

ИССЛЕДОВАНИЕ АДЬЮВАНТНЫХ СВОЙСТВ РЕКОМБИНАНТНОЙ ФОРМЫ ФЛАГЕЛЛИНА-С *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

А.П. Жеребцов, А.А. Калошин, Н.А. Михайлова

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», Москва, Россия

Pseudomonas aeruginosa (синегнойная палочка) является одним из основных возбудителей очаговых и генерализованных процессов у людей с ослабленным иммунитетом. Синегнойная палочка отличается множественной устойчивостью к антимикробным препаратам. В связи с этим разработка эффективных профилактических вакцин и подбор адъювантов для усиления их защитных свойств от *P. aeruginosa* является актуальной задачей.

Известно что, флагеллины жгутиковых бактерий обладают адъювантными свойствами, активируя толл-подобный рецептор-5 врожденной иммунной системы. Взаимодействуя с рецептором TLR5, флагеллины запускают провоспалительный фактор транскрипции NF- κ B через адаптерный белок MyD88, который вызывает продукцию противовоспалительных цитокинов. В исследованиях *in vivo* показано, что иммунизация мышей рекомбинантным флагеллином вызывала Т-клеточный ответ и оказывала защитный эффект в отношении токсических воздействий бактерий, вирусов и радиаций. Таким образом, флагеллин посредством стимуляции механизмов врожденного иммунитета усиливает адаптивные иммунные реакции организма. По литературным данным известно, что флагеллин *Salmonella typhimurium* обладает адъювантными свойствами, однако влияние флагеллина *P. aeruginosa* на иммунную систему изучено не достаточно.

Цель работы – исследование влияния рекомбинантного флагеллина-С (FlicC) *P. aeruginosa* на формирование протективного иммунитета.

Материалом исследования служил рекомбинантный флагеллин-С *P. aeruginosa* полученный в ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова. Антиген использовали для изучения протективных и адъювантных свойств в опытах по инфицированию иммунизированных животных неродственным штаммом № 204 *Klebsiella pneumoniae* и штаммом PA-103 *P. aeruginosa*. Для постановки экспериментов формировали 4 группы беспородных мышей массой 14–16 грамм, численностью по 40 особей, которым двукратно внутрибрюшинно с интервалом в 14 дней вводили тестируемые препараты: 1) рекомбинантный FlicC в дозе 50 мкг, 2) FlicC 50 мкг + *K. pneumoniae* 50 мкг, 3) *K. pneumoniae* 50 мкг, 4) FlicC 50 мкг + *K. pneumoniae* 50 мкг. В качестве контроля заражающей культуры использовали чистых мышей. Через 14 дней после иммунизации в группах 1 и 2 проводили заражение животных различными дозами живой вирулентной культуры *P. aeruginosa*, а особей групп 3 и 4 заражали различными дозами *K. pneumoniae* с последующим подсчетом индекса эффективности через 7 дней после введения препаратов. У пяти животных из каждой группы забирали кровь и в сыворотке определяли титры специфических антител в ИФА. Значимость различий оценивали с использованием критерия достоверности Стьюдента (*t*), критическое значение уровня значимости принималось равным 5 % ($p < 0,05$).

В группе мышей иммунизированных рекомбинантным флагеллином-С определен наибольший титр специфических антител в пределах разведения 1:512000, что свидетельствовало об иммуногенных свойствах белка. Индекс эффективности в этой группе соответствовал (3,0), что наглядно демонстрирует протективную защиту против родственного штамма PA-103 *P. aeruginosa*. В группе мышей получивших рекомбинантный FlicC + *K. pneumoniae* индекс эффективности соответствовал (6,1), при заражении штаммом № 204 *K. pneumoniae*, а при заражении штаммом PA-103 *P. aeruginosa* ИЭ* соответствовал (5,6). Значимость различия между группами иммунизированных и контролем интактных мышей составила ($p < 0,01$).

Таким образом, в ходе проведенных исследований показано, что рекомбинантный флагеллин-С *P. aeruginosa* как самостоятельный иммуноген обладал протективной активностью против родственного штамма, а так же проявлял адъювантные свойства с антигеном *K. pneumoniae*, увеличивая его иммуногенность, сочетанная иммунизация рекомбинантного FlicC + *K. pneumoniae* приводила к увеличению индекса эффективности протективных свойств изучаемых антигенов и свидетельствовало об их перекрестной защите.