

ВЛИЯНИЕ ЦИТОКИНОВ НА БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЕ КИШЕЧНЫХ МИКРОСИМБИОНТОВ

© 2019 г. И. Н. Чайникова^{1,2}, Е. В. Иванова^{1,2}, Т. А. Бондаренко¹,
Н. Б. Перунова¹, О. Е. Челпаченко¹, И. А. Никифоров¹

*E-mail: inchainicova@yandex.ru

¹ФГБУН Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН,
Оренбург, Россия;

²ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет»
Минздрава РФ, Оренбург, Россия

Поступила: 27.02.2019. Принята: 15.03.2019

Установлено разнонаправленное влияние рекомбинантных цитокинов (TNF α , IL-10) на биопленкообразование кишечных микросимбионтов, которое зависело от концентрации цитокинов, вида и штамма микроорганизмов.

Ключевые слова: цитокины, кишечные микросимбионты, биопленки

DOI: 10.31857/S102872210006995-9

Адрес: 460000, Оренбург, ул. Пионерская, д. 11, Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Чайникова Ирина Николаевна Тел. 89228790981 (моб.).

E-mail: inchainicova@yandex.ru

Авторы:

Чайникова И. Н., д.м.н., ведущий научный сотрудник ФГБУН Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия; профессор кафедры нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Оренбург, Россия;

Иванова Е. В., д.м.н., ведущий научный сотрудник ФГБУН Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Россия; доцент кафедры фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Оренбург, Россия;

Бондаренко Т. А., научный сотрудник ФГБУН Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия;

Перунова Н. Б., д.м.н., профессор РАН, заведующий лабораторией биомониторинга и молекулярно-генетических исследований ФГБУН Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия;

Челпаченко О. Е., д.м.н., ведущий научный сотрудник ФГБУН Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия;

Никифоров И. А., к.г.-мн.н. ведущий научный сотрудник ФГБУН Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия.

ВВЕДЕНИЕ

Некоторые мембранные протеины и липопротеины условно-патогенных микроорганизмов (УПМ), среди которых широко представ-

лены кишечные микросимбионты, способны выполнять роль рецепторов для цитокинов, связывание с которыми приводит к изменению роста, формирования биопленок или вирулентных свойств УПМ [1, 2]. Биопленкообразование (БПО) является одной из основных стратегий выживания микроорганизмов в окружающей среде (в организме человека). Исходя из этого, исследование способности цитокинов взаимодействовать с кишечными микросимбионтами в процессе образования ими биопленок является актуальным с позиции разработки новых селективных средств усиления антимикробной резистентности хозяина.

Целью работы явилось изучение влияния рекомбинантных цитокинов TNF α , IL-10 на БПО кишечных микросимбионтов человека.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.

В работе были использованы рекомбинантные цитокины («Sigma», TNF α – T6674-10UG, IL-10 – I9276-5UG) в концентрации 6; 12,5 и 25 пг/мл (TNF α) и дополнительно концентрация 50 пг/мл – для IL-10. Образование биопленок изучали по методу G.A.O'Toole, R. Kolter [3]. Исследования выполнены на клинических штаммах по 15 изолятов каждого из родов: *Escherichia spp.*, *Klebsiella spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Candida spp.*, *Bi-*

fidobacterium spp., *Lactobacillus spp.*, *Enterococcus spp.*, *Propionibacterium spp.*, *Clostridium spp.* и *Bacteroides spp.* Результаты работы обработаны методами параметрической статистики с использованием критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что рекомбинантные цитокины оказывали разнонаправленный эффект на способность исследуемых культур формировать биопленку, причем направленность действия цитокинов различалась в зависимости от вида, штамма микроорганизмов и концентрации пептидов среде. Так, при добавлении провоспалительного цитокина TNF α в среду культивирования отмечалось достоверное возрастание уровня БПО у большинства культур бифидобактерий и золотистого стафилококка (в 59–70% случаев, $p < 0,05$). Напротив, у 53–80% ($p < 0,05$) штаммов синегнойной палочки, пропиони-, лактобактерий, энтерококков и бактериоидов наличие цитокина в среде оказывало ингибирующее действие на изучаемое свойство. Подобная тенденция выявлялась и для IL-10. У культур энтеробактерий и дрожжевых грибов в 55–97% ($p < 0,05$) случаев способность к БПО в присутствии пептидов существенно не изменялась. Анализ полученных результатов позволил выявить дозозависимый эффект воздействия цитокинов на БПО УПМ, характеризующийся тем, что при увеличении концентрации иммунорегуляторных пептидов в среде сокультивирования отмечалось или нарастание эффекта, или смена направленности действия (стимуляция/ингибирование) цитокинов на БПО изучаемых микроорганизмов. Максимальные изменения наблюдались в высоких концентрациях цитокинов: TNF α – 25 пг/мл и IL-10 – 50 пг/мл. При содержании в среде TNF α 25 пг/мл (опыт) ингибирующий эффект на биопленкообразование изолятов синегнойной палочки составлял $55 \pm 1,2\%$ к контролю ($0,28 \pm 0,03$ ед. против $0,62 \pm 0,05$ ед.), у пропионибактерий – $59 \pm 1,1\%$ ($0,38 \pm 0,01$ ед. против $0,93 \pm 0,05$ ед.), у бактериоидов – $60 \pm 1,3\%$ ($0,27 \pm 0,01$ ед. против $0,67 \pm 0,03$ ед.), у энтерококков $70 \pm 1,5\%$ ($1,09 \pm 0,1$ ед. против $0,32 \pm 0,05$ ед.). Сходная закономерность отмечалась и в отношении стимулирующего эффекта высокой концентрации TNF α для БПО у стафилококков (в опыте $0,92 \pm 0,05$ ед. против контроля $0,48 \pm 0,01$ ед.). По-

добные изменения БПО указанных культур обнаруживались и при сокультивировании с IL-10 в концентрации 50 пг/мл. У бифидобактерий, напротив, увеличение в среде концентрации цитокинов характеризовалось сменой стимулирующего эффекта (TNF α – 6; 12,5 пг/мл и IL-10 – 6; 12,5; 25 пг/мл) на ингибирующий (TNF α – 25 пг/мл и IL-10 – 50 пг/мл).

Полученные данные свидетельствуют о том, что цитокины в зависимости от концентрации оказывали ингибирующее/стимулирующее воздействие на уровень БПО кишечных микросимбионтов. В отношении отдельных штаммов, независимо от концентрации цитокинов, не установлено влияние их на БПО. Наши результаты подтверждают модулирующую роль цитокинов в регуляции БПО микроорганизмов, способную проявляться не только *in vivo*, но и при прямом *in vitro* взаимодействии бактерий с пептидами [2]. Данные свойства цитокинов реализуются взаимодействием их с мембранными рецепторами УПМ, последующим изменением экспрессии генов (стимуляция/альтерация) или прямым вмешательством в образование экстрацеллюлярного матрикса [1]. Указанные эффекты взаимодействия про- и противовоспалительных цитокинов с микроорганизмами могут вносить вклад в поддержание микробной адгезии, длительной персистенции, в увеличение толерантности к антимикробным факторам, что повышает резистентность условно-патогенных микроорганизмов к защите хозяина и может играть значимую роль в патогенезе инфекционно-воспалительных заболеваний.

Работа выполнена при грантовой поддержке проектов фундаментальных научных исследований РФФИ, проект № 19-415-560002.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Högbom M., Ihalin R. Functional and structural characteristics of bacterial proteins that bind host cytokines. *Virulence*. 2017, 8(8), 1592–1601.
2. Lee J-H, Sorbo L., Khine A. A., Azavedo J., Low D. E., Bell D., Uhlig S., Slutsky A. S., Zhang H. Modulation of Bacterial Growth by Tumor Necrosis Factor- α *In Vitro* and *In Vivo*. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2003, 168 (12), 1462–1470.
3. O'Toole G.A., Kolter R. Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signalling pathways: a genetic analysis. *Mol. Microbiol.* 1998, 28 (3), 449–61.

INFLUENCE OF CYTOKINES ON BIOFILM FORMATION OF INTESTINAL MICROSymbionTS

© 2019 I. N. Chainikova^{1,2}, E. V. Ivanova^{1,2}, T. A. Bondarenko¹, N. B. Perunova¹,
O. E. Chelpachenko¹, I. A. Nikiforov¹

*E-mail: inchainicova@yandex.ru

¹FGBUN Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch
of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia;

²GBOU VPO «Orenburg State Medical University» of the Ministry of Health
of the Russian Federation, Orenburg, Russia

Received: 27.02.2019. Accepted: 15.03.2019

The multidirectional effect of recombinant cytokines (TNF- α , IL-10) on the biofilm formation of intestinal microsymbionts was established, which depended on the concentration of cytokines, the type and strain of microorganisms.

Key words: cytokines, intestinal microsymbionts, biofilms

Authors:

Chainikova I. N., ✉ M.D., professor, Leading Researcher Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia; Professor of the Department of Normal Physiology of State Medical University of Russian Federation Ministry of Health, Orenburg, Russia. **E-mail:** inchainicova@yandex.ru;

Ivanova E. V., MD, Leading Researcher Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia; docent of the Department of Pharmaceutical Chemistry, Orenburg State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Orenburg, Russia;

Bondarenko T. A., Researcher Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia;

Perunova N. B., MD, Professor of the Russian Academy of Sciences, Head of the Laboratory of Biomonitoring and Molecular Genetic Research, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia;

Chelpachenko O. E., M.D., Leading Researcher Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia;

Nikiforov I. A., Ph. D., Leading Researcher Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia.