

Влияние лактобактерий на кислородный взрыв нейтрофилов в адгезированном состоянии и в суспензии

Научный руководитель – Лотош Наталья Юрьевна

Войтенюк Анастасия Александровна

Студент (магистр)

МИРЭА - Российский технологический университет, Институт тонких химических технологий, Кафедра биотехнологии и промышленной фармации, Москва, Россия

E-mail: voitenook@mail.ru

Нейтрофилы относят к лейкоцитам, выполняющим роль первой линии защиты врожденного иммунного ответа организма от патогенных бактерий, фагоцитирующим патогены, участвующим в противовоспалительных и антимикробных процессах. Нейтрофилы циркулируют в кровотоке непродолжительное время, затем мигрируют в ткани. Они способны связывать бактерии благодаря наличию толл-подобных рецепторов, секретировать антимикробные белки, снижать жизнеспособность патогенов, воздействуя на них активными формами кислорода, вырабатываемыми НАДФН-оксидазой [1].

Лактобактерии представляют нормофлору желудочно-кишечного тракта и влагалища. Основными функциями лактобактерий в организме являются поддержание кислой среды и подавление жизнедеятельности патогенных бактерий. Лактобактерии содержат на поверхности клетки белки поверхностного слоя – S-белки. Благодаря адгезивным и иммуномодулирующим свойствам, белки S-слоя могут входить в состав вакцин, направленных на стимуляцию врожденного иммунитета в качестве носителей антигена. Лактобактерии, входящие в состав естественной микрофлоры, рассматриваются на роль вакцинной платформы [2].

Задачей данной работы являлось исследование взаимодействия различных штаммов лактобактерий с нейтрофилами в двух состояниях: в суспензии (неактивированные клетки) и при адгезии на поверхности (активированные клетки). Кислородный взрыв нейтрофилов в суспензии и при адгезии оценивали методом люминол-зависимой хемилюминесценции (ХЛ). Взаимодействие лактобактерий с нейтрофилами исследовали методом конфокальной микроскопии (адгезия).

Было установлено, что практически все штаммы лактобактерий в концентрации 10^3 - 10^8 кл/мл не вызывают активации кислородного взрыва нейтрофилов, находящихся в суспензии, напротив, лактобактерии подавляют спонтанную ХЛ нейтрофилов (рис. 1). В случае нейтрофилов, адгезированных на поверхности, наблюдалось образование активных форм кислорода при инкубировании с лактобактериями в концентрации 10^7 кл/мл, с *L.acidophilus* в концентрации 10^6 кл/мл (рис. 2). Методом конфокальной микроскопии было показано взаимодействие штамма *L.acidophilus*, окрашенных акридиновым оранжевым, с нейтрофилами (рис. 3). Природа взаимодействия будет изучена в дальнейших исследованиях. Таким образом, было показано, что активация нейтрофилов при адгезии значительно влияет на их взаимодействие с лактобактериями.

Работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт» 5п.5.3

Источники и литература

- 1) Долгушин И.И., Бухарин О.В. Нейтрофилы и гомеостаз. УрО; Екатеринбург, 2001.

- 2) 2) Hynönen, U., Palva, A. Lactobacillus Surface Layer Proteins: Structure, Function and Applications // Applied Microbiology and Biotechnology. 2013. No. 12. P. 5225-5243.

Иллюстрации

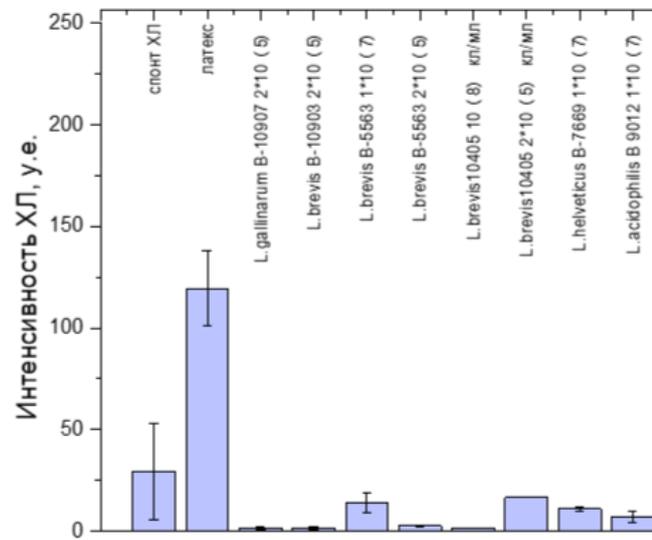


Рис. : Рисунок 1. Влияние различных штаммов лактобактерий в концентрациях 10^5 - 10^8 кл/мл на спонтанный кислородный взрыв нейтрофилов в суспензии. В качестве положительного контроля фагоцитоза и кислородного взрыва использовали латекс. Концентрация нейтрофилов составляет $2 \cdot 10^5$ кл/мл.

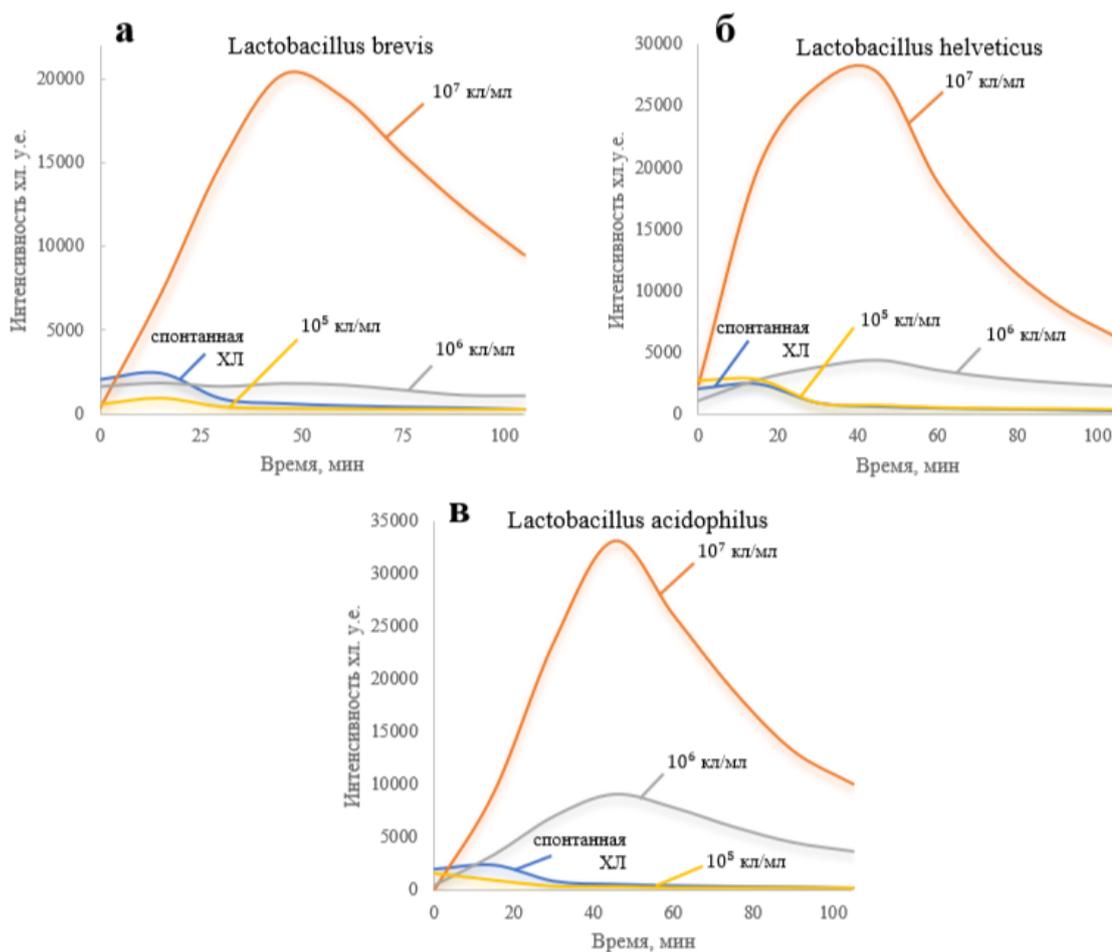


Рис. : Рисунок 2. Кривые люминол-зависимой ХЛ нейтрофилов, адгезированных на планшете, для спонтанной ХЛ нейтрофилов; нейтрофилов, активированных *L. brevis* В-5563 (а); *L. helveticus* В-7669 (б) и *L. acidophilus* В-9012 (в). Концентрация нейтрофилов 2×10^5 кл/мл, ЛБ – 10^5 , 10^6 и 10^7 кл/мл. Приведены типичные кривые для одного из трёх экспериментов.

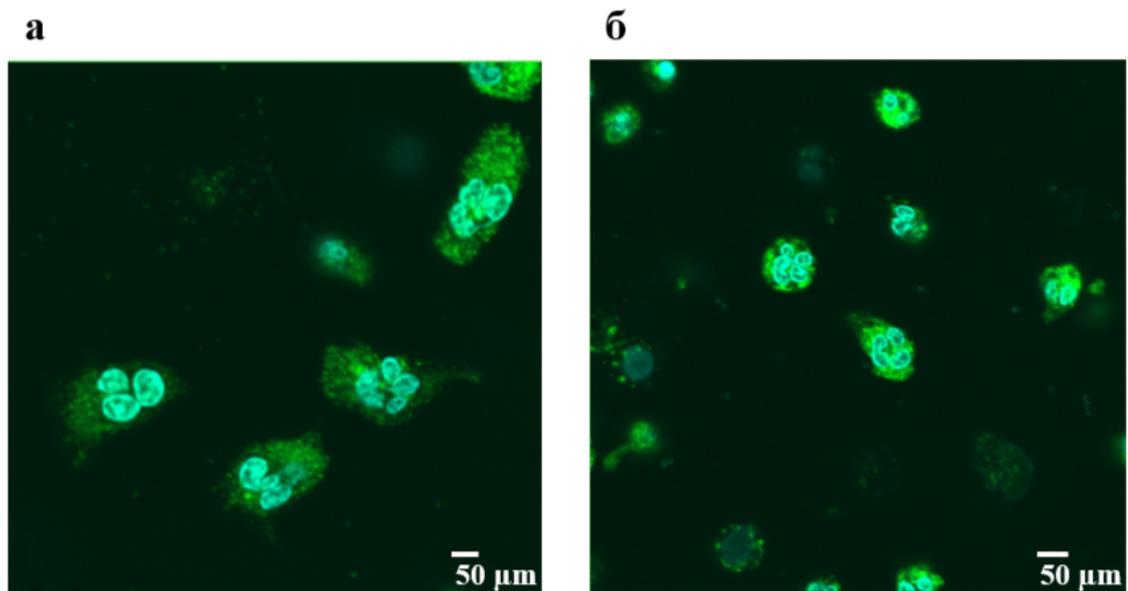


Рис. : Рисунок 3. Конфокальная микроскопия адгезированных на чашках нейтрофилов, инкубированных с *L. acidophilus* на протяжении 10 минут – а, 30 минут – б. Нейтрофилы в концентрации 2×10^5 кл/мл окрашены Hoechst 33342 - голубой, лактобактерии в концентрации 10^7 кл/мл окрашены акридиновым оранжевым - зеленый.