

## CD39 AND CD73 EXPRESSION IN INTERSTITIAL CELLS OF CALCIFIED AORTIC STENOSIS

Golovkin A. S., Zhiduleva E. V., Shishkova A. A.,  
Semenova D. S., Moiseeva O. M., Malashicheva A. B.

Federal Almazov Medical Research Centre, St. Petersburg, Russia

Investigation of CD39 and CD73 expression on interstitial cells of calcified aortic valves of 31 patients was performed. Not significant increase ( $p=0,45$ ) of CD39<sup>-</sup>CD73<sup>+</sup> in cells from tricuspid aortic valves (TAV) comparing with bicuspid valves (BAV) was shown. Only from female patient's valves the difference became significant (BAV – 23,67 (19,43;29,80)%; TAV – 59,34 (49,17;69,55)% ( $p=0,002$ )). These data proves the hypotheses of purinergic signaling involvement in calcification suggesting that it is sex related process.

*Key words:* calcified aortic stenosis, interstitial cells, purinergic regulation

---

---

## РОЛЬ ГОМОСЕРИНЛАКТОНОВ В ВЫЖИВАЕМОСТИ САЛЬМОНЕЛЛ ПРИ ФАГОЦИТОЗЕ

Григорьева О. В., Каримов И. Ф.

ФГБОУ Оренбургский государственный университет,  
Оренбург, Россия

Описано повышение вирулентности сальмонелл в присутствии малых регуляторных молекул. Обнаружено влияние гомосеринлактонов, среди которых наибольшую роль играет N-(3-охо-гексаноил)-гомосеринлактон, на индукцию промотора *rck* у штамма *S. typhimurium* LT2, определяющего резистентность к системе комплемента. Выявлено повышение устойчивости штамма к фагоцитозу в присутствии гомосеринлактонов.

*Ключевые слова:* гомосеринлактон, сальмонеллы, чувство кворума, фагоцитоз

Наиболее развитой системой регуляции вирулентности бактерий, вероятно, является феномен кооперативной чувствительности, или *Quorum Sensing* (QS). В качестве молекул, обеспечивающих межклеточную и межвидовую коммуникацию выступают аутоиндукторы (АИ), среди которых наибольшую роль для грамотрицательных бактерий представляют гомосеринлактоны (ГСЛ) [1].

Некоторые виды бактерий, например, относящиеся к роду *Salmonella*, используют систему чувства кворума для выхода из-под удара комплемента. Однако, у сальмонелл наблюдается иная система QS, отличная от стандартной двухкомпонентной системы грамотрицательных бактерий. Сальмонеллы не продуцируют гомолог гена *LuxI*, однако кодируют гомолог *LuxR*, обозначаемый как *SdiA*, который способен обнаруживать и связывать ГСЛ, про-

изведенные другими видами бактерий. Таким образом, происходит активация генов островка патогенности SPI-1, в том числе гена резистентности системы комплемента (*rck*) [2].

С другой стороны, данные АИ способны оказывать самостоятельное действие на факторы иммунной системы, в частности описано ингибирование пролиферации Т-лимфоцитов и модуляция реакции В-клеток, а также индукция апоптоза макрофагов или нейтрофилов у мышей. Выявлено модифицирующее воздействие ГСЛ, продуцируемых *Pseudomonas aeruginosa*, на процессы хемотаксиса. Holm A. с соавторами обнаружили зависимость повышения фагоцитарной активности человеческих макрофагов от времени взаимодействия и концентрации ГСЛ произведенных *P. aeruginosa*. Помимо этого, известно, что ГСЛ может изменять выработку таких цитокинов

как ИЛ-8, ИЛ-1,  $\alpha$ -ФНО, ИЛ-12 [3]. Несмотря на то, что фагоцитоз является ключевым механизмом врожденного иммунитета, оказалось, что все его этапы могут модифицироваться инфекционными агентами. Сальмонеллы, обладающие способностью блокировать главный процесс фагоцитарной реакции – созревание фаголизосомы, что способствует их выживанию и размножению даже внутри макрофага – клетки с мощным киллерным потенциалом.

В связи с этим целью нашей работы стало определение роли гомосеринлактонов в выживаемости сальмонелл при их фагоцитозе.

В работе использовался рекомбинантный штамм *S. typhimurium* LT2 *rck:lucCDABE*, отвечающий индукцией свечения в ответ на активацию промотора *rck*. Для оценки люминолзависимой хемолуминесценции (ЛЗХЛ) фагоцитов, был использован клинический изолят *Salmonella enteritidis*. В качестве регуляторных молекул были взяты N-бутаноил-, N-гексаноил-, N-3-оксо-гексаноил-, N-деканол- и N-додеканол-гомосеринлактон (Sigma, США), обозначаемые как С4-, С6-, охо-С6-, С10-, С12-ГСЛ соответственно.

Для оценки чувствительности бактерий к ГСЛ был применён биолюминесцентный метод. При воздействии молекул гомосеринлактона на бактериальную клетку, происходит активация промотора чувства кворума, а он, в свою очередь, активирует гены свечения. Оценка уровня свечения проводилась на планшетном люминометре LM-01T (Immunotech, Чехия).

Выделение фагоцитирующих клеток производили в градиенте плотности. Интегральную оценку влияния ГСЛ на окислительный метаболизм нейтрофилов при фагоцитозе оценивали в тесте ЛЗХЛ. С помощью рекомбинантного люминесцирующего штамма *S. typhimurium* LT2, определяли активность фагоцитов биолюминесцентным методом. Помимо этого, использовали бактериологический метод оценки завершенности фагоцитоза в присутствии ГСЛ.

На первом этапе нами было выявлено, какой из используемых ГСЛ обеспечивает эффективный запуск промотора *rck*, что должно регистрироваться по увеличению уровня свечения по сравнению с контрольной пробой. Штамм *S. typhimurium* LT2 с плазмидой *rck::luc* продемонстрировал реакцию по мере убывания на охо-С6-, С6- и С12-ГСЛ. Более деталь-

ное рассмотрение этого вопроса выявило, что максимальный уровень свечения достигается в ответ на охо-С6-ГСЛ в диапазоне концентраций от  $10^{-6}$  до  $10^{-4}$  М, тогда как для С6-ГСЛ максимум наступает при  $5 \cdot 10^{-5}$  М, С12-ГСЛ только на  $10^{-4}$  М, а С4- и С10-ГСЛ не обеспечивали активацию данного промотора.

На втором этапе исследования были изучены закономерности влияния ГСЛ на интенсивность ЛЗХЛ нейтрофилов периферической крови человека, характеризующей активацию их кислородзависимых бактерицидных систем при фагоцитозе.

Уровень свечения респираторного взрыва фагоцитов при фагоцитозе бактерий *S. enteritidis*, проинкубированных с охо-С6-ГСЛ оказался в 1,5 раза меньше, чем бактерий *S. enteritidis* не взаимодействующих с данным аутоиндуктором. Также было выявлено уменьшение респираторного взрыва фагоцитов, разведенных в 2 раза, при фагоцитозе с *S. enteritidis*, обработанных охо-С6-ГСЛ в 2,5 раза. Таким образом, можно сделать вывод, что молекулы ГСЛ активируют экспрессию генов вирулентности сальмонелл, ведущих к снижению фагоцитоза.

Используя бактериологический метод завершенности фагоцитоза, было выявлено, что число колоний сальмонелл, обработанных охо-С6-ГСЛ и проинкубированных с фагоцитами, меньше, чем в пробе без ГСЛ, как в опытной, так и в контрольной пробе. Однако относительно контрольным значениям, число колоний, выращенных в присутствии ГСЛ, больше. Возник вопрос, о влиянии ГСЛ на рост бактерий, для решения которого нами был произведен высеив сальмонелл обработанных и не обработанных охо-С6-ГСЛ. Полученные данные показали, что число колоний бактерий, выращенных без ГСЛ больше. Таким образом, можно предположить, что АИ контролирует скорость роста популяции, не давая бактериям быстро размножаться, тем самым направляя энергию не на размножение, а на активацию факторов вирулентности.

Особенности жизненного цикла, связанные со стадией вирулентности у *S. typhimurium* LT2, предопределили возникновение у них механизмов устойчивости к иммунной системе, в результате экспрессии ряда генов, индуцируемых в ответ на регуляторные молекулы.

Таким образом, выявлено, что промотор *rck* у *S. typhimurium* LT2, определяющий серо-

резистентность, индуцируется в наибольшей степени N-(3-охо-гексаноил)-гомосеринлактоном. Данный аутоиндуктор также влияет на фагоциты, предположительно регулируя экспрессию генов вирулентности сальмонелл, блокирующих фагоцитоз.

Понимание процессов воздействия ауто-регуляторных факторов микроорганизмов на иммунный статус человека позволит с другой стороны рассмотреть инфекционный процесс и разработать методы снижения патогенности бактериальных штаммов через модуляцию системы чувства кворума.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гинцбург А.Л. «Quorum sensing» или социальное поведение бактерий / А.Л. Гинцбург, Ю.М. Романова, Т.С. Ильина // Микробиология. – 2003. – Т. 5. – С. 86-93.
2. Michael, B. SdiA of *Salmonella enterica* is a LuxR homolog that detects mixed microbial communities / B. Michael, J.N. Smith, S. Swift, F. Heffron, B.M. Ahmer // Journal of bacteriology. – 2011. – V. 183. – P. 5733-5742.
3. Holm A. *Pseudomonas aeruginosa* N-3-охо-dodecanoil-homoserine Lactone Elicits Changes in Cell Volume, Morphology, and AQP9 Characteristics in Macrophages // A. Holm, K.E. Magnusson, E. Vikström // Front Cell Infect Microbiol. – 2016. – V. 6. – P. 32.

## ROLE OF HOMOSERINLACTONES IN SALMONELLA SURVIVAL DURING PHAGOCYTOSIS

Grigoreva O. V., Karimov I. F.

Orenburg State University, Orenburg, Russia

Described increase in the virulence of Salmonella in the presence of small regulatory molecules. The influence of homoserine, among which the most important role played by N-(3-охо-hexanoil)-homoserine lactone, on the induction of the promoter *rck* the strain *S. typhimurium* LT2, which determines the resistance of the complement system. Revealed increased resistance of the strain to phagocytosis in the presence of homoserine.

*Key words:* homoserine lactone, Salmonella, quorum sensing, phagocytosis

## ПРОЯВЛЕНИЯ ПЕРВИЧНЫХ ИММУНОДЕФИЦИТОВ В ПОЛОСТИ РТА И ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ

Долгих М.А.<sup>1</sup>, Тузанкина И.А.<sup>1,2</sup>, Саркисян Н.Г.<sup>3,1</sup>,  
Овсебян Н.А.<sup>1</sup>, Болков М.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт иммунологии и физиологии УрО РАН; <sup>2</sup>Областная детская клиническая больница; <sup>3</sup>Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Россия

Целью работы являлось описание характера различных орофасциальных проявлений первичных иммунодефицитов у пациентов регистра Свердловской области в сравнении с данными литературных источников. В результате проведенного исследования удалось проследить значительное соответствие обнаруженных патологических проявлений при одинаковых группах ПИД. Самыми распространенными признаками можно назвать ретенцию молочных зубов, кандидоз слизистой оболочки полости рта, угловой хейлит, множественный кариес в сочетании с проявлениями первичных иммунодефицитов в других органах и системах.

*Ключевые слова:* первичные иммунодефициты, стоматология, проявления в полости рта

**Введение.** Первичные иммунодефициты (ПИД) – наследственные заболевания, обусловленные дефектами генов, контролируемых иммунные реакции. Распространенность