

© Коллектив авторов, 2024

УДК 616-092.4

Морозов И.А., Годовалов А.П., Баяндина С.Г.**Влияние полиаминов бактериального происхождения на продукцию иммуноглобулинов класса G в культуре мононуклеарных лейкоцитов практически здоровых доноров**

ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера» Минздрава России, 614990, Пермь, Россия, ул. Петропавловская, д. 26

Полиамины, синтезируемые микроорганизмами в ходе метаболизма аминокислот, оказывают разносторонний эффект на врожденный иммунитет. Так, путресцин и кадаверин способны ингибировать фагоцитарную активность мононуклеарных лейкоцитов, выполнять роль «скавенджера» гидроксильных радикалов в очаге воспаления. Однако в современной литературе нет однозначных данных касательно влияния полиаминов бактериального происхождения на подсистему адаптивного иммунитета. **Цель исследования** – оценить влияние кадаверина и путресцина на продукцию иммуноглобулина G в культуре мононуклеарных лейкоцитов практически здоровых доноров.

Методика. Объектом исследования служили лейкоциты периферической венозной крови 15 практически здоровых доноров. В качестве В-клеточного стимулятора использовали митоген лаконоса PWM. Кадаверин и путресцин использовали в конечных концентрациях 5, 25, 50, 75 и 100 ммоль/л. По окончании срока инкубации определяли концентрацию иммуноглобулинов G с помощью иммуноферментного метода.

Результаты. Выявлена прямая зависимость между концентрацией кадаверина и путресцина в пробах и уровнем иммуноглобулинов G ($r=0,92$ и $r=0,98$ соответственно, $p<0,05$). Оба полиамина оказывали стимулирующее влияние на продукцию IgG только в концентрациях 75 и 100 ммоль/л. Так, при 75 ммоль/л кадаверина уровень иммуноглобулинов составил 17,8 МЕ на 1 мг белка ($p=0,047$ к контрольным образцам), а при 100 ммоль/л – 21,8 МЕ на 1 мг белка ($p=0,001$ к контрольным образцам). При концентрации путресцина 75 ммоль/л уровень иммуноглобулинов составил 18,9 МЕ на 1 мг белка ($p=0,004$ к контрольным образцам), а при 100 ммоль/л – 20,6 МЕ на 1 мг белка ($p=0,003$ к контрольным образцам).

Заключение. Выявлено что бактериальные метаболиты путресцин и кадаверин обладают стимулирующим влиянием на продукцию иммуноглобулинов класса G лимфоцитами.

Ключевые слова: полиамины; путресцин; кадаверин; иммуноглобулин G

Для цитирования: Морозов И.А., Годовалов А.П., Баяндина С.Г. Влияние полиаминов бактериального происхождения на продукцию иммуноглобулинов класса G в культуре мононуклеарных лейкоцитов практически здоровых доноров.

Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2024; 68(4): 34–37.

DOI: 10.25557/0031-2991.2024.04.34-37

Участие авторов: концепция и дизайн исследования, редактирование – Годовалов А.П., Морозов И.А.; сбор и обработка материала – Морозов И.А., Баяндина С.Г.; подготовка иллюстративного материала – Морозов И.А.; статистическая обработка, написание текста – Годовалов А.П., Морозов И.А., Баяндина С.Г. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Для корреспонденции: Морозов Илья Андреевич, e-mail: doc.morozov@hotmail.com

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 10.10.2024

Принята в печать 14.11.2024

Опубликована 20.12.2024

Morozov I.A., Godovalov A.P., Bayandina S.G.**The effect of bacterial polyamines on the production of the class G immunoglobulins in the culture of mononuclear leukocytes from healthy donors**E.A. Vagner Perm State Medical University,
26 Petropavlovskaya str., Perm, 614990, Russian Federation

Polyamines synthesized by microorganisms during the metabolism of amino acids have a versatile effect on the innate immune system. Thus, putrescine and cadaverine are able to inhibit the phagocytic activity of mononuclear leukocytes, and act as a “scavenger” of hydroxyl radicals in the focus of inflammation. However, there is no unambiguous data in the modern literature regarding the effect of polyamines of bacterial origin on the subsystem of adaptive immunity. **The aim of the study** was to evaluate the effect of cadaverine and putrescine on the production of immunoglobulin G in the culture of mononuclear leukocytes from practically healthy donors.

Methods. The object of the study was peripheral venous blood leukocytes from 15 practically healthy donors. Laconose mitogen PWM was used as a B-cell stimulator. Cadaverine and putrescine were used in final concentrations of 5, 25, 50, 75 and 100 mmol/l. At the end of the incubation period, the concentration of immunoglobulins G was determined using the enzyme immunoassay method.

Results. A direct relationship was revealed between the concentration of cadaverine and putrescine in the samples and the level of immunoglobulins G ($r=0.92$ and $r=0.98$, respectively, $p<0.05$). Both polyamines had a stimulating effect on IgG production only at concentrations of 75 and 100 mmol/L. Thus, at 75 mmol/l of cadaverine, the level of immunoglobulins was 17.8 IU per 1 mg of protein ($p=0.047$ for control samples), and at 100 mmol/l – 21.8 IU per 1 mg of protein ($p=0.001$ for control samples). At a putrescine concentration of 75 mmol/l, the immunoglobulin level was 18.9 IU per 1 mg of protein ($p=0.004$ for control samples), and at 100 mmol/l – 20.6 IU per 1 mg of protein ($p=0.003$ for control samples).

Conclusion. It was found that the bacterial metabolites putrescine and cadaverine have a stimulating effect on the production of class G immunoglobulins by lymphocytes.

Keywords: polyamines; putrescine; cadaverine; immunoglobulin G

For citation: Morozov I.A., Godovalov A.P., Bayandina S.G. The effect of bacterial polyamines on the production of the class G immunoglobulins in the culture of mononuclear leukocytes from healthy donors. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2024; 68(4): 34-37. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2024.04.34-37

Author's contribution: concept and design of the study, editing the text – Godovalov A.P., Morozov I.A.; collection and processing of material – Morozov I.A., Bayandina S.G.; preparation of illustrative material – Morozov I.A.; statistical processing, writing the text – Godovalov A.P., Morozov I.A., Bayandina S.G. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

Information about the authors:

Godovalov A.P., <https://orcid.org/0000-0002-5112-2003>

Morozov I.A., <https://orcid.org/0000-0003-4233-3711>

Bayandina S.G., <https://orcid.org/0009-0004-2546-3690>

Financing. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 10.10.2024

Accepted 14.11.2024

Published 20.12.2024

Введение

В ранее проведенных исследованиях показано влияние полиаминов, образующихся в результате разложения белков бактериями, на клеточное звено врожденного иммунитета [1]. Так установлено, что кадаверин и путресцин ингибируют функциональную (поглотительную) активность лейкоцитов [2]. Предполагается, что мишенями действия полиаминов является регуляция экспрессии генов, непосредственно участвующих в этих процессах, так и эффект на системы, осуществляющие межклеточную коммуникацию [3, 4]. Другие исследования показывают, что добавление путресцина в диету повышает активность лизоцима и щелочной фосфатазы, уровня иммуноглобулинов М, а также способствует снижению уровня продукции фактора некроза опухоли- α в кишечном содержимом [5]. Более того, полиамины обуславливают изменение фенотипа макрофагов в М2 и оказывают супрессию толерогенных дендритных клеток [6]. В ряде экспериментов описано ингибирование путресцином и кадаверином продукции интерферона γ , а также увеличение продукции интерлейкина-4 митоген-активированными клетками

[2]. Продемонстрировано участие полиаминов в регуляции активации и дифференцировки Т- и В-лимфоцитов: дефицит орнитиндекарбоксилазы, фермента необходимого для синтеза полиаминов, приводит к нарушению дифференцировки CD4⁺ Т-хелперов из-за снижения концентрации субстрата для дезоксирибозинсинтазы [7, 8]. Однако, нет исследований, демонстрирующих влияние кадаверина и путресцина на продукцию иммуноглобулина G (IgG), играющего важную роль в адаптивном иммунном ответе.

Цель – оценить влияние кадаверина и путресцина на продукцию иммуноглобулина G в культуре мононуклеарных лейкоцитов практически здоровых доноров.

Методика

Для исследования использовали лейкоциты периферической венозной крови, полученной от 15 практически здоровых доноров (средний возраст – $24,0 \pm 0,6$ года). Критериями включения были мужской пол, возраст от 18 до 30 лет, отсутствие хронических заболеваний в стадии обострения, иммунодефицитных состояний.

Лейкоциты отделяли путем градиентного центрифугирования гепаринизированной крови с использованием смеси фиколл-верографин с плотностью 1,078 г/см³. После сбора интерфазной части клеточную взвесь перемешивали и трижды отмывали. Для культивирования лимфоцитов использовали микрометод, предполагающий применение пластиковых круглодонных 96-луночных планшетов. Каждая культура содержала 2×10⁵ клеток в 0,2 мл полной культуральной среды. Последнюю готовили *ex tempore* на основе среды 199 с добавлением 2 мМ L-глутамина, 10 мМ HEPES (N-2-гидроксиэтилпиперазин-N'-2-этансульфоновая кислота), 100 мкг/мл гентамицина сульфата и 10% эмбриональной телячьей сыворотки. В качестве В-клеточного стимулятора использовали митоген лаконоса PWM (2,5 мкг/мл). Кадаверин и путресцин использовали в конечных концентрациях 5, 25, 50, 75 и 100 ммоль/л. Культивирование выполняли во влажной атмосфере с 5% CO₂ при 37°C в течение 288 ч. По окончании срока инкубации культуральную жидкость стягивали и замораживали. Концентрации иммуноглобулинов G определяли с помощью иммуноферментного метода набором реагентов производства АО «Вектор-Бест» (Россия).

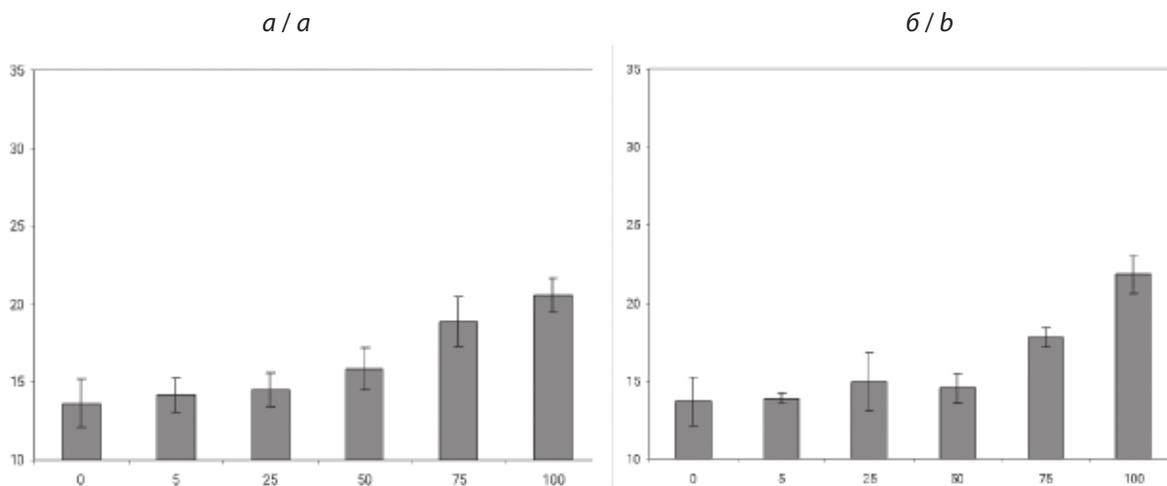
Статистический анализ проводился с помощью программного пакета Statistica 6.0. Вычислялась средняя арифметическая величина (M) и стандартная ошибка средней арифметической (m). Для проверки нормальности распределения использовали критерий Шапиро–Уилка. В случае распределения приближен-

ного к нормальному использовали критерий Стьюдента, в остальных – применяли критерий Манна–Уитни для оценки значимости различий. Критический уровень значимости (p) при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05.

Результаты

Выявлена прямая зависимость между концентрацией кадаверина в пробах и уровнем иммуноглобулинов G ($r=0,92, p<0,05$). При дозировках кадаверина 5, 25 и 50 ммоль/л статистического значимого повышения концентрации IgG по сравнению с контрольными образцами не зафиксировано ($p>0,05$; **рис. 1, а/а**). В более высоких концентрациях кадаверин оказывал стимулирующее влияние на продукцию IgG. Так, при 75 ммоль/л уровень иммуноглобулинов составил 17,8 МЕ на 1 мг белка ($p=0,047$ к контрольным образцам), а при 100 ммоль/л – 21,8 МЕ на 1 мг белка ($p=0,001$ к контрольным образцам).

В пробах мононуклеарных лейкоцитов с путресцином показан аналогичный эффект влияния этого полиамина на продукцию иммуноглобулинов G. Коэффициент корреляции составил 0,98, при $p<0,05$. В концентрации 5, 25 и 50 ммоль/л путресцин не оказал статистически значимого эффекта на уровень иммуноглобулинов G ($p>0,05$; **рис. 1, б/б**). Однако, при концентрации путресцина 75 ммоль/л уровень иммуноглобулинов составил 18,9 МЕ на 1 мг белка ($p=0,004$ к контрольным образцам),



Изменение продукции иммуноглобулинов класса G в культуре мононуклеарных лейкоцитов в присутствии путресцина (а) и кадаверина (б). По оси абсцисс – концентрации полиаминов в культуральной среде, ммоль/л; по оси ординат – концентрация IgG, МЕ на 1 мг белка. Changes in the immunoglobulins of the class G production in a culture of mononuclear leukocytes in the presence of putrescine (a) and cadaverine (b). Abscissus axis – polyamine concentrations in the culture medium, mmol/l; ordinate axis – IgG concentration, IU per 1 mg of protein.

а при 100 ммоль/л – 20,6 МЕ на 1 мг белка ($p=0,003$ к контрольным образцам).

Обсуждение

В ходе эволюции бактерии выработали различные стратегии адаптации к условиям макроорганизма, что позволяет им выживать в постоянно меняющейся среде. Так, например, активно включая в свой метаболизм белки тканей человека, бактерии постепенно нарабатывают полиамины, которые, как известно, образуются в результате разрушения белковых молекул [9, 10]. При значительном повышении концентрации путресцина и кадаверина выявлена стимуляция синтеза IgG, что указывает на локальную патофизиологическую роль бактериальных полиаминов в очаге воспаления, особенно при хроническом течение процесса. Можно предположить, что, запуская синтез антител, микроорганизмы способны вызвать избыточное образование этих молекул, а это в свою очередь приводит в конечном итоге к истощению пула IgG. Такая ситуация в очаге воспаления ингибирует дальнейший каскад иммунологических реакций и реализацию микробицидного потенциала лейкоцитов.

При длительной персистенции бактерий иммуноглобулины класса G, как правило, накапливаются, однако параллельно повышается концентрация полиаминов, которые, как можно предположить, ингибируют эффекторные функции этого класса иммуноглобулинов.

Таким образом, большое количество полиаминов способствует большей выработке иммуноглобулинов класса G, который отвечает за длительную гуморальную защиту от повторного поступления чужеродных антигенов в организм.

Заключение

Выявлено что бактериальные метаболиты путресцин и кадаверин обладают стимулирующим влиянием на продукцию иммуноглобулинов класса G лимфоцитами.

Сведения об авторах:

Морозов Илья Андреевич, аспирант каф. микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера» Минздрава России, e-mail: doc.morozov@hotmail.com;

Годовалов Анатолий Петрович, канд. мед. наук, доцент, доцент каф. микробиологии и вирусологии, вед. науч. сотр., ЦНИЛ ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера» Минздрава России;

Баяндина Софья Григорьевна, студентка 6 курса, педиатрический факультет ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера» Минздрава России.

Литература

(п.п. 3–10 см. References)

1. Морозов И.А., Карпунина Т.И., Годовалов А.П. Кадаверин как регулятор активности про- и эукариотических клеток. *Аллергология и иммунология*. 2018; 19(3): 149–50.
2. Годовалов А.П., Карпунина Т.И., Нестерова Л.Ю., Морозов И.А. Полиамины как рецептор-независимый фактор агрессии условно-патогенных микроорганизмов. *Имунопатология, аллергология, инфектология*. 2019; 3: 91–4. <https://doi.org/10.14427/jipai.2019.3.91>

References

1. Morozov I.A., Karpunina T.I., Godovalov A.P. Cadaverine as a regulator of the activity of pro- and eukaryotic cells. *Allergologiya i Immunologiya*. 2018; 19(3): 149–50. (in Russian)
2. Godovalov A.P., Karpunina T.I., Nesterova L.Yu., Morozov I.A. Polyamines as receptor-independent factors of aggression of opportunistic microorganisms. *Immunopathologiya, allergologiya, infektologiya*. 2019; 3: 91–4. <https://doi.org/10.14427/jipai.2019.3.91> (in Russian)
3. Shah P., Swiatlo E. A multifaceted role for polyamines in bacterial pathogens. *Molecular microbiology*. 2008; 68(1): 4–16. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2008.06126.x>
4. Kurihara S. Polyamine metabolism and transport in gut microbes. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*. 2022; 86 (8): 957–66. <https://doi.org/10.1093/bbb/zbac080>
5. Liu G., Zheng J., Wu X., Xu X., Jia G., Zhao H., et al. Putrescine enhances intestinal immune function and regulates intestinal bacteria in weaning piglets. *Food Function*. 2019; 10: 4134–42. <https://doi.org/10.1039/c9fo00842j>
6. Carriche G.M., Almeida L., Stüve P., Velasquez L., Dhillon-LaBrooy A., Roy U., et al. Regulating T-cell differentiation through the polyamine spermidine. *The journal of allergy and clinical Immunology*. 2021; 147(1): 335–48. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2020.04.037>
7. Puleston D.J., Baixauli F., Sanin D.E., Edwards-Hicks J., Villa M., Kabat A.M., et al. Polyamine metabolism is a central determinant of helper T cell lineage fidelity. *Cell*. 2021; 184: 4186–202. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.06.007>
8. Hesterberg R.S., Cleveland J.L., Epling-Burnette P.K. Role of polyamines in immune cell functions. *Medical sciences*. 2018; 6(22): 1–19. <https://doi.org/10.3390/medsci6010022>
9. Napodano C., Marino M., Stefanile A., Pocino K., Scatena R., Gulli F., et al. Immunological role of IgG subclasses. *Immunological investigations*. 2021; 50(4): 427–44. <https://doi.org/10.1080/08820139.2020.1775643>
10. Cruz A.R., Bentlage A.E., Blonk R., de Haas, C.J.C., Aerts P.C., Scheepmaker L.M., et al. Toward understanding how Staphylococcal protein A inhibits IgG-mediated phagocytosis. *Journal of immunology*. 2022; 209(6): 1146–55. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.2200080>