R., Haruki K., Furukawa K., Uwagawa T., Misawa T., Ohashi T., Yanaga K. Inhibition of nuclear factor kappa-B enhances the antitumor effect of combination treatment with tumor necrosis factor-alpha gene therapy and gemcitabine for pancreatic cancer in mice. *J. Am. Coll. Surg., 2013, Vol. 216, no. 2, pp. 320-332.e3.*

12. Gupta S., Pruthi V. Exploiting the Significance of Biosurfactant for the Treatment of Multidrug-Resistant Pathogenic Infections. In: Hemen Sarma, Majeti Narasimha Vara Prasad (eds.). Biosurfactants for a Sustainable Future: Production and applications in the environment and biomedicine. John Wiley & Sons Ltd., 2021, pp. 339-352.

13. Kügler J.H., Muhle-Goll C., Kühl B., Kraft A., Heinzler R., Kirschhöfer F., Henkel M., Wray V., Luy B., Brenner-Weiss G., Lang S., Syldatk C., Hausmann R. Trehalose lipid biosurfactants produced by the actinomycetes *Tsukamurella spumae* and *T. pseudospumae*. *Appl. Microbiol. Biotechnol., 2014, Vol. 98, no. 21, pp. 8905-8915.*

14. Naughton P.J., Marchant R., Naughton V., Banat I.M. Microbial biosurfactants: current trends and applications in agricultural and biomedical industries. *J. Appl. Microbiol., 2019, Vol. 127, no. 1, pp. 12-28.*

15. Sakaguchi I., Ikeda N., Nakayama M., Kato Y., Yano I., Kaneda K. Trehalose 6,6'-dimycolate (cord factor) enhances neovascularization through vascular endothelial growth factor production by neutrophils and macrophages. *Infect. Immun., 2000, Vol. 68, no. 4, pp. 2043-2052.*

16. Satpute S.K., Banat I.M., Dhakephalkar P.K., Banpurkar A.G., Chopade B.A. Biosurfactants, bioemulsifiers and exopolysaccharides from marine microorganisms. *Biotechnol. Adv., 2010, Vol. 28, no. 4, pp. 436-450.*

Авторы:

***Гейн С.В.** — д.м.н., директор Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиала ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук; профессор кафедры микробиологии и иммунологии ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия*

***Южанинова Ю.Д.** — младший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиала ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук*

Authors:

***Gein S.V.,** PhD, MD (Medicine), Director, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences; Professor, Department of Microbiology and Immunology, Perm State National Research University, Perm, Russian Federation*

***Yuzhaninova Yu.D.,** Junior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation*

Куюкина М.С. *— д.б.н., ведущий научный сотрудник, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук; профессор кафедры микробиологии и иммунологии ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия*

Ившина И.Б. *— д.б.н., академик РАН, заведующая лабораторией алканотрофных микроорганизмов Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиала ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук; профессор кафедры микробиологии и иммунологии ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия*

Kuyukina M.S., *PhD, MD (Biology), Leading Researcher, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences; Professor, Department of Microbiology and Immunology, Perm State National Research University, Perm, Russian Federation*

Ivshina I.B., *PhD, MD (Biology), Full Member, Russian Academy of Sciences, Head, Laboratory of Alkanotrophic Microorganisms, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences; Professor of Department of Microbiology and Immunology, Perm State National Research University, Perm, Russian Federation*

Поступила 06.09.2024
Отправлена на доработку 09.09.2024
Принята к печати 24.07.2024

Received 06.09.2024
Revision received 09.09.2024
Accepted 24.07.2024