

АНТИЦИТОКИНОВАЯ АКТИВНОСТЬ И СПОСОБНОСТЬ К ПРОДУКЦИИ ЦИТОКИНОПОДОБНЫХ ВЕЩЕСТВ СТАФИЛОКОККОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ СЕКРЕТА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У МУЖЧИН С СИМПТОМАМИ УРОГЕНИТАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ

Карташова О.Л., Пашкова Т.М., Пашина О.А., Морозова Н.В.

ФГБУН «Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза» Уральского отделения Российской академии наук, г. Оренбург, Россия

Резюме. Для того чтобы микроорганизмы состоялись в качестве возбудителей инфекционно-воспалительного заболевания, они должны обладать патогенным потенциалом, каркас которого формируют факторы персистенции, обеспечивающие их защиту от разных эффекторов иммунитета организма хозяина. Ряд микроорганизмов может обладать антицитокиновой активностью (АЦА), в то же время установлено, что микроорганизмы могут синтезировать цитокиноподобные вещества, т.е. фактически проявлять цитокиновую активность. Цель исследования состояла в установлении наличия цитокиноподобных веществ и антицитокиновой активности у штаммов стафилококков, выделенных из секрета предстательной железы у мужчин с симптомами урогенитальной инфекции.

В эксперименте использованы 24 клинических изолята стафилококков разных видов, выделенных из секрета предстательной железы у мужчин с симптомами урогенитальной инфекции. Изучение способности стафилококков вызывать изменение концентрации IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 и TNF α проводили путем соинкубирования взвеси бактерий в физиологическом растворе с раствором цитокинов в соотношении 1:1 (опытные пробы). В качестве контроля использовали раствор цитокинов, внесенный в физиологический раствор. Определение концентрации цитокинов в опытных и контрольных пробах проводили иммуноферментным методом. Антицитокиновую активность (АЦА) выражали в процентах (%) инактивации цитокинов в опыте по сравнению с контролем, цитокиновую активность – в % продукции цитокинов в опыте по сравнению с контролем.

У изученных стафилококков установлена антицитокиновая активность в отношении IL-4 и IL-10, и способность продуцировать IL-6 и TNF α . Вместе с тем среди стафилококков встречались штаммы как проявляющие антицитокиновую активность в отношении IL-8, так и продуцирующие данный цитокин.

У стафилококков разных видов, выделенных из секрета предстательной железы у мужчин с симптомами урогенитальной инфекции, установлено наличие антицитокиновой активности и способности к продукции цитокинов причем их продукция (наличие и уровень) характеризуется внутривидовой

Адрес для переписки:

*Карташова Ольга Львовна
ФГБУН «Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза» Уральского отделения Российской академии наук
460000, Россия, г. Оренбург, ул. Пионерская, 11.
Тел.: 8 (353) 277-44-63.
E-mail: labpersist@mail.ru*

Address for correspondence:

*Kartashova Olga L.
Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch,
Russian Academy of Sciences
460000, Russian Federation, Orenburg, Pionerskaya str., 11.
Phone: 7 (353) 277-44-63.
E-mail: labpersist@mail.ru*

Образец цитирования:

*О.Л. Карташова, Т.М. Пашкова, О.А. Пашина, Н.В. Морозова «Антицитокиновая активность и способность к продукции цитокиноподобных веществ стафилококков, выделенных из секрета предстательной железы у мужчин с симптомами урогенитальной инфекции» // Российский иммунологический журнал, 2021. Т. 24, № 2. С. 257-260.
doi: 10.46235/1028-7221-995-AAA*

© Карташова О.Л. и соавт., 2021

For citation:

*O.L. Kartashova, T.M. Pashkova, O.A. Pashinina, N.V. Morozova "Anticytokine activity and the ability to produce cytokine-like substances of staphylococci isolated from the prostatic secretions in men with symptoms of urogenital infection", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2021, Vol. 24, no. 2, pp. 257-260.
doi: 10.46235/1028-7221-995-AAA
DOI: 10.46235/1028-7221-995-AAA*

вариабельностью. Наиболее активными продуцентами цитокинов среди изученных изолятов явились *S. xylosum*, у которых отмечена также самая высокая антицитокиновая активность в отношении ИЛ-4.

Ключевые слова: цитокиноподобные вещества, антицитокиновая активность, стафилококки, урогенитальные инфекции

ANTICYTOKINE ACTIVITY AND THE ABILITY TO PRODUCE CYTOKINE-LIKE SUBSTANCES OF STAPHYLOCOCCI ISOLATED FROM THE PROSTATIC SECRETIONS IN MEN WITH SYMPTOMS OF UROGENITAL INFECTION

Kartashova O.L., Pashkova T.M., Pashinina O.A., Morozova N.V.

Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Abstract. To be causal agents for infectious and inflammatory diseases, the microorganisms should have a pathogenic potential, the framework of which is based on persistence factors that ensure their protection from various effectors of the host's immunity. There is evidence that some microorganisms can have anti-cytokine activity (ACA), and at the same time, many microorganisms many synthesize cytokine-like substances, thus, in fact, exhibit cytokine activity. The aim of the present study was to establish the presence of cytokine-like substances and anti-cytokine activity in *Staphylococcus* strains isolated from prostate secretions in men with symptoms of urogenital infection. This study involved 24 clinical isolates of different *Staphylococci* types isolated from the prostate gland secretions in men with symptoms of urogenital infection. Ability of staphylococci to cause changes in the IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 and TNF α contents was carried out by co-incubating bacteria suspended in normal saline solution together with cytokine solutions, at a ratio of 1:1 (experimental samples). As a control, a solution of cytokines supplemented by normal saline was used. Concentration of cytokines in experimental and control samples was determined by enzyme immunoassay. Anti-cytokine activity (ACA) was expressed as a percentage (%) of cytokine inactivation in experimental mixtures compared to the controls, cytokine activity, as % of cytokine production in the experimental samples compared to the control.

The studied staphylococci showed anti-cytokine activity against IL-4 and IL-10, and exhibited ability to produce IL-6 and TNF. At the same time, among staphylococci, there were strains both showing anti-cytokine activity against IL-8, and producing this cytokine.

Among different staphylococcal species isolated from prostate secretions in men with symptoms of urogenital infection, the presence of anti-cytokine activity and the ability to produce cytokines was detected; their production (presence and level) was characterized by intraspecific variability. *S. xylosum* proved to be the most active cytokine producer, which also have the highest anti-cytokine activity against IL-4.

Keywords: cytokine-like substances, anticytokine activity, staphylococci, urogenital infections

Введение

Для того чтобы микроорганизмы состоялись в качестве возбудителей инфекционно-воспалительного заболевания, они должны обладать патогенным потенциалом, каркас которого формируют факторы персистенции, обеспечивающие их защиту от разных эффекторов иммунитета организма хозяина [1]. Имеются данные о том, что ряд микроорганизмов может обладать антицитокиновой активностью (АЦА), которая проявляется снижением концентрации ряда рекомбинантных цитокинов при их соинкубировании с супернатантами суточных культур бактерий [2, 7]. В то же время недавно экспериментально установлено, что как грамположительные, так и

грамотрицательные бактерии могут синтезировать ряд цитокинов (цитокиноподобные вещества – ЦПВ) [4, 8], т.е. фактически проявлять цитокиновую активность.

Цель исследования – установить наличие цитокиноподобных веществ и антицитокиновой активности у штаммов стафилококков, выделенных из секрета предстательной железы у мужчин с симптомами урогенитальной инфекции.

Материалы и методы

В опытах использовали 24 клинических изолята стафилококков разных видов: *Staphylococcus intermedius*, *S. gallinarum*, *S. epidermidis*, *S. xylosum*, выделенных из секрета предстательной железы

у мужчин с симптомами урогенитальной инфекции. Изучение способности микроорганизмов вызывать изменение концентрации ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10 и TNF α проводили путем соинкубирования взвеси бактерий в физиологическом растворе (БАК-5) с раствором цитокинов в соотношении 1:1 (опытные пробы). В качестве контроля использовали раствор цитокинов, внесенный в физиологический раствор. Конечная концентрация цитокинов в опытных и контрольных пробах составляла для ИЛ-4 – 20 пг/мл, ИЛ-6 – 50 пг/мл, ИЛ-8 – 50 пг/мл, ИЛ-10 – 50 пг/мл, TNF α – 25 пг/мл.

Опытные и контрольные пробы инкубировали в течение 2 часов (37 °С), реакцию останавливали на холоде, центрифугировали при 3000 об/мин в течение 15 мин (+4 °С) и отбирали супернатант. Определение концентрации цитокинов в опытных и контрольных пробах проводили иммуноферментным анализом с использованием реагентов ООО «Цитокин» (Санкт-Петербург), учет результатов проводили на фотометре StatFax 2100 (США) при длине волны 450 нм. Антицитокиновую активность (АЦА) выражали в процентах (%) инактивации цитокинов в опыте по сравнению с контролем, цитокиновую активность – в % продукции цитокинов в опыте по сравнению с контролем.

Данные обработаны методами вариационной статистики [6].

Результаты и обсуждение

У изученных стафилококков установлена антицитокиновая активность в отношении ИЛ-4 и ИЛ-10 и способность продуцировать ИЛ-6 и TNF. Вместе с тем среди стафилококков встречались штаммы как проявляющие антицитокиновую активность в отношении ИЛ-8, так и продуцирующие данный цитокин.

По 2 штамма (33,3%) *S. intermedius*, *S. epidermidis*, *S. xylosus* и все исследованные *S. gallinarum* характеризовались антицитокиновой активностью в отношении ИЛ-4, с уровнем выраженности признака равным 6,4; 6,8; 14,1; 5,6% соответственно.

Из 24 штаммов стафилококков 23 (95,8%) обладали АЦА в отношении ИЛ-10, уровень ее выраженности составил 34,4% у *S. intermedius*, 31,4% у *S. gallinarum*, 40% у *S. epidermidis* и 33,4% у *S. xylosus*, причем один штамм, относящийся к данному виду, продуцировал ИЛ-10.

Все штаммы *S. epidermidis* и по 2 штамма *S. intermedius* и *S. gallinarum* инактивировали ИЛ-8, средний уровень выраженности признака составил 9,5; 6,9; 5,03% соответственно. По 4 штамма *S. intermedius* и *S. xylosus*, не обладающие антицитокиновой активностью в отношении ИЛ-8, продуцировали данный цитокин (уровень признака 7,6 и 22,6%).

Установлено, что все штаммы *S. gallinarum* и *S. xylosus*, использованные в работе, обладали способностью к продукции ИЛ-6, тогда как у *S. intermedius* антицитокиновая активность в отношении ИЛ-6 отмечена в 33,3% случаев, а у *S. epidermidis* – в 50% случаев. При этом значения признака были максимальными у *S. xylosus* (17,0%) и снижались в ряду *S. gallinarum* (13,1%), *S. intermedius* (8,8%), *S. epidermidis* (5,2%).

Цитокиновая активность в отношении фактора некроза опухолей зарегистрирована у *S. gallinarum* и *S. xylosus* в 100% случаев со средним значением признака, равным 24,8% и 70,0%, у *S. intermedius* – в 66,7% случаев, среднее значение уровня выраженности составило 79,6%, у штаммов *S. epidermidis* признак не обнаружен.

Заключение

Установлено наличие антицитокиновой активности и способности к продукции цитокинов у стафилококков разных видов, выделенных из секрета предстательной железы у мужчин с симптомами урогенитальной инфекции, причем их продукция (наличие и уровень) характеризуется внутривидовой вариабельностью. Наиболее активными продуцентами цитокинов являются *S. xylosus*, у которых отмечена также самая высокая антицитокиновая активность в отношении ИЛ-4. Полученные данные представляют несомненный интерес, поскольку рядом исследователей обсуждается возможное патогенетическое значение продукции ЦПВ бактериями [5]. С другой стороны, высокий уровень антицитокиновой активности свидетельствует о возможном влиянии экзометаболитов стафилококков на локальный цитокиновый баланс, что поддерживает воспалительный процесс [3]. Дальнейшие исследования цитокиновой и антицитокиновой активностей у штаммов стафилококков, выделенных из секрета предстательной железы мужчин с симптомами урогенитальной инфекции, позволят выявить информативные параметры, пригодные для оценки степени тяжести заболевания.

Список литературы / References

1. Бухарин О.В. Персистенция патогенных бактерий. М.: Медицина; Екатеринбург: УрО РАН, 1999. 366 с. [Bukharin O.V. Persistence of pathogenic bacteria]. Moscow: Meditsina; Ekaterinburg: Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 1999. 366 p.

2. Бухарин О.В., Иванова Е.В., Перунова Н.Б., Чайникова И.Н., Никифоров И.А., Бондаренко Т.А. Иммунорегуляторные свойства метаболитов бифидобактерий при эубиозе и дисбиозе толстого кишечника человека // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 2015. № 4. С. 89-96. [Bukharin O.V., Ivanova E.V., Perunova N.B., Chainikova I.N., Nikiforov I.A., Bondarenko T.A. Immunoregulatory properties of metabolites of bifidobacteria in eubiosis and dysbiosis of the human large intestine. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2015, no. 4, pp. 89-96. (In Russ.)]

3. Бухарин О.В., Перунова Н.Б., Чайникова И.Н., Иванова Е.В., Смолягин А.И. Антицитокиновая активность микроорганизмов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 2011. № 4. С. 56-61. [Bukharin O.V., Perunova N.B., Chainikova I.N., Ivanova E.V., Smolyagin A.I. Anticytokine activity of microorganisms. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2011, no. 4, pp. 56-61. (In Russ.)]

4. Зурочка А.В., Дукардт В.В., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Зуева Е.Б., Тяпаева Я.В., Гриценко В.А. Бактерии как продуценты цитокино-подобных веществ // Российский иммунологический журнал, 2017. Т. 11, № 3. С. 374-376. [Zurochka A.V., Dukardt V.V., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Zueva E.B., Tyapaeva Ya.V., Gritsenko V.A. Bacteria as producers of cytokine-like substances. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2017, Vol. 11, no. 3, pp. 374-376. (In Russ.)]

5. Зурочка В.А., Зурочка А.В., Дукардт В.В., Зуева Е.Б., Добрынина М.А., Тяпаева Я.В., Гриценко В.А. Оценка уровней цитокиноподобных веществ в супернатантах культур бактерий // Медицинская иммунология, 2017. Т. 19. № 5. С. 45. [Zurochka V.A., Zurochka A.V., Dukart V.V., Zueva E.B., Dobrynina M.A., Tyapaeva Ya.V., Gritsenko V.A. Assessment of the levels of cytokine-like substances in the supernatants of bacterial cultures. *Meditinskaya immunologiya = Medical immunology (Russia)*, 2017, Vol. 19, no. 5, p. 45. (In Russ.)]

6. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352 с. [Lakin G.F. Biometrics]. Moscow: Higher School, 1990. 352 p.

7. Сычева М.В., Пашкова Т.М., Карташова О.Л., Пашинина О.А., Попова Л.П. Характеристика антицитокиновой активности энтерококков // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН, 2015. № 3. С. 1-6 [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-3/Articles/SMV-2015-3.pdf>. [Sycheva M.V., Pashkova T.M., Kartashova O.L., Pashinina O.A., Popova L.P. Characterization of the anticytokine activity of enterococci. *Byulleten Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN = Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*, 2015, Vol. 3, pp. 1-6. [Electronic resource]. Access mode: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-3/Articles/SMV-2015-3.pdf>.

8. Фомина Л.О., Файзуллина А.И., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Симбирцев А.С., Гриценко В.А. Сравнительная оценка цитокиноподобной активности *Staphylococcus aureus* мультиплексным и иммуноферментным анализом // Российский иммунологический журнал, 2018. Т. 12, № 3. С. 460-465. [Fomina L.O., Fayzullina A.I., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Symbircev A.S., Gritsenko V.A. Comparative evaluation cytokine-like activity of *Staphylococcus aureus* by methods multiplex and ELISA. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2018, Vol. 12, no. 3, pp. 460-465. (In Russ.)]

Авторы:

Карташова О.Л. — д.б.н., доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории персистенции и симбиоза микроорганизмов ФГБУН «Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза» Уральского отделения Российской академии наук, г. Оренбург, Россия

Пашкова Т.М. — д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории персистенции и симбиоза микроорганизмов ФГБУН «Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза» Уральского отделения Российской академии наук, г. Оренбург, Россия

Пашинина О.А. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории персистенции и симбиоза микроорганизмов ФГБУН «Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза» Уральского отделения Российской академии наук, г. Оренбург, Россия

Морозова Н.В. — к.б.н., научный сотрудник лаборатории персистенции и симбиоза микроорганизмов ФГБУН «Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза» Уральского отделения Российской академии наук, г. Оренбург, Россия

Authors:

Kartashova O.L., PhD, MD (Biology), Associate Professor, Leading Research Associate, Laboratory of Persistence and Symbiosis of Microorganisms, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Pashkova T.M., PhD, MD (Biology), Leading Research Associate, Laboratory of Persistence and Symbiosis of Microorganisms, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Pashinina O.A., PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Persistence and Symbiosis of Microorganisms, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Morozova N.V., PhD (Biology), Research Associate, Laboratory of Persistence and Symbiosis of Microorganisms, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Поступила 17.05.2021
Принята к печати 17.06.2021

Received 17.05.2021
Accepted 17.06.2021