УДК 578.245:615.331

ИЗУЧЕНИЕ ИНТЕРФЕРОНОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ НОВОГО ПРОБИОТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА DEL-IMMUNE V®

Совместное исследование Института микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАНУ, Киев, Украина, и компании Pure Research Products, LLC (Boulder, Colorado, USA)

Представлена оценка влияния препарата Del-Immune V® на интерфероновый статус организма мышей при пероральном введении. Показано, что препарат Del-Immune V®, сухой ферментативный лизат штамма Lactobacillus rhamnosus V, содержащий мурамил пептиды и фрагменты ДНК, в диапазоне доз 5 -500 мг/мышь (оптимум 50 мкг/мышь) является активными индуктором ИФН, влияет на продукцию фактора некроза опухоли в системах in vivo и in vitro. Его индуцирующая активность сопоставима с показателями, полученными при использовании комплексного пробиотика Бифидим. Уровень цитокин индуцирующей активности, безопасность перорального введения в сочетании с природным происхождением Del-Immune V® позволяют ему занять достойное место среди современных иммуномодулирующих лекарственных средств.

Ключевые слова: Del-Immune V®, Бифидим, пробиотики, мурамил пептиды, ДНК, интерферон, фактор некроза опухолей, иммуномодулирующие свойства.

Среди большого количества известных к настоящему времени оздоровительных продуктов на основе молочнокислых бактерий все более растущей популярностью пользуется Del-Immune V®, иммуномодулятор, в состав которого входят фрагменты ДНК и пептидогликана клеток штамма Lactobacillus rhamnosus V. Del-Immune V® зарегистрирован в 2002 году U.S. Food and Drug Administration в качестве пищевой добавки для быстрой поддержки иммунной системы. Препарат выпускается компанией Pure Research Products, LLC (Boulder, Colorado, USA). Del-Immune V®, как препарат сопровождения, проявил высокую эффективность в случае инфекционных заболеваний вирусной (грипп, гепатит С) бактериальной (бронхит), грибковой природы, аллергических состояниях различной степени тяжести, астме, в случае хронической усталости, фибромиалгиях. Однако остается, не понятен механизм такой широкой биологической активности препарата. Последние 5 лет характеризовались повышенной активностью в

исследовании механизмов иммунобиологического действия пробиотиков и препаратов бактериального происхождения [1-6,8-11]. Так, на сегодняшний день препараты бактериального происхождения лиастен (бластен), деодан, ликопид, продигиозан, сальмозан, нуклеинат натрия, МК (молекулярный комплекс дрожжевая РНК и тилорон), биостим, БЦЖ, румуртид, рибомунил, лактолен и др., эффективно используются как экспериментально, так и клинических условиях при различных патологических состояниях. [1-4]. Показано, что адювантное действие БЦЖ и иммуномодулирующая активность препаратов, в состав которых входят дериваты лактобактерий – лиастен (бластен, Lactobacillus delbrueckii) и деодан (Lactobacillus bulgaricus) связана с пептидогликанами и их структурными компонентами мурамоилдипептидами (МДП) – MurNac-L-Ala- D-Glu-NH_2, которые проявляют адьювантное и плейотропное действие, а так же способны индуцировать ряд цитокинов: IL-1, фактор некроза опухолей (ФНО-α), IL-2, IL-6, IL-8, IL-12 и интерферон гамма (ІФН-γ), которые в свою очередь усиливают неспецифичную цитотоксичность нормальных и сенсиблизированых лимфоцитов, естественных клеток киллеров (ЕКК), координируют иммунный ответ организма в зависимости от природы агрессивного агента соответственно до дифференциации Т-хелперов в направлении Th1 или Th2 субпопуляции [3-6]. Такие свойства пептидогликанов, являются основанием для создания иммуномодулирующих препаратов для клинического применения, а лактобактерии как представители группы GRAS («generally recognized as safe») являються наиболее оптимальным их источником. Сайты связывания (Toll-like receptors) TLR4 и TLR2 для МДП и пептидогликанов были идентифицированы на поверхности лимфоцитов и макрофагов [7]. Особенное внимание исследователей привлекают и фрагменты ДНК пробиотических лактобактерий, благодаря их способности стимулировать генерацию цитотоксических лимфоцитов, ЕКК, активировать систему комплемента, цитостатическую и цитотоксическую активность макрофагов, регулировать продукцию иммунорегуляторных цитокинов [5,10]. Так, ДНК шт. Lactobacillus rhamnosus GG, благодаря TTTCGTTT мотивам, выявилась фактором, обуславливающим иммунобиологическую активность этого пробиотического продуцента [11]. Так, CpG ДНК распознаються при участии – TLR9 и TLR10, которые экспрессируються в внутриклеточных (ендосомы) компартаментах клетки. Распознавание CpG ДНК при помощи TLR9 и TLR10 ведет к активации нейтрофилов и продукции цитокинов [7,13,14]

Целью нашего исследования явилось изучение некоторых механизмов иммуномодулирующего действия Del-Immune V® и его влияния в зависимости от дозы на продукцию иммунорегуляторных цитокинов в системах in vivo и in vitro.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ:

Дозозависимое влияние Del-Immune V® на продукцию иммунорегуляторных цитокинов изучали на беспородных мышах весом 14-16 г. Животные, подобранные по принципу аналогов, были разделены на 7 групп по 20 голов в каждой. Мышам первой, второй и третьей групп на протяжении 5 дней с интервалом в 24 часа вводили per os по 0,5 мл водного раствора Del-Immune V® в дозах соответственно группам (5, 50, 500 мкг/мышь). Мышам четвертой опытной группы вводили в течении 5 дней перорально по 0,5 мл водной взвеси препарата Бифидим (контрольный пробиотичный препарат) в дозе 50 мкг/мышь. Бифидим – сухая масса антагонистичных бифидобактерий, иммобилизированных на энтеросорбенте, в соединении с аскорбиновой кислотой (ТОВ «Интерветмед», Киев, Украина). Мышам пятой контрольной группы вводили по 0,5 мл 0,15 М NaCl. В шестой и седьмой группах изучали интерфероногенную активность Del-Immune V® и Бифидим при однократном введении в дозе 50 мкг/мышь. Продукцию цитокинов ИФН и ФНО определяли у интактных и опытных мышей через 8 часов и каждые 24 часа в течение 5 суток после начала введения препаратов. Для этого по несколько мышей из каждой группы забивали методом цервикальной дислокации и получали сыворотку крови животных [15], макрофаги перитонеального эксудата (МФПЭ) [16], а так же селезенку [17], из которой выделяли спленоциты [18].

Для подбора оптимальной дозы Del-Immune V® при индукции имунорегуляторних цитокинов in vitro спленоциты, МФПЕ ($1x10^7$ кл/мл) опытных и интактных мишей культивировали с препаратом в конечной концентрации 5, 50, 500 мкг/мл. Оценку интерфероногенной способности исследуемых препаратов проводили по отношению к препарату Бифидим 50 мкг/мл и стандартным индукторам (α-ИФН, вирус болезни Ньюкасла - 10 $ТЦД_{50}$/клетку, γ-ИФН, фитогемаглютинин - 20 мкг/мл, Difco, ФНО, LPS E. Coli 0111 – 4 мкг/мл, «Sigma» США). Через 6, 24 и 48 часов после инкубации клеток с препаратами в культуральной среде определяли уровень продуцированных цитокинов: ИФН и ФНО.

Биологическую активность ФНО оценивали по цитотоксическому действию на перевиваемой культуре фибробластов мыши L-929 [15]. Результат учитывали на мультискане (“Dynatceh” Швейцария) при длине волны 540 нм, вычисляя цитотоксический индекс по формуле ЦИ = К-О/Кх100%, где К и О - показания ОП для

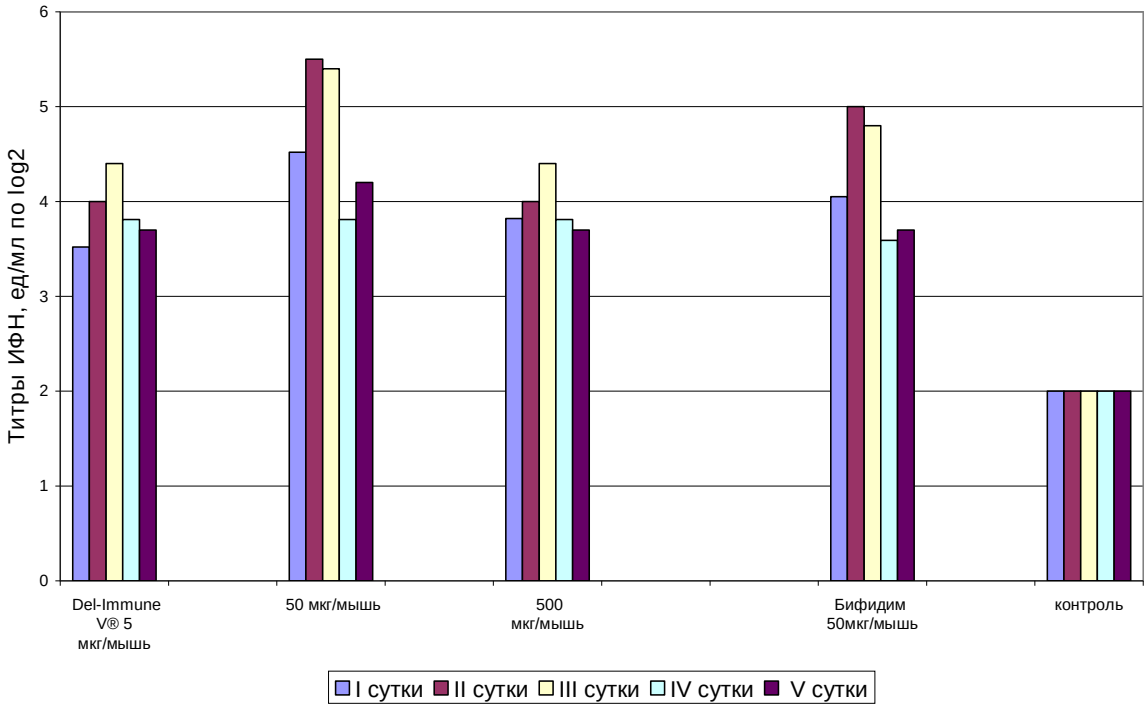
клеток в среде культивирования (RPMI 1640 с 10% FCS) и обработанных исследуемым образцом соответственно. По калибровочной кривой, построенной на основе стандартного препарата рекомбинантного ФНО “Sigma”, значение цитотоксического индекса переводили в стандартные величины [19].

Уровень ИФН в культурах клеток и сыворотках крови определяли согласно стандартной методике микротитрования в перевиваемой культуре клеток L-929, против 100 ТЦД 50 вируса-индикатора (вирус везикулярного стоматита шт. Индиана ВВС) в условиях постоянного уровня CO_2 [15]. Для оценки достоверности отличий средних величин титров ИФН использовали t- критерий Стьюдента [20].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ:

Ежедневное пероральное введение в течение 5 дней препаратов Del-Immune V® или Бифидим мышам в дозах 5, 50, 500 мкг/мышь вызывало существенное увеличение уровня интерферона в сыворотке крови животных. Оптимальной интерфероногенной дозой выявилась доза 50 мкг/мышь. Так, на 24 час наблюдения уровень циркулирующего ИФН достигал 4,5 $\log_2$ ед/мл ($P>0,05$), при повторном введении 5,5±0,7 $\log_2$ ед/мл ($P>0,05$) против 2,0±0,7 $\log_2$ ед/мл в контроле. Дальнейшее введение Del-Immune V® в дозе 50 мкг/мл на 3 сутки позволило поддерживать достигнутый уровень 5,5±0,5 $\log_2$ ед/мл. Введение препарата на 4 сутки вело к некоторому снижению уровня циркулирующего ИФН. Аналогичные закономерности выявлены при введении Del-Immune V® в дозах 5 и 500 мкг/ мышь. Рис.1.

Рис. 1 Интерфероногенная активность Del-Immune V® и Бифидим в системе in vivo



Однократное пероральное введение Del-Immune V® или Бифидим мышам в дозе 50 мкг/мл сопровождалось повышением уровня циркулирующего интерферона на 8 час наблюдения. Наиболее высокий уровень ИФН в сыворотке крови отмечали на 24 час после введения препаратов, у интактных животных уровень интерферона не изменялся (табл.1).

Табл.1

Титры ИФН в сыворотке крови мышей после однократного введения препаратов Del-Immune V® и Бифидим

Опытные препараты в дозе 50 мкг/мл	Титры сывороточного ИФН		
	8 час	24 час	48 час
Del-Immune V®	4,0 log2*	4,4 log2*	3,41log2*
Бифидим	3,6 log2*	4,0 log2*	2,7 log2
Контроль	2,0 log2	2,0 log2	2,0 log2

Примечание * - $P<0,05$; **

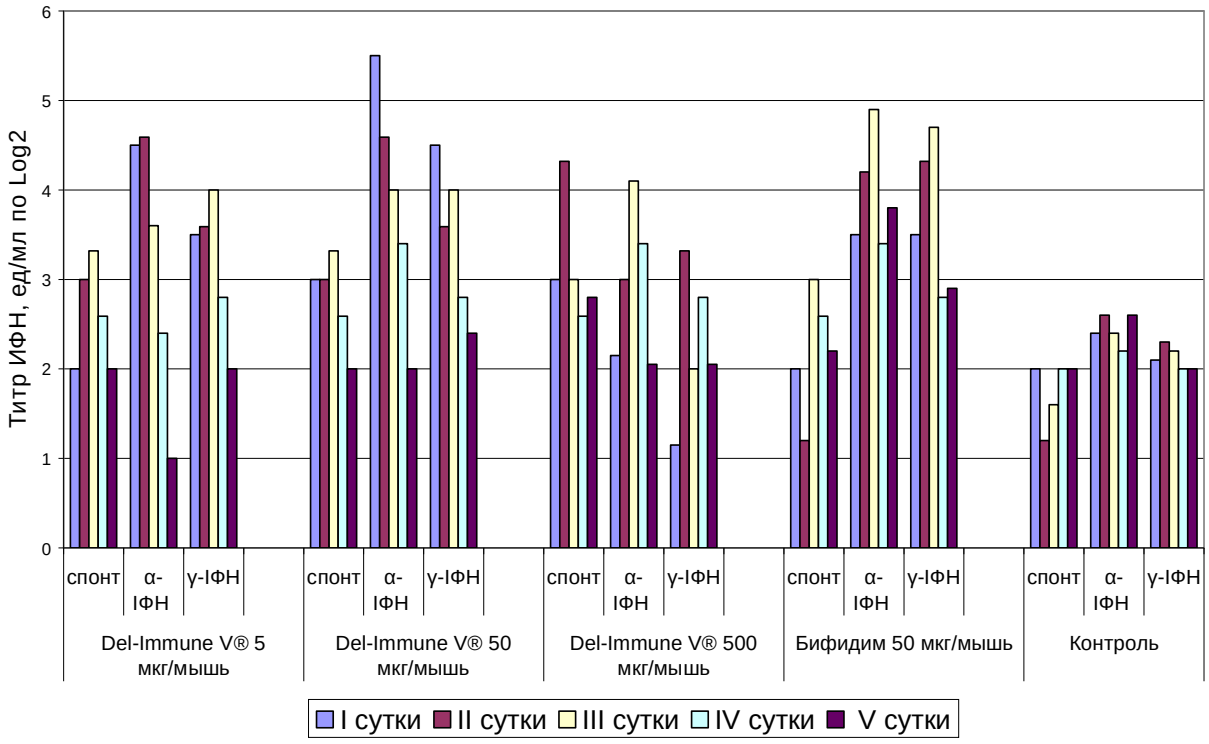
Через 48 час после введения Del-Immune V® уровень ИФН в сыворотке крови оставался достоверно повышен по сравнению с контролем. В последующем ИФН элиминировался из организма. Для поддержания значительного уровня циркулирующего ИФН необходимо повторное введение препаратов.

С целью проведения сравнительного анализа эффективности интерферонообразования в системе in vivo под влиянием препаратов, которые представляют собой живые клетки бифидобактерий (Бифидим) или структурные

компоненты L.rhamnosus - Del-Immune V®, проведено изучение интерферонсинтезирующей активности лейкоцитов.

Культивирование спленоцитов мышей, которые получали опытные препараты, с индукторами ВБН или ФГА вызывало 2 кратное увеличение интерферонового ответа сравнительно с клетками интактных животных (Рис 2). Следовательно, опытные препараты позитивно влияют на состояние иммунореактивности организма, которую оценивают при помощи интерферонового статуса. Определение ИФН - статуса включает такие показатели: титр циркулирующего в крови ИФН (сывороточного ИФН); уровни продукции ИФН-α и ИФН -γ иммунокомпетентными клетками в ответ на адекватную стимуляцию in vitro; и уровень продукции спонтанного ИФН.

Рис 2. Интерфероновый статус мышей на фоне перорального введения Del-Immune V® и Бифидим

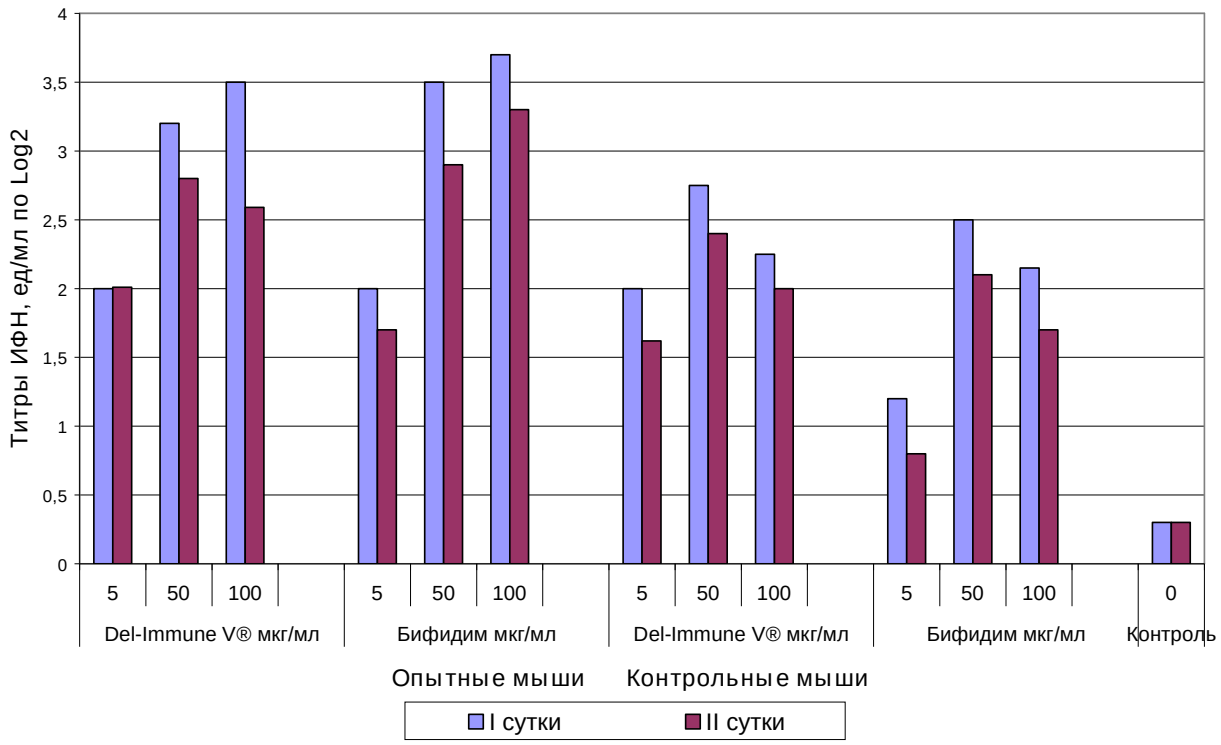


Способность к повышенной продукции α-ИФН и γ-ИФН под влиянием соответствующих индукторов ИФН наблюдалась у спленоцитов, как через 24, 48 так и через 72 часа после введения опытных препаратов. Одним из ограничений использования индукторов ИФН является развитие состояния гипореактивности - угнетение продукции ИФН в ответ на повторное введение препарата. Критерием оценки рефрактерности животных были уровни продукции α- и γ -ИФН в ответ на адекватную стимуляцию.

Снижение продукции ИФН-α и ИФН-γ под влиянием Del-Immune V® отмечали на 4 сутки после первого введения препарата с последующим постепенным восстановлением способности иммуноцитов к продукции интерферона. Так, на 5 сутки эксперимента отмечали активацию интерферонсинтезирующей способности спленоцитов. Таким образом, показано, что ежедневное введение препарата Del-Immune V® сопровождается естественной саморегуляцией системы интерферона с последующим востановлением продукции этого цитокина. Введение пробиотических препаратов Del-Immune V® и Бифидим мышам в оптимальных дозах стимулирует продукцию ИФН, а так же повышает эффективность других индукторов интерфероногенеза.

Преинкубация МФПЭ опытных и контрольных животных с препаратами Del-Immune V® и Бифидим вызывала стимуляцию синтеза цитокинов (ИФН и ФНО). Рис. 3. и 5.

Рис. 3. Интерфероногенная активность Del-Immune V® и Бифидим в культуре МФПЭ интактных и опытных мышей.



Внесение исследуемых препаратов Del-Immune V® или Бифидим в дозах 5,10,100 мкг/мл к МФПЭ полученных от опытных и интактных мышей вызывало синтез ИФН.

Следует отметить, что интерфероногенная активность супернатантов зависела от концентрации опытных препаратов, которые были внесены к МФПЭ. Так, при концентрации 5 мкг/мл отмечена незначительная продукция ИФН, чем при исследовании 50 и 100 мкг/мл. В то же время использование концентраций 50 и 100 мкг/мл вызывало

накопление близких по значению титров стимулированного ИФН, что позволяло заключить о возможности снижения дозы Del-Immune V® до 50 мкг/мл.

Наиболее высокие уровни ИФН в супернатантах выявлены на 1 сутки культивирования клеток с опытными препаратами. Так, МФПЭ полученные от интактных мышей, менее интенсивно продуцировали ИФН в ответ на индукцию препаратами, сравнительно с МФПЭ опытных мышей.

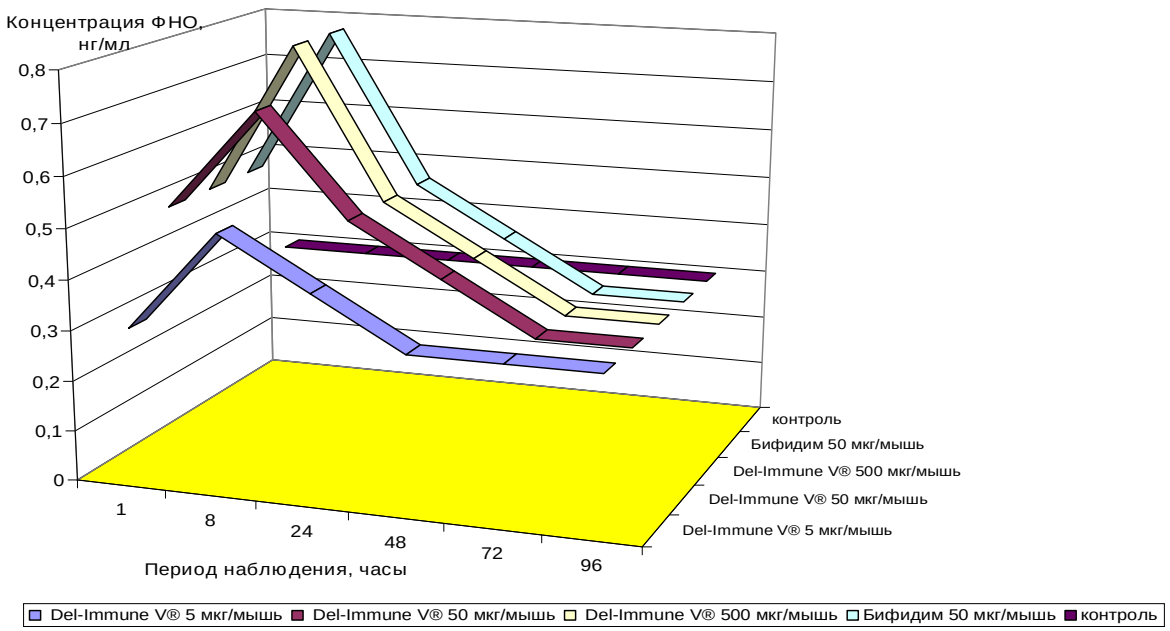
Прогревание образцов сыворотки крови животных, которые получали Del-Immune V® или Бифидим, в течение 30 мин при t 60^0 С или экспозиция при pH 2,5 в течение суток снижало их способность угнетать репродукцию ВВС в культуре клеток $L_{929.}$ Проведенные исследования свидетельствовали о том что, по своим физико-химическим свойствам полученный ИФН принадлежит к α/β - и γ- ИФН [21].

Известно, что продуцентами ИФН-γ являються сенсибилизированные Т - лимфоциты с фенотипом $CD4^+$ и $CD8^+$, а также ЕКК. ИФН-γ проявляет широкий спектр иммунотропного действия, обеспечивает дифференцировку Т- хелперов в направлении Th_1 субпополяции, стимулирует экспрессию на мембранах антигенов HLA-DR, без которых невозможно распознавание бактериальных антигенов, и дальнейшая активатия Т-лимфоцитов, в том числе Т-хелперов, которые стимулируют антителообразование, а так же Т-хелперов, стимулирующих созревание природних клеток киллеров, и некоторых субпопуляций В- лимфоцитов. Кроме того, ИФН-γ принимает участие в иммунных реакциях клеток макрофагального ряда, индуцирует продукцию ФНО и ИЛ-1 [22], которые модулируют функции макрофагальних клеток [23].

Именно поэтому параллельно в сыворотке крови опытных мышей определяли уровень ФНО, плейотропного цитокина, который продуцируется премированными моноцитами и макрофагами, а также лимфоцитами и ЕКК. Известно, что ФНО - играет центральную роль в иммунном ответе макроорганизма при вирусных, бактериальных, паразитарных и грибковых инфекциях [24, 25, 26].

Пероральное введение препаратов Del-Immune V® или Бифидим в дозах 5,50,500 мкг/мышь вело к образованию эндогенного ФНО. Уровни сывороточного ФНО при пероральном введении препаратов Del-Immune V® и Бифидим в дозе 50 мкг/мл достигали соответственно 0,6 нг/мл ($P<0,05$) и 0,8 нг/мл ($P<0,05$) в контроле 0,3 нг/мл. Максимальную продукцию данного цитокина отмечали через 8 часов после введения этих препаратов. Рис.4.

Рис.4 Динамика накопления ФНО в сыворотках крови мышей под влиянием Del-Immune V® и Бифидим

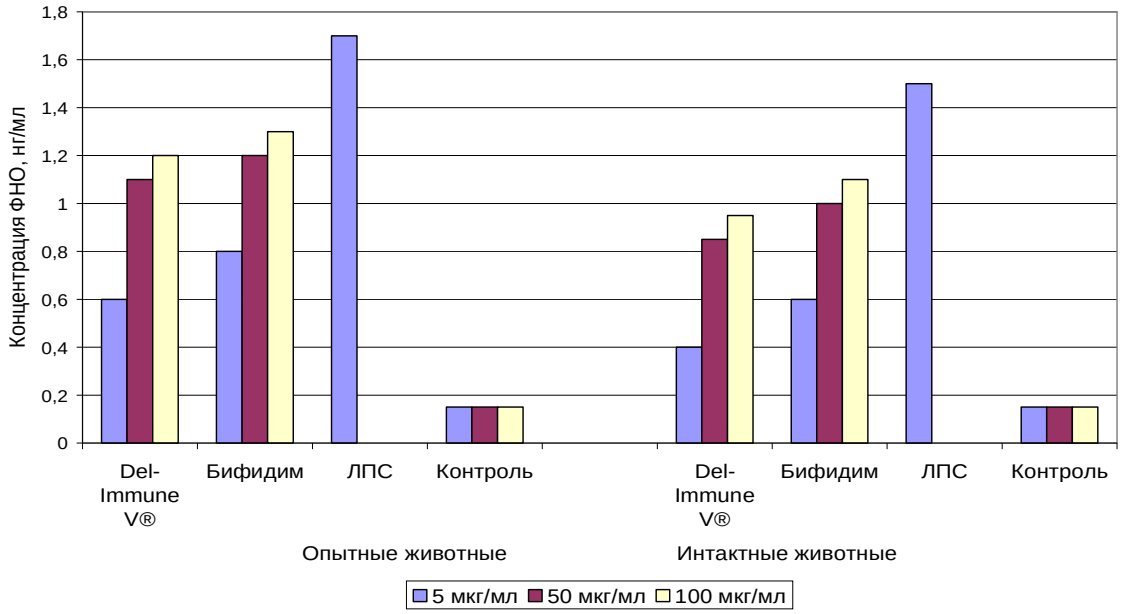


Введение Del-Immune V® в дозе 5 мкг/мышь не достоверно повышало концентрацию циркулирующего ФНО до 0,4 нг/мл (P>0,05) сравнительно с 0,3 нг/мл в контроле. Следует отметить, что пероральное введение Del-Immune V® в дозе 50 и 500 мкг/мл вызывало практически одинаковые уровни циркулирующего ФНО 0,6 нг/мл и 0,7 нг/мл. Выявленная продукция ФНО в системе in vivo, требует дополнительного изучения. Известно, что повышенная продукция ФНО приводит к активации нейтрофилов, макрофагов, лимфоцитов, что усиливает противоинфекционный иммунитет.

Так, ФНО мобилизует лейкоциты, ограничивает процессы воспаления и играет весомую роль в эффекторной и регуляторной цепи иммунной реактивности организма. Каскад индукционных сигналов, начатый ФНО, приводит к последовательной продукции ИЛ-1, активации Т- лимфоцитов, выработке ИЛ-2 и генерации популяции противоопухолевых эффекторних клеток - лимфокинактивированных киллеров, лизирующих различные опухолевые клетки-мишени ФНО усиливает пролиферативний ответ в смешанной культуре лимфоциты - опухолевые клетки, обладает адъювантной активностью для Т - и В-лимфоцитов. Следует отметить, что циркулирующий ФНО быстро элиминировался из организма.

В экспериментах in vitro установлено, что внесение Del-Immune V® или Бифидим в концентрациях 5,50,100 мкг/мл к макрофагам опытных и интактных мышей вело к образованию ФНО, максимальные уровни, которого отмечали через 8 ч после внесения данных препаратов. Рис. 5.

Рис. 5. Продукция ФНО под влиянием Del-Immune V®, Бифидим и ЛПС в культуре МФПЕ опытных и интактных мышей на 8 час после внесения препаратов.



Способность МФПЭ к продукции ФНО зависела от дозы исследуемых препаратов. Наиболее оптимальной концентрацией в системе in vitro для препаратов Del-Immune V®, Бифидим, выявилась доза 50 мкг/мл.

Макрофаги, полученные от опытных мышей, более интенсивно продуцировали ФНО в ответ на специфичный индуктор ЛПС, а также в ответ на внесение Del-Immune V® и Бифидим сравнительно с МФПЭ интактных мышей. Более высокий иммунный ответ макрофагальных клеток опытных животных под влиянием Del-Immune V® или Бифидим к продукции цитокинов – ИФН и ФНО, участвующих в регуляции клеточного иммунитета и под влиянием которых макрофаги определяют реализацию своих эффекторных функций, свидетельствует о том что, данные препараты выявляют иммуномодулирующую активность. Однако следует отметить, необходимо учитывать дозозависимость иммуномодуляторов и особенностей этих дозировок в зависимости от их природы. Дериваты микробного происхождения, включая липополисахариды (ЛПС), МДП и CpG ДНК распознаются иммунокомпетентними клетками при участии рецепторов TLRs [7,12,13]. Так, ЛПС E. coli преимущественно стимулирует моноциты и макрофаги [1]. Рецептором для ЛПС является антиген гистосовместимости, что имеет белковую природу и обозначенный как СД 14. Он выявляется на моноцитах, макрофагах, нейтрофилах, лимфоцитах, эпителиальных клетках кишечника. Связывание микробных дериватов с рецепторами ведет к изменению сигналов в данной биологической системе, что стимулирует синтез и освобождения различных медиаторов иммунитета – цитокинов. Следует отметить, что грам – положительные бактерии, в том числе и лактобактерии, активируют главный комплекс гистосовместимости II – класса, что сопровождается

индукцией γ- ИФН и IL-12 которые необходимы для дифференцировки Т- хелперов в направлении Th1 субпопуляции, в то время как грам-негативные бактерии и ЛПС индуцируют продукцию моноцитами IL-10, который ингибирует активацию цитотоксичности и секрецию γ- ИФН Т-клетками и ЕКК [27]. Поскольку, клиническое использование ЛПС грамотрицательных бактерий ограничивается их высокой токсичностью, то поиск иммуномодуляторов селективного действия является одним из главных условий повышения эффективности иммуностимулирующей терапии. Нами показано, что препарат Del-Immune V® стимулирует функциональную активность моноцит-макрофагальных клеток. Однако следует учитывать дозозависимость иммуномодуляторов, поскольку повышение дозы препаратов не всегда ведет у увеличению эффективности препаратов. Успех иммуноактивной терапии связан не только с появлением новых препаратов, но и с рациональным их использованием. Так, живые клетки бифидобактерий, что входят в состав препарата Бифидим, более интенсивно стимулировали продукцию ФНО in vitro сравнительно с Del-Immune V®. Уровни продукции цитокинов в системе in vitro под влиянием препаратов Del-Immune V® и Бифидим коррелировали с продукцией цитокинов в системе in vivo, что согласуется с работой [28]. Индукция провоспалительных цитокинов ИФН и ФНО препаратами Del-Immune V® и Бифидим в системе in vitro может служить индикатором того, что эти препараты способны стимулировать неспецифический иммунный ответ в системе in vivo. На основании полученных результатов о способности Del-Immune V® и Бифидим при пероральном введении стимулировать синтез α/β- и γ- ИФН поряд с ФНО, можно отметить и их синергидную активность, которая основывается на способности ИФН-γ индуцировать экспрессию на макрофагах рецепторов к ФНО-α [29]. Следует отметить, что эти цитокины синергидно стимулируют макрофагальные клетки, которые в свою очередь усиливают киллинговую активность. Межклеточная кооперация эпителиальных и иммунокомпетентных клеток в ответ на цито- и хемокиновые молекулы осуществляется через МНС (Major Histocompatibility Complex) молекул I и II класса (24). МНС I, II служат рецепторами для ИФН-γ, ИЛ-1, ФНО-α, ТГФ-β, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-7 и ИЛ-10. [12,30].

Синергидная активность продуцируемых цитокинов (ИФН и ФНО) под влиянием препаратов Del-Immune V® и Бифидим позволяет раскрыть некоторые терапевтические эффекты данных препаратов. Сравнительное изучение препаратов Del-Immune V® и Бифидим показало, что оба препарата оказывают выраженное стимулирующее влияние на цитокин-секретирующую активность спленоцитов и макрофагов к продукции ИФН и ФНО, медиаторов опосредующих клеточные иммунные реакции.

Следует отметить, что Бифидим содержит живые клетки бифидобактерий в отличие, от Del-Immune V® действующими субстанциями которого, являться МП (мурамил пептиды) и нуклеопротеиды пробиотического штамма Lactobacillus rhamnosus V. Препарат Del-Immune V® выявлял более высокую интерфероногенную активность в системах in vivo и in vitro сравнительно с препаратом Бифидим (Рис.1,3). Однако, в системе in vitro Бифидим стимулировал болем высокие уровни ФНО сравнительно с препаратом Del-Immune V® (Рис.5).

При выборе пробиотического препарата (как пробиотика, так и препартов пробиотической природы, представляющих сосбой структурные дериваты пробиотических клеток) необходимо учитывать множество факторов силу и механизм действия, пути введения, иммунореактивность организма. Механизм действия этой группы препаратов вероятно мультифакторный, включает ряд сигналов, типов клеток и рецепторов. Один из механизмов биологического действия пробиотических препаратов заключается в избирательном влиянии на иммунную систему макроорганизма, причем они избирательно стимулируют только те звенья природной иммунореактивности организма, которые нуждаются в иммунокоррекции и не влияют на иммунную систему в нормальном состоянии. Очевиден и тот факт, что пробиотики, принадлежащие разными видами и штаммами бактерий, по-разному влияют на иммунологические процессы в организме.

Следует отметить, что влияние пробиотиков на иммунную систему носит штаммовый характер. Так, установлено, что бактерии L. fermentum и L. plantarum стимулируют пролиферацию В-клеток, L. acidophilus вызывают преимущественную индукцию Т-клеточного иммунного ответа [31]. При инкубации различных штаммов лактобактерии с мононуклеарами периферической крови человека выявлено, что L. brevis, L. reuteri, L. lactis, L. casei и L. plantarum оказывают в разной степени выраженное стимулирующее влияние на продукцию ИЛ-1, ИЛ-12, ФНО-а, ИФН-γ [32]. Аналогичные результаты представлены в работе [27], свидетельствуют, что L. plantarum, L. rhamnosus и L. paracase issp. paracasei при культивировании с мононуклеарами периферической крови усиливают секрецию ИЛ-12 .

Из приведенных данных становится очевидным, что различные виды и штаммы лактобактерий могут оказывать разнонаправленное влияние на развитие иммунного ответа. Однако структурные компоненты лактобактерий в том числе пептидогликаны и фрагменты ДНК способны влиять на секреторную активность моноцитов крови человека in vitro усилением продукции ИЛ1, ИЛ 6 и ФНОα, а в системе in vivo активировать синтез простагландина Е2, активировать систему комплемента и созревание пре-Т-клеток [33].

Поэтому разработка новых препаратов и обоснование схем и дох их применения является перспективным направлением современной иммунобиологии.

Новый пробиотический препарат Del-Immune V® в дозе 50 мкг/мышь является активными индуктором ИФН, влияет на продукцию фактора некроза опухоли и вследствие возможности его перорального введения имеет значительные перспективы в качестве иммуномодулирующего препарата. Природное происхождение, сочетание интерфероногенной активности и безопасности с удобством применения позволяют Del-Immune V® занять достойное место среди современных иммуномодулирующих лекарственных средств.

Литература

1. Ширинский В.С., Жук Е.А. Проблемы иммуностимулирующей терапии // Иммунол. -1991. - №3.- С.7-9.
2. Мосієнко В. С., Мосієнко М. Д., Савцова З. Д., Даниленко В. С., Волкова М. Ю., Шинкаренко Л. М., Щеглова Н. А., Восп'яков В. Г., Свідро О. В., Меньок Т. А. Бластен - новый отечественный иммуномодулятор биологического происхождения // Журн. АМН України.- 1999, т. 5, №1. - С. 79-86
3. Драннік Г.М., Мосієнко В.С. Бластен – стимулятор продукції інтерлейкіну-1 у хворих на хронічний обструктивний бронхіт. // Галиць. лік. Вісн. –1998. -№ 5(3). –с.34-42.
4. Тимошок Н. О. Антибактеріальна ефективність індукторів інтерферону різного походження //Автореф. дис. канд. біол. наук. 03.00.07.- мікробіологія. -К, 2002. - 22с.
5. Lammers K.M., Brigidi P., Vitali B. et.al. Immunomodulatory effects of probiotic bacteria DNA: IL-1 and IL-10 response in human peripheral blood mononuclear cells. FEMS immunol. Med. Microbiol.- 2003. Vol.38(2), P.165-172.
6. Калюжин О.В. Производные мурамоидипептида в эксперименте и клинике // Журн. Микробиол., 1998, № 1 С. 104-108
7. Kiyoshi Takeda, Shizuo Akira Toll-like receptors in innate immunity // International Immunology 2005 17(1):1-14;
8. Бондаренко В.М., Рубакова Э.И., Лаврова В.А. Иммуностимулирующее действие препаратов лактобактерий, используемых в качестве основы препаратов пробиотиков // Журн. микробиол. - 1998. - № 5. – С. 107 – 112
9. Erickson K. L., Hubbard N. E. Probiotic immunomodulation in health and disease //J. Nutr. - 2000. - Vol. 130. - P. 403-409.
10. Solis Pereyra B & Lemonnier D. Induction of human cytokines by bacteria used in dairy foods. Nutr. Research. – 1993.- Vol 13. P.1127-1140.
11. IIiyan D. IIiev, Hakuri Kitazawa, Takeshi Shimosato, Shinichiro Katoh, Hirotsugu Morita, Fang He, Masataka Hosoda and Tadao Saito Strong immunostimulation in murine immune cells by Lactobacillus rhamnosus GG DNA contaning novel oligodeoxynucleotide pattern // Cell Microbio.-l.- 2005.- Vol 7,Issue 3.P.403-414

12. Shinkarenko L., Spivak N., Podgorskyy V., Zabolotnay D., Shpileva S. Probiotics as supplier of pathogen- associated molecular patterns// Матер. Докл. Международного конгресса «Пробиотики, пребиотики, синбиотики и функциональные продукты питания. Фундаментальне и клинические аспекты» // Клиническое питание - 2007. №1-2. – С. 12.
13. Hoarau C., Gerard B., Lescanne E., Henry D., Francois S., Lacapere J.-J., Benna J. El, P. Dang M.-C., Grandchamp B., Lebranchu Y., et al. TLR9 Activation Induces Normal Neutrophil Responses in a Child with IRAK-4 Deficiency: Involvement of the Direct PI3K Pathway J. Immunol., October 1, 2007; 179(7): P.4754 - 4765.
14. Cynthia A. Leifer, Margaret N. Kennedy, Alessandra Mazzoni, ChangWoo Lee, Michael J. Kruhlak and David M. Segal TLR9 Is Localized in the Endoplasmic Reticulum Prior to Stimulation // The Journal of Immunology, 2004, 173.- P.1179-1183.
15. Лазаренко Л.М., Співак М.Я., Михайленко О.М., Сухих Г.Т. Папіломовірусана інфекція та система інтерферону.-К.: Фітосоціоцентр, 2005.-288с.
16. Учитель И.Я. Макрофаги в иммунитете.- М.: Медицина, 1978.-175с.
17. Иммунологические методы / Под ред. Г. Фримеля, Пер с нем. А.П. Тарасова.- М.: Медицина, 1987.-472с.
18. Лимфоциты: Методы: Пер. с англ./ Под ред. Дж. Клауса. - М.: Мир, 1990.-395с.
19. Houde M., Arora D.J.- Application of the "area under the curve" method to measurement the tumor necrosis factor. // J.Immunol.Methods.-1990.-Vol.132.-N.2.-P.257-258
20. Лакин Т.Ф. Биометрия. // М.: Высш. шк., 1990. – 351 с.
21. Соловьев И.В., Бектимиров Т.А. Интерфероны в теории и практике медицины // М.: Медицина, 1981. — 400 с.
22. Taylor J.L., Sabran J.L., Grossberg S.E. The cellular effects of interferon. / In: Interferon and their applications, Ed. Came P.E. and Carter W.A., Springer-Verlag, - 1984 - P.169-204
23. Sonnenfeld G. Effects of interferon on antibody formation. // Interferon and the immune system - 1984 - Vol. 2 - P.85-96.
24. Nashleanas, M., S. Kanaly, P. Scott. Control of Leishmania major infection in mice lacking TNF receptors.// J. Immunol. -1998.- P.5160-5506.
25. Steinshamn, S., M. H. Bemelmans, L. J. van Tits, K. Bergh, W. A. Buurman, A. Waage. TNF receptors in murine Candida albicans infection: evidence for an important role of TNF receptor p55 in antifungal defense.// J. Immunol. - 1996. P.157:2155
26. Pfeffer, K., T. Matsuyama, T. M. Kundig, A. Wakeham, K. Kishihara, A. Shahinian, K. Wiegmann, P. S. Ohashi, M. Kronke, T. W. Mak. Mice deficient for the 55 kd tumor necrosis factor receptor are resistant to endotoxic shock, yet succumb to L. monocytogenes infection. // Cell.-1993.- P.73- 457.
27. Hessle C. , Andersson B., Wold A. E. Gram-Positive Bacteria Are Potent Inducers of Monocytic Interleukin-12 (IL-12) while Gram-Negative Bacteria Preferentially Stimulate IL-10 Production // Infection and Immunity, 2000, Vol. 68, No. 6, P. 3581-3586
28. Foligne B, Nutten S, Grangette C, Dennin V, Goudercourt D, Poiret S, Dewulf J, Brassart D. et.al. Correlation between in vitro and in vivo immunomodulatory properties of lactic acid bacteria // World Jornal of Gastroenrology .-2007. Vol 13(2)-P.236-243.
29. Gomes- Flores R., Tucker S.D., Kansal R., Tamez-Guerra R., Mehta R.T. Enhancement of antibacterial activity of clofazimine against Mycobacterium avium –

Micobacterium intracellulare complex infection induced by IFN- gamma is mediated by TNF-alpha // J. Antimicrob. Chemother. -1997. Vol. 39 (2) - P.189-197.
30. Reinecker H.C, Podolsky D.K. Human intestinal epithelial cells express functional cytokine receptors sharing the common chain of the interleukin 2 receptor.// PNAS.- 1995. — Vol. 92.-P. 8353 -8357.
31. Николаева Т. Н., Зорина В.В., Вотрин С.В. Анализ влияния пробиотических штаммов лактобактерий в поддержании иммунного гомеостаза макроорганизма // Матер. Докл. Междунар. Конгресса «Пробиотики , пребиотики , синбиотики и функциональные продукты питания. Фундаментальные и клинические аспекты» / Клиническое питание.- 2007.- №1-2.- С.56.
32. Muller-Alouf H., Graggette C, Goundercourt D. et al. Comparative cytokine inducing pattern of lactic acid bacteria used for mucosal vaccine development // Immunol. Letters. — 1999. — Vol. 69, N 1. - Abstr. 6.6.
33. Прокопьев А.А., Калинина Н.М., Андреев С.В. Пептидогликан, выделенный из Lactobacillus bulgaricus: влияние, опосредуемое через систему комплемента, на созревание пре-Т-клеток. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. –1987. –т.104.-№ 10. –с.492-495.