

**ИММУНОФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОЦЕНКИ НОВОГО БИОСОЕДИНЕНИЯ**

Забокрицкий Н. А. ¹

¹ ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург,
Россия.

ИММУНОФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЕ БИСОЕДИНЕНИЕ
THE IMMUNOPHARMACOLOGICAL HEPATOPROTECTIVE BIOCOMPOSITION

10.46235/1028-7221-17131-IAO

**IMMUNOPHARMACOLOGICAL ASPECTS OF EXPERIMENTAL
EVALUATION OF THE NEW BIOCOMPOUND**

Zabokritskiy N. A. ^a

^a Institute of Immunology and Physiology UrB RAS, Ekaterinburg, Russia.

Резюме

Настоящая публикация посвящена весьма актуальным вопросам в области иммунофармакологии по созданию новых биосоединений из группы пробиотиков и продуцируемых ими биологически активных веществ, а именно разработке нового гепатопротекторного фармакологического лекарственного средства с иммуномодулирующим действием. На сегодняшний день в области современной фармакологии и биотехнологии микроорганизмы сенной палочки являются перспективными и востребованными продуцентами для получения нового класса биосоединений – метабиотиков. Одним из ключевых преимуществ является отсутствие в их составе клеток позволяет существенно снизить иммунную нагрузку на макроорганизм с сохранением функционально-биологического потенциала. При этом, весьма актуальными и далеко нерешенными остаются вопросы разработки, создания и конструирования медицинских иммунобиологических препаратов метабиотиков для применения в фармацевтической, медицинской и биотехнологической сферах. **Цель исследования:** на модели острого токсического гепатита у лабораторных животных экспериментально изучить иммуностропное действие нового биосоединения на показатели клеточного иммунитета. **Материалы и методы:** в работе использовали метаболиты, синтезируемые сенной палочкой, а именно штаммами *Bacillus subtilis* В-23хх, В-99хх1 и В-99хх2. В наших, ранее проведенных исследованиях были показана безопасность и установлен существенный гепатопротективный эффект вышеуказанных штаммов, которые могут быть успешно использованы для конструирования современных гепатопиктов с гепатозащитными свойствами. При этом, весьма актуальным остается неисследованная возможность системного иммуностропного действия этих метабиотических соединений. Острое токсическое поражение печени воспроизводили на белых лабораторных крысах посредством разового перорального введения гепатотропного яда – четыреххлористого углерода. Новое биосоединение в виде суспензии вводили внутривентрикулярно. В эксперименте давали оценку таким показателям, как количественное определение лимфоцитов и антителообразующих клеток, определение фагоцитарной активности и метаболической активности нейтрофилов периферической крови. **Результаты:** установлено, что одновременное применение трех комплексов биологически активных веществ позволяет обеспечить значимый потенцирующий иммуностропный фармакологический эффект. Фагоцитарная активность нейтрофилов возрастала кратно в от 4,9 до 8,1 (в зависимости от исследуемой группы). Это сопровождалось 5,3, 4,1 и 3,0-кратным увеличением количества Т- и В- лимфоцитов. Динамика увеличения количества этих клеток была и на 12-14 сутки эксперимента с возвращением показателей к исходным значениям на 28 сутки. **Обсуждение и выводы:** в результате выполненных исследований установлено, что предлагаемые гепатопротекторные биосоединения обладают и иммуномодулирующим действием, что позволяет рекомендовать его для конструирования новых и

перспективных лекарственных кандидатов группы медицинских иммунобиологических препаратов.

Ключевые слова: пробиотик, бациллы, острый токсический гепатит, биологически активные вещества, клеточный иммунитет, гепатопикты, гепатопротекторы.

Abstract

The publication is devoted to very topical issues in the field of immunopharmacology on the creation of new bio compounds from the group of probiotics and biologically active substances produced by them, namely, the development of a new hepatoprotective pharmacological drug with an immunomodulatory effect. Today, in the field of modern pharmacology and biotechnology, microorganisms of the hay bacillus are promising and in-demand producers for obtaining a new class of bio compounds – metabiotics. One of the key advantages is the absence of cells in their composition, which significantly reduces the immune burden on the macroorganism while maintaining its functional and biological potential. At the same time, the issues of the development, creation and construction of medical immunobiological preparations of metabiotics for use in the pharmaceutical, medical and biotechnological fields remain very relevant and far unresolved. **The purpose of the study:** to experimentally study the immunotropic effect of a new bio compound on cellular immunity using a model of acute toxic hepatitis in laboratory animals. **Materials and methods:** the study used metabolites synthesized by hay bacillus, namely *Bacillus subtilis* strains B-23xx, B-99xx1 and B-99xx2. In our earlier studies, the safety was demonstrated and a significant hepatoprotective effect of the above strains was established, which can be successfully used to construct modern hepatoprotectants with hepatoprotective properties. At the same time, the unexplored possibility of systemic immunotropic action of these metabiotic compounds remains very relevant. Acute toxic liver damage was reproduced in white laboratory rats by single oral administration of a hepatotropic poison, carbon tetrachloride. The new bio compound was administered intragastrically in the form of a suspension. In the experiment, such indicators as quantitative determination of lymphocytes and antibody-forming cells, determination of phagocytic activity and metabolic activity of peripheral blood neutrophils were evaluated. **Results:** it was found that the simultaneous use of three complexes of biologically active substances can provide a significant potentiating immunotropic pharmacological effect. The phagocytic activity of neutrophils increased multiple times from 4.9 to 8.1 (depending on the study group). This was accompanied by a 5.3, 4.1, and 3.0-fold increase in the number of T and B lymphocytes. The dynamics of the increase in the number of these cells was also on the 12th-14th day of the experiment, with the indicators returning to the initial values on the 28th day. **Discussion and conclusions:** as a result of the performed studies, it was found that the proposed hepatoprotective bio compounds also have an immunomodulatory effect, which makes it possible to recommend it for the design of new and promising medicinal candidates for the group of medical immunobiological drugs.

Keywords: probiotic, bacilli, acute toxic hepatitis, biologically active substances, cellular immunity, hepatoprotectants, hepatoprotectors.

1 Введение

Медицинские иммунобиологические препараты – новый фармакологический класс лекарственных средств, наиболее многочисленную группу которых составляют синбиотики, эубиотики, пробиотики, пребиотики и метабиотики [1, 3, 5, 8]. В последние годы все больше внимания уделяются последнему поколению пробиотиков, получаемых из метаболитов. Известно, что биологически активные вещества микробиологического происхождения обладают функционально-биологическим потенциалом и могут являться основой для получения новых фармакологически активных препаратов гепатопротекторов с иммуномодулирующим эффектом [2, 4]. При этом, отсутствие в их составе клеток позволяет существенно снизить иммунную нагрузку на макроорганизм с сохранением функционально-биологического потенциала. В наших, ранее проведенных исследованиях были показана безопасность и установлен существенный гепатопротективный эффект вышеуказанных штаммов, которые могут быть успешно использованы для конструирования современных гепатопиктов с гепатозащитными свойствами [2, 5, 6]. При этом, весьма актуальным остается неисследованная возможность системного иммунотропного действия этих метабиотических соединений. Важно отметить, что одновременное применение трех комплексов биологически активных веществ позволит обеспечить значимый потенцирующий иммунотропный фармакологический эффект.

Цель исследования – дать экспериментальную оценку иммуномодулирующим свойствам новым биосоединениям.

2 Материалы и методы

Биологически активные вещества биосоединений получали в соответствии с общепринятыми в научной литературе методам [7]. Используя ВЭЖХ определяли качественный и количественный состав метабиотиков: протеиново-полисахаридный комплекс 0,22-0,34 мкг/мл; свободные аминокислоты и протеины 0,12-2,1 мкг/мл; пуриновые основания и пиримидиновые основания (аденин 0,22-0,24 мкг/мл; тимин 0,004-0,007 мкг/мл; гуанин 0,004-0,005 мкг/мл; урацил 0,016-0,017 мкг/мл), гексозамин 0,045-0,058 мкг/мл; соединения витаминов: рибофлавин 0,024 мкг/мл; тиамин 0,006 мкг/мл; пиридоксин 0,002 мкг/мл; антибиотические вещества 0,12-0,53%; прочие соединения < 4%. Объектами исследований были метаболиты микроорганизмов рода *Bacillus subtilis*, штаммы В-23хх, В-99хх1 и В-99хх2.

Модель острого печеночного повреждения осуществляли внутригастрально однократно 50% CCl_4 и воспроизводили на половозрелых беспородных крысах из расчета 0,1 г на 1 килограмм массы тела). Метаболиты вводили интрагастрально в течение 10 дней с момента формирования острого

40 токсического гепатита. Наблюдение за животными осуществляли в течение 28
41 суток.

42 В дизайне настоящего исследования было задействовано 36 белых
43 лабораторных беспородных крыс по 6 животных в группе:

44 I – биологически активные соединения микроорганизмов рода *Bacillus*
45 *subtilis*, штаммы В-23хх, В-99хх1 и В-99хх2;

46 II - биологически активные соединения микроорганизмов рода *Bacillus*
47 *subtilis*, штаммы В-23хх и В-99хх1;

48 III - биологически активные соединения микроорганизмов рода *Bacillus*
49 *subtilis*, штаммы В-23хх и В-99хх2;

50 IV – препарат сравнения (урсодезоксихолевая кислота);

51 V – контрольная группа (без лечения);

52 VI – контрольная группа (интактные).

53 В эксперименте давали оценку таким показателям, как количественное
54 определение лимфоцитов и антителообразующих клеток, определение
55 фагоцитарной активности и метаболической активности нейтрофилов
56 периферической крови.

57 Обработку результатов выполняли с использованием параметрического
58 F-критерия, непараметрического W-критерия при уровне значимости $p < 0,05$.
59 Нормальность распределения определяли методом Колмогорова-Смирнова.

60 3 Результаты и обсуждение

61 В результате выполненного эксперимента достоверно установлена
62 иммуностимулирующая активность всех исследуемых биосоединений. Так, в условиях
63 воспроизведенной модели острого токсического повреждения печени
64 регистрировали повышение всех факторов клеточного иммунитета. Прежде
65 всего отмечали увеличение всех исследуемых факторов у V группы, по
66 сравнению с группой VI. Повышение фагоцитарной активности нейтрофилов
67 составило 4,2 раза, достигнув $65,4 \pm 0,41$ опт. ед., а их способность поглощать
68 нитросиним тетразолий увеличилась в 1,9-кратном масштабе. Также было
69 выявлено увеличение численности Т- и В-лимфоцитов: в 2,8 раза до
70 $0,81 \pm 0,24 \cdot 10^6 \cdot \text{см}^{-3}$ и $0,69 \pm 0,12 \cdot 10^6 \cdot \text{см}^{-3}$ соответственно. Количество клеток,
71 продуцирующих антитела, также возросло в 2,5 раза, достигнув
72 $0,168 \pm 0,033 \cdot 10^6 \cdot \text{см}^{-3}$.

73 Фагоцитарную активность нейтрофилов (ФАН) оценивали в динамике,
74 в течение шести дней, которая в первых трех группах возрастала кратно в 8,1,
75 5,8 и 4,9 раз, соответственно. При этом стоит отметить, что все это
76 сопровождалось 5,3, 4,1 и 3,0-кратным увеличением количества Т- и В-

77 лимфоцитов. Динамика увеличения количества этих клеток была и на 12-14
78 сутки эксперимента с возвращением показателей к исходным значениям на 28
79 сутки. Причем более выраженные значения (в 3,2) раза были в группе,
80 получавших биологически активные соединения штаммов В-23хх, В-99хх1 и
81 В-99хх2 по сравнению с остальными экспериментальными группами и в 4,1
82 раза больше, по сравнению с группой контроля (урсодезоксихолевая кислота).
83 Одновременно регистрировали изменение АОК, а именно повышение в 2,3
84 раза в группах I-III. Стоит отметить, что по истечению 14 дней эксперимента,
85 ФАН и их поглотительная активность не возрастала, а имела тенденцию в
86 иммуномодуляции до завершения всего срока эксперимента.

87 4 Выводы

88 Разработанное гепатопротекторное соединение стимулирует клеточный
89 иммунитет, что подтверждается результатами проведенных исследований.
90 Одновременное применение трех комплексов биологически активных веществ
91 позволяет достичь аддитивно-потенцирующий иммуотропный
92 фармакологический эффект.

93 5 Заключение

94 В результате выполненных исследований установлено, что
95 предлагаемые гепатопротекторные биосоединения, обладают и
96 иммуномодулирующим действием. Таким образом, весьма целесообразно
97 рекомендовать разработанные новые биосоединения-метабиотики для
98 создания новых и перспективных и безопасных фармакологических
99 препаратов с иммуномодулирующим эффектами.

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Забокрицкий Николай Александрович – доктор медицинских наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории иммунофизиологии и иммунофармакологии Института иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук;

адрес: 620049 г. Екатеринбург, Первомайская, 106;

телефон: 89221101114;

e-mail pharmusma@rambler.ru

Zabokritskiy Nikolai A. MD, Associate Professor, Senior Researcher of the Laboratory of Immunophysiology and Immunopharmacology of the Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences;

address: 620049 Ekaterinburg, Pervomaiskay, 106;

telephone: 89221101114;

e-mail pharmusma@rambler.ru

Блок 2. Метаданные статьи

ИММУНОФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ
ОЦЕНКИ НОВОГО БИОСОЕДИНЕНИЯ
IMMUNOPHARMACOLOGICAL ASPECTS OF EXPERIMENTAL
EVALUATION OF THE NEW BIOSCOMPOUND

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:
ИММУНОФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЕ
БИОСОЕДИНЕНИЕ
THE IMMUNOPHARMACOLOGICAL HEPATOPROTECTIVE
BIOSCOMPOSITION

Ключевые слова: пробиотик, бациллы, острый токсический гепатит, биологически активные вещества, клеточный иммунитет, гепатопикты, гепатопротекторы.

Keywords: probiotic, bacilli, acute toxic hepatitis, biologically active substances, cellular immunity, hepatopicts, hepatoprotectors.

Иммунологические чтения в Челябинске.

Количество страниц текста – 3,

Количество таблиц – 0,

Количество рисунков – 0.

24.03.2025

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации, выходные данные	ФИО, название публикации на английском	Полный интернет адрес или DOI
1.	Ардатская М.Д., Столярова Л.Г., Архипова Е.В., Филимонова О.Ю. Метабиотики как естественное развитие пробиотической концепции. Рецепт, 2019, 2, 22, 291-298.	Ardatskaya M.D., Stolyarova L.G., Arkhipova E.V., Filimonova O.Yu. Metabiotics as a natural development of a probiotic concept. Recipe, 2019, 2, 22, 291-298. (In Russ.)].	URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=37266050 .
2	Забокрицкий Н.А. Оценка иммуностропного действия пробиотика бацилакт в составе трансдермальных терапевтических систем. Российский иммунологический журнал, 2017, 11, 2(20), 126-129.	Zabokritskiy N.A. Preclinical evaluation of immunotropic action of probiotics bacilack transdermal therapeutic system. Rossiyskiy immunologicheskij zhurnal = Russian Journal of Immunology, 2017, 11, 2(20), 126-129. (In Russ.)	URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=29826623 .
3	Забокрицкий Н.А. Принципиальные направления научных исследований по обоснованию и разработке новых иммунобиологических препаратов. Экспериментальная и клиническая фармакология, 2018, S, 81, 85-86.	Zabokritskiy N.A. Principal directions of scientific research on the justification and development of new immunobiological drugs. Rossiyskiy immunologicheskij zhurnal = Russian Journal of Immunology, 2018, S, 81, 85-86. (In Russ.)	DOI: 10.30906/0869-2092-2018-81-5s-1-306.

4	Забокрицкий Н.А., Сарапульцев П.А. Экспериментальное обоснование возможности создания нового метаболического препарата. Российский иммунологический журнал, 2018, 3, 12(21), 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, 3, 12(21), 295-300. (In Russ.)	DOI: 10.31857/S102872210002398-2.
5	Забокрицкий Н.А. Фармакологическая оценка иммуностропной активности нового гелевого метабиотика на факторы клеточного и гуморального иммунитета при экспериментальном моделировании термических ожогов кожи. Российский иммунологический журнал, 2020, 2, 23, 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, 2, 23, 125-132. (In Russ.)	DOI: 10.46235/1028-7221-314-PAO.
6	Забокрицкий Н.А. Изучение цитопротекторных свойств метаболитов штамма <i>Bacillus subtilis</i> В-9909 на культуре выделенных гепатоцитов. Вестник уральской медицинской академической науки. 2022, Том 19, №3, с. 203-209.	Zabokritskiy N.A. Experimental evaluation of the cytoprotective effect of probiotic metabolites of <i>Bacillus subtilis</i> B-9909 strain on the culture of isolated hepatocytes. Vestnik uralskoy medicinskoy akademicheskoy nauki = Journal of Ural Medical Academic Science, 2022, 3, 19, с. 125-132. (In Russ.)	DOI:10.22138/2500-0918-2022-19-3-203-209.
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	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	URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=26850922

	Т.С., Корн М.Я., Кривопалова Н.С., Лукин И.Н., Мельникова В.А., Нехорошева А.Г., Романова Ю.М., Сидоренко С.В., Скаженик В.Ю., Скала Л.З., Трухина Г.М. Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологических исследований. – СПб: Лань, 2016. – 588 с.	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. - Saint Petersburg: Lan, 2016, 588 p. (In Russ.)	
8		Lee N.K., Paik H.D., Kim W.S. Bacillus strains as human probiotics: characterization, safety, microbiome, and probiotic carrier. Food science and biotechnology, 2019, Vol.28, no. 5, pp. 1297-1305.	DOI: 10.1007/s10068-019-00691-9.