

УДК 636.4:612.017

## ВЛИЯНИЕ ГИДРОЛИЗАТА КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ ЛАКТОБАКТЕРИЙ *LACTOBACILLUS DELBRUECKII* НА ПРОЦЕССЫ ИММУННОЙ ЗАЩИТЫ

<sup>1</sup>Сухаренко Е. В. - доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры физиологии, фармакологии и токсикологии им. А.Н. Голикова и И.Е. Мозгова, <sup>2</sup>Недзвецкий В. С. - доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры биофизики и биохимии  
<sup>1</sup>Максимов В. И. - доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры физиологии, фармакологии и токсикологии им. А.Н. Голикова и И.Е. Мозгова  
1. ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина», г. Москва, РФ;  
2. ДНУ им. О.Гончара, г. Днепр, Украина

**Ключевые слова:** мурамил пептиды, пептидогликан, механизмы врожденного иммунитета, патоген распознающие рецепторы, иммуноглобулины. **Key words:** muramyl peptides, peptidoglycan, innate immunity mechanisms, pathogene recognizing receptors, immunoglobulins.



### РЕФЕРАТ

Фрагменты пептидогликанов – мурамил пептиды – инициируют комплексный клеточный ответ через активацию рецепторов распознавания образов. За последние два десятилетия было открыто множество структурных последовательностей, связывающих PG (белки, содержащие LysM; внутриклеточные регуляторные белки, принадлежащие к семейству NOD-подобных рецепторов; белки, связывающие домен с пенициллинами и Ser/Thr-киназы; белки распознавания пептидогликанов; лектиноподобные рецепторы С-типа; эукариотические цитозольные гексониказы). Показано, что использование мурамил пептидов является эффективным инструментом для модуляции клеточного ответа, в том числе и для усиления продукции провоспалительных цитокинов. Выявлена цитотоксичность фракций пептидогликанов в отношении различных типов опухолей, включая саркому, лейкоз, меланому и рак легких. Опухолевая активность муропептидов, ассоциированная с антипролиферативным и цитотоксическим действием, связана с модуляцией продукции цитокинов и хемокинов. Особо значимо, что мурамил пептиды способны снижать биоэнергетическое соотношение митохондрий, связанная с опухолью аномалия энергетического метаболизма может быть причиной подавления раковых процессов. В природных условиях загрязнения окружающей среды иммуномодулирующий эффект ферментативного гидролизата клеточной стенки лактобацилл *Lactobacillus Delbrueckii* проявляется в комплексной стимуляции гуморального и клеточного звеньев иммунного ответа, что подтверждается ростом показателей бактерицидной и лизоцимной активности молозива. Использование таких иммуномодуляторов может быть перспективной основой для регуляции механизмов иммунной резистентности, поддержания здоровья и увеличения привеса животных в первые недели жизни.

**Биологическая активность компонентов стенок бактерий.** Клеточная стенка бактерий выполняет не только структурные функции, но и служит для защиты от агрессии со стороны окружения. В основном, в прочных бактериальных клеточных стенках присутствует пептидогликан (PG), называемый муреиновым саккулюсом. Макромолекулы PG находятся снаружи цитоплазматической мембраны почти всех бактерий и служат каркасом для крепления других компонентов клеточной оболочки. Они достаточно динамичны, поэтому подвергаются постоянному ремоделированию в ответ на изменения условий окружающей среды [7,17].

PG состоит из линейных, поперечно связанных короткими пептидами (от 2 до 5 аминокислотных остатков), цепей гликанов, которые образуют непрерывный слой. Гликановая основа, как правило, представлена повторяющимися дисахаридами из N-ацетилглюкозамина (NAG) и N-ацетилмурамовой кислоты (NAM), а архетипическая структура пептида, в большинстве случаев, включает остатки L-аланина, D-глутаминовой кислоты, D-аланина и двухосновной аминокислоты (обычно мезо-диаминопимелиновой или L-лизина) [18]. Фрагменты пептидогликана принято называть мурамил пептиды (MP).

Известно, что MP участвуют не только в формировании структуры клеточной стенки, но и инициируют иммунный ответ, играя роль сигнальных молекул в коммуникации с другими бактериями либо эукариотами. Последние данные показывают, что мурамил пептиды могут выполнять множество других функций, включая участие в симбиотических ассоциациях, микробных взаимодействиях, патогенезе у животных, врожденном иммунитете.

К клеткам врожденного иммунитета относят различные тканевые макрофаги, дендритные клетки, а также нейтрофилы, которые экспрессируют семейство врожденных рецепторов или сенсоров, известных как рецепторы распознавания обра-

зов (PRR) [14,18]. PRR включают несколько семейств, таких как Toll-подобные рецепторы (TLR), NOD-подобные рецепторы (NLR), RIG-I-подобные рецепторы (RLR), лектиновые рецепторы С-типа (CLR) и молекулы, чувствительные к ДНК. Это эволюционно консервативные рецепторы, которые взаимодействуют с сигнальными молекулами, известными как патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (PAMP). В эукариотических клетках распознавание PAMP приводит к активации PRR-индуцированных сигнальных путей, запускающих экспрессию широкого диапазона молекул, включая адапторные молекулы, цитокины, хемокины, молекулы клеточной адгезии и иммунорецепторы, которые вызывают провоспалительные и противомикробные клеточные ответы [4].

Таким образом, MP могут инициировать комплексный клеточный ответ через активацию рецепторов распознавания образов. В данном обзоре рассматривается иммуномодулирующая и противоопухолевая активность одного из наименее изученных фрагментов пептидогликанов – мурамил пентапептида.

**Сигнальные функции муромил пептидов.** За последние два десятилетия было открыто множество структурных последовательностей (мотивов), связывающих PG. Следует отметить, что набор рецепторных систем эукариотических клеток, обнаруживающих муропептиды, динамично эволюционировал. Кроме того, ни один из микроорганизмов не воспринимается только определенным типом рецепторов, что обеспечивает быструю и мощную реакцию, например, во время инфекции. Так повторяющиеся последовательности лизина (мотив (LysM)) являются общим PG-связывающим доменом, который избирательно взаимодействует с молекулами, содержащими повторения NAG, такими как хитин, пептидогликаны и короткие олигосахариды. Мотив LysM, состоящий из 42–48 аминокислот, представляет собой модульную кассету, присутствующую

щую во всех прокариотических и эукариотических клетках, кроме архей [35]. Как правило, многочисленные мотивы одного домена LysM разделены пространственными последовательностями (обычно Ser-Thr-Asp/Pro), образуя гибкую промежуточную область. Первоначально, этот домен был идентифицирован в ферментах, участвующих в разрушении клеточной стенки бактерий, в частности, у *E. Coli*. Позднее к таким ферментам были отнесены литическая трансликозилаза MltD, *Enterococcus faecalis* N-ацетилглюкозаминидазу AtlA, *B. subtilis* D, L-эндопептидаза CwlS, *Lactococcus lactis* N-acetylglucosaminidase AcmA. Мотив LysM также присутствует во многих белках, участвующих в синтезе или ремоделировании PG. Изучение этих протеинов показывает, что даже в тех случаях, когда пептидные цепи PG не взаимодействуют с LysM, они способны модулировать аффинность связывания [26]. Известно, что у растений распознавание PG белками, содержащими LysM, запускает сигнальный каскад, подавляющий иммунный ответ клетки хозяина. Показано, что некоторые белки, содержащие LysM, участвуют в распознавании бактерий, во время их симбиоза с растениями, а также в процессе инфицирования бактериофагами и сборки бактериальных спор [8].

На различные сигнальные молекулы, включая производные от PG фрагменты, реагируют внутриклеточные регуляторные протеины, которые принадлежат к семейству NOD-подобных рецепторов (NLR) и имеют домены связывания нуклеотидов и олигомеризации (NOD). Эти белки демонстрируют консервативную архитектуру, содержащую C-концевой домен повтора, богатый лейцином, а также центральный домен связывания и олигомеризации нуклеотидов, N-концевой домен активации и рекрутирования каспаз. Рецепторы NLR (NOD1 и NOD2) воспринимают фрагменты PG из неинвазивных бактерий, которые транспортируются в эукариотический цитозоль через системы секретиции, эндоцитоз или специфические мембранные транспортные си-

стемы PEPT: PepT1, PepT2 и паннексин либо доставляются через окаймленные мембранные везикулы [9]. NOD1 распознает молекулы, содержащие D-Glu-mDAP, включая пептиды без PG, моно- и дисахариды, которые, в основном, обнаруживаются у грамотрицательных бактерий, а также *Bacillus* spp., *Mycobacterium* sp., *Listeria* spp. и *Lactobacillus plantarum*. NOD2 с высокой аффинностью распознает NAM-D-Ala-D-Glu. Этот протеин широко представлен в моно-, ди-, три- и тетрапептидах как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий. Обнаружение PG белками NOD приводит к активации внутриклеточных сигнальных каскадов, которые запускают ядерный фактор-кВ (NF-кВ) и врожденный ответ, проявляющийся в воспалительных реакциях [13].

Центральную роль в вирулентности и устойчивости к  $\beta$ -лактамам играют еще одни сенсоры PG – белки, связывающие домен с пенициллинами и Ser/Thr-киназы (PASTA). Благодаря способности регулировать метаболизм, деление клеток и гомеостаз клеточной стенки, эти протеины являются важным инструментом бактерий, реагирующих на антибиотический стресс. Домен PASTA участвует в распознавании не только фрагментов PG, но и экзогенных муропептидов. Эти лиганды, как правило, отдают предпочтение муропептидам, входящим в клеточные стенки аналогичного состава (например, содержащих mDAP в третьей позиции в пептидном створе) [27].

Карбокси-концевой амидазный домен со специфическим сайтом связывания для мурамил пента-, тетра- или трипептидов имеют также белки распознавания пептидогликанов (PGRP), которые представляют собой эволюционно законсервированные молекулы врожденного иммунитета, гомологичные амидазам бактериофага 2 типа. Обладая различной степенью сродства, эти сенсоры способны распознавать различные фрагменты PG. Показано, что PGRP присутствуют у насекомых (в *Drosophila* идентифицировано 13 PGRP) и млекопитающих (у людей и мышей четы-

ре домена PGLYRP 1–4). Некоторые PGRP млекопитающих также имеют дополнительный сайт связывания для бактериального липополисахарида. Как правило, PGRP связывают PG либо с мурамилпептидами, экспонируемыми литическими эндопептидазами грамположительных бактерий, либо с внешней мембраной грамотрицательных бактерий. Взаимодействие PGRP-PG активирует бактериальные двухкомпонентные системы (CssR-CssS и CpxA-CpxRin у грамположительных и грамотрицательных бактерий соответственно), которые вызывают бактериальный лизис за счет деполяризации мембраны и одновременной индукции окислительного, тиолового и металлического стресса. Существует предположение, что амидазный домен действует как поглотитель, разрушая PG и контролируя иммунный ответ [25].

Лектиноподобные рецепторы С-типа (CTLR) являются основным классом PRR и представляют собой внеклеточный домен распознавания углеводов, который, предположительно, связывает фрагменты в глюкоз-аминогликанового каркасе бактериальных PG или в глюкоз-аминогликановом маннине грибов с кальций-зависимым образом. При распознавании лиганда специализированные CTLR запускают или ингибируют множество сигнальных путей, тем самым иницируя фагоцитоз патогенов, продукцию цитокинов и активируя иммунный ответ [23]. CTLR связываются с различными патогенами, в том числе с вирусами, грибами, паразитами, бактериями. Показано, что белок семейства лектинов Reg3A распознает бактериальные PG и проявляет активность против грамположительных бактерий. В то время как MBL является олигомерным кальций-зависимым белком плазмы и распознает компоненты клеточной стенки бактерий и грибов, приводящей к активации лектинового комплемента [28].

Представителями сенсоров для PG являются также и эукариотические цитозольные гексокиназы. Эти белки широко известны как ферменты гликолиза, ката-

лизирующие фосфорилирование глюкозы до глюкозо-6-фосфата. Существует предположение, что мономерный углевод NAG, образующийся во время гидролиза PG, может запускать активацию воспалительных программ в иммунных клетках путем связывания и диссоциации цитозольной гексокиназы из мембранно-связанной формы [34]. Следует отметить, что активные гексокиназы связаны с внешней мембраной митохондрий, но высвобождаются при ингибировании NAG, подобно тому, как глюкозо-6-фосфат накапливается в цитозоле и способствует активации инфламмасом NLRP3, которая регулирует процессинг и секрецию интерлейкинов IL-1b и IL-18. Возможно, гексокиназа действует как рецептор распознавания образов, предупреждая клетку о деградации бактериальных PG в фагосомах и активируя воспалительный ответ через нарушение гликолитического пути и функций митохондрий [34].

**Иммунномодулирующая активность мурамил пентапептида.** Известно, что техногенное загрязнение среды, увеличение числа токсичных ксенобиотиков, изменение патогенности инфекционных агентов могут провоцировать рост заболеваемости животных [1]. В таких условиях эффективность механизмов общей неспецифической резистентности является важным критерием жизнеспособности как молодняка, так и продуктивных животных. Именно эти процессы обеспечивают адаптационные возможности организма к воздействию биологических (вирусы, микробы) и абиотических (ксенобиотики) факторов, присутствие которых в среде обитания нередко оказывает комплексное воздействие. Среди факторов, влияющих на адаптацию, особенно значимы состояние иммунной системы животного и поддержание эффективного функционирования защитных реакций организма [33].

Первостепенное значение для животноводства имеет сохранность молодняка, т. к. значительная часть новорожденных поросят погибает в первые недели жизни,

причем около 50% общего количества потерь происходит по причине желудочно-кишечных болезней, сопровождающихся диареей. Одним из наиболее важных направлений повышения эффективности профилактических и лечебных мероприятий, способствующих интенсификации производства и улучшению качества продукции, является модуляция клеточных процессов иммунной защиты. Следует отметить, что единственным источником иммунных белков у новорожденных поросят и главным фактором эффективности иммунной защиты является молозиво. Показано, что у свиноматок, получавших инъекции МР, наблюдается рост показателей неспецифической защиты, бактерицидной и лизоцимной активности, содержания IgG, IgA, IgM. Мурамил пептиды способствуют формированию более эффективного колострального иммунитета и стимулируют продукцию IgG. Учитывая, что IgG и IgM активируют один из ключевых механизмов иммунной резистентности – систему комплемента, эти результаты подтверждают иммуномодулирующие эффекты препарата [2].

К наиболее важным защитным свойствам молозива относят способность разрушать бактериальные клетки и подавлять их размножение. Защитные механизмы этого секрета реализуются за счет лизоцима, литическая активность которого в комплексе с иммуноглобулинами и комплементом формируют в желудочно-кишечном тракте поросят местную иммунологическую защиту. Эти процессы препятствуют колонизации эпителия кишечника бактериями и вирусами, а также тормозят проникновение сквозь эпителий чужеродных антигенов [31].

Результаты исследования бактерицидной активности молозива свиноматок показывают, что наиболее высокая активность фермента мурамидазы (лизоцим) отмечается в молозиве до опороса, которая постепенно снижается в период лактации. Показатели факторов неспецифической защиты и содержания иммуноглобулинов в молозиве свиноматок характе-

ризуются высокими значениями коэффициента корреляции. После 36 часов лактации лизоцимная активность постепенно уменьшается, что, вероятно, обусловлено нейрогуморальными механизмами, которые обеспечивают переход секрета молочных желез от молозива к зрелому молоку [2].

Бактерицидная и лизоцимная активности молозива свиноматок свидетельствуют о влиянии лизата клеточной стенки лактобактерий *Lactobacillus delbrueckii* на рост показателей неспецифической защиты этого секрета. Выявленный иммуномодулирующий эффект препарата имеет комплексный характер и ассоциирован со стимуляцией неспецифической резистентности и продукции антител. Наиболее вероятно, что один из путей регуляции бактерицидной активности реализуется посредством экспрессии генов лизоцима и других иммунных белков [31]. Лизоцим при взаимодействии с IgA и компонентами комплемента усиливает бактерицидную активность молозива, что обеспечивает новорожденных поросят более высоким уровнем неспецифической защиты [32].

Известно, что неонатальное развитие характеризуется низким уровнем общего числа лейкоцитов в периферической крови поросят до сосания молозива, постепенным повышением количества лейкоцитов в первую неделю жизни и незначительным снижением к концу второй недели после рождения. Наряду с этими процессами происходит перераспределение соотношения фракций гранулоцитов и агранулоцитов. Введение свиноматкам иммуномодулятора клеточной стенки лактобактерий индуцирует повышение содержания лейкоцитов в крови неонатальных поросят (главным образом, за счет роста представительства фракции лимфоцитов). Выявленные возрастные изменения в лейкоцитарной формуле имеют характерные особенности преобладания фракции нейтрофилов до сосания молозива и в первые часы жизни. Этот же период характеризуется низким уровнем эозинофилов и моноцитов. Такие различия могут быть связаны с особенно-

стями генерации и развития клеток иммунной системы у колостральных животных [2].

На протяжении первых 23 суток жизни в крови животных происходит повышение количества моноцитов и эозинофилов в среднем в 2,2 раза, лимфоцитов в 1,6 раза, на фоне снижения фракции нейтрофилов в 1,5 раза (относительно их количества у новорожденных поросят в первый день жизни). При этом агрессивность лейкоцитов постепенно повышается на протяжении всего экспериментального периода, о чем свидетельствует изменение фагоцитарного числа, а выявленная модальность временных колебаний функциональной активности нейтрофилов свидетельствует о природном иммуномодулирующем эффекте данного препарата [3].

Следует отметить, что иммуномодулирующий эффект лизированных клеточных стенок лактобактерий позитивно отражается на показателях здоровья и привеса поросят. Привес животных экспериментальной группы за 23 суток увеличился на 14% (относительно контроля) [3], что отражает позитивную корреляцию между эффективностью иммунологического резистентности и продуктивностью технологического процесса, которая, в конечном счете, является главным показателем животноводства. Использование таких иммуномодуляторов может быть перспективной основой для регуляции механизмов иммунной резистентности, поддержания здоровья и увеличения привеса поросят в первые недели жизни.

**Противоопухолевое действие мурамил пептидов.** Известно, что некоторые микробные соединения обладают противоопухолевой активностью [11]. В частности, подтверждено противоопухолевое действие фракций цитоплазмы и компонентов клеточной стенки лактобацилл. В этом отношении *Lactobacillus* – наиболее изученные виды микроорганизмов среди всех пробиотиков [20]. В настоящее время в качестве ингибиторов опухолевых агентов используются живые и термически обработанные клетки [5,

16]. Показано, что проявлять противораковую активность в различных типах клеток и стимулировать врожденный иммунитет способны пептидогликаны. Выявлены противоопухолевые эффекты фракций пептидогликанов в отношении различных типов опухолей, включая саркому, лейкоз, меланому и рак легких. На линии клеток рака толстой кишки человека HT-29 установлены антипролиферативные и проапоптотические эффекты цельной фракции пептидогликанов из *Lactobacillus paracasei*. Доказана цитотоксичность фракций пептидогликанов в отношении различных типов рака животных по сравнению с нетрансформированными клетками. Однако обнаружены и токсические эффекты мурамил пептидов, включая пирогенность, острый полиартрит и повышение уровня сывороточного амилоида [21, 24].

Имеются данные, что как синтетические, так и природные производные МР проявляют значительную адьювантную активность. Подтверждено, что использование мурамил пептидов является эффективным инструментом для модуляции клеточного ответа, в том числе и для усиления продукции провоспалительных цитокинов. Выявлено противораковое действие как экстрактов пептидогликанов, так и отдельных фракций пептидогликанов *Lactobacillus* [24]. Однако, несмотря на прогресс в изучении процессов усиления врожденного иммунитета с помощью производных пептидогликанов, механизмы противоракового действия отдельных муропептидов, выделенных из стенок пробиотических бактерий, изучены недостаточно.

Опухолевая активность муропептидов, ассоциированная с антипролиферативным и цитотоксическим действием, связана с модуляцией продукции цитокинов и хемокинов. Следует учитывать, что, в зависимости от мощности и продолжительности стимуляции, выработка цитокинов может инициировать как выживание клеток, так и их гибель. Так подавление жизнеспособности глиальных клеток стимуляцией провоспалительными факто-

рами – хорошо изученное явление [29]. Однако, если биологическая активность мурамилдипептида (MDP) доказана, то данные, подтверждающие цитотоксичность мурамил пентапептида (MPP) по отношению к опухолевым клеткам, практически отсутствуют. Экспериментально подтверждено, что мурамил пентапептид, выделенный из *L. delbrueckii* и идентифицированный как биоактивный муропептид с выраженными иммуномодулирующими свойствами, стимулирует рост числа лейкоцитов в ходе раннего постнатального развития, а также усиливает врожденный иммунитет [22]. Показано ингибирующее действие MPP на инвазивную способность, экспрессию транскрипционного фактора и систему репарации ДНК-повреждений в клетках глиальной опухоли [29]. Учитывая, что глиома является преобладающим типом рака головного мозга среди опухолей, происходящих из астроцитов, это особенно значимо.

Глиобластома – наиболее агрессивная форма глиом, встречающаяся среди опухолей головного мозга. Клетки глиобластомы имеют высокую скорость миграции и чрезвычайно склонны к инвазии. Ядерный фактор каппа В (NF-κB) является одним из универсальных транскрипционных факторов и адаптером клеточного ответа за счет продукции цитокинов. Кроме того, NF-κB служит молекулярной мишенью для муропептидов, инициирующих клеточную реактивность путем контроля трансляции, в том числе и в глиальных клетках [30]. Другим широко распространенным регулятором реактивности клеток является фермент поли-(АДФ-рибоза)-полимераза (PARP – E.C. 2.4.2.30). Это представитель небольшого семейства протеинов, обеспечивающих регуляцию функций клеток посредством ADP-рибозилирования белков-мишеней [15].

**Молекулярные механизмы действия.** Регуляторные функции PARP в различных типах клеток, включая регуляцию транскрипции, клеточного стрессового ответа, стабильности мРНК, а также деления клеток и деградации белков до-

статочно хорошо изучены [6]. Известно, что PARP служит коактиватором NF-κB и модулирует его транскрипционную активность в результате стимуляции клеток [19]. Такая уникальная муропептидная стимуляция реактивации клеток может вызывать ответное функциональное взаимодействие PARP и NF-κB. Клеточный ответ, который сопровождается обширной активацией как NF-κB, так и PARP, наиболее вероятно, инициирует гибель клеток за счет нарушения продукции цитокинов и увеличения энергетических затрат [10]. Следует читать, что цитокины участвуют в регуляции основных путей, включая дифференцировку и пролиферацию, как в нормальных, так и в раковых клетках.

Особо значимо, что мурамил пептиды способны снижать биоэнергетическое соотношение митохондрий [12]. Таким образом, связанная с опухолью аномалия энергетического метаболизма может быть причиной подавления раковых процессов, включая инвазию, так как нормальные клетки обладают более мощными механизмами адаптации к различным стимулам, чем раковые. Следовательно, муропептиды, инициируя метаболические нарушения в раковых клетках, препятствуют энергетическим затратам на их пролиферацию и миграцию.

В качестве противораковых агентов наиболее изученными среди всех муропептидов являются MDP и его производные. Однако имеются данные, что структурные особенности муропептидов могут влиять на степень митохондриальной токсичности этих соединений, а также вызывать нарушения синтеза АТФ. Кроме того, остается неясным влияние муропептидов на энергетический обмен при опухолях головного мозга. Несмотря на многочисленные исследования биологической активности муропептидов в различных мезенхимальных конечных эпителиальных клетках (макрофаги, лимфоциты, дендритные моноциты, эпителиальные и глиальные клетки), сведения о влиянии муропептидов и их производных на угнетение миграции опухолей крайне ограничены.

## **ВЫВОДЫ**

Уникальная структура муропептидов позволяет стимулировать ответы на большинство типов клеток через специфические внеклеточные и внутриклеточные рецепторы PRR. Транспорт муропептидов в клетки опосредован пептидным транспортером PrrT1, который экспрессируется во многих типах клеток и зависит от различных факторов, включая метаболическую активность. Известно, что для опухолевых клеток характерен более интенсивный метаболизм и использование для синтеза макроэргов, главным образом, аэробного распада глюкозы. Поэтому муропептиды могут инициировать в клетках опухоли аномальный клеточный ответ, способный подавлять агрессивный фенотип такого образования. Кроме того, воздействие мурамил пептидов на раковые клетки может инициировать сигнальные пути, отвечающие за направленную защиту реактивности клеток, подобно адаптивному ответу в нормальных (незлокачественных) клетках. Однако подобная инициация в опухолевых клетках может вызывать аномальную дисрегуляцию в клеточном ответе и переключаться на запрограммированную гибель клеток. Принимая во внимание, что различные фракции муропептидов являются цитотоксичными в отношении различных типов опухолей, можно предположить, что реализация анти-опухолевой активности может включать механизмы, которые инициируются мурамил пептидами в нормальных клетках в ходе модуляции врожденного иммунитета и баланса провоспалительных и противовоспалительных факторов. Возможно мурамил пептиды активируют клеточную реактивность в опухолевых и нормальных клетках через посредство PRR, а также опосредуют различные пути клеточного ответа, связанные с затратами метаболической энергии и высвобождением различных цитокинов и хемокинов. Таким образом, мурамил пептиды могут рассматриваться как молекулярный инструмент для поддержания жизнеспособности клеток и привлечения механизмов иммунологической резистентности.

**Effect of *Lactobacillus delbrueckii* cell wall hydrolysate on immune protection processes.** <sup>1</sup>Sukharensko E.V., <sup>2</sup>Nedzvetsky V.S., <sup>1</sup>Maksimov V.I.1. FSBEI HE «Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology - MBA by K.I.Scriabin, Moscow», 2. DNU by O. Honchara, Dnipro, Ukraine»

## **ABSTRACT**

Fragments of peptidoglycans, namely muramyl peptides, induce a complex cellular response through the activation of pattern recognition receptors. Over the past two decades, many structural sequences have been discovered that bind PG (proteins containing LysM; intracellular regulatory proteins of NOD-like receptors; proteins that bind the domain with penicillins and Ser / Thr-kinases; peptidoglycan recognition proteins; lectin-like receptors of C -type; eukaryotic cytosolic hexoninases). It has been shown that the use of muramyl peptides is an effective tool for modulating the cellular response, and for enhancing the production of proinflammatory cytokines in particular. The cytotoxicity of peptidoglycan fractions against various types of tumors, including sarcoma, leukemia, melanoma, and lung cancer, has been revealed. The tumor activity of muropeptides with antiproliferative and cytotoxic effects is associated with modulation of cytokine and chemokine production. It is especially significant that muramyl peptides are able to reduce the bioenergetic ratio of mitochondria as an anomaly of energy metabolism, associated with a tumor, may be the cause of suppression of cancer processes. Under natural conditions of environmental pollution, the immunomodulatory effect of the enzymatic hydrolyzate of the cell wall of *Lactobacillus delbrueckii* manifested the complex stimulation of the humoral and cellular links of the immune response, which was confirmed by an increase in the bactericidal and lysozyme activity of colostrum. The use of such immunomodulators can be a promising basis for regulation of the mechanisms of immune resistance, maintaining health and increasing the weight gain of animals for the first weeks of life.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Григорьев, В.С. Особенности полового созревания чистопородных и помесных свинок / В.С. Григорьев, В.И. Максимов // Зоотехния. – 2006. – № 2. – С. 31.
2. Масюк, Д.Н. Влияние препарата «Иммунолак» на уровень факторов неспецифической иммунной защиты молозива свиноматок / Д.Н. Масюк, Е.В. Сухаренко, В.С. Недзвецкий, А.В. Кокарев, В.И. Максимов // Вестник АПК Ставрополя. – 2016. – № 1(21). – С. 66–72.
3. Масюк, Д.Н. Эффекты иммуномодулирующего препарата из бактериальных стенок лактобацилл на гематологические показатели и иммунологическую резистентность поросят / Д. Н. Масюк, Е.В. Сухаренко, В.С. Недзвецкий, А.В. Кокарев, В.И. Максимов // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2016. – № 2. – С. 23–30.
4. Akira, S. Pathogen recognition and innate immunity / S. Akira, S. Uematsu, O. Takeuchi // Cell. – 2006. – V. 124. – P. 783–801. doi: 10.1016/j.cell.2006.02.015.
5. Amrouche, T. Effects of bifidobacterial cytoplasm, cell wall and exopolysaccharide on mouse lymphocyte proliferation and cytokine production / T. Amrouche, Y. Boutin, G. Prioult, I. Fliiss // Int Dairy J. – 2006. – V. 16(1). – P. 70–80.
6. Bock, F.J. RNA Regulation by Poly(ADP-Ribose) Polymerases / F.J. Bock, T.T. Todorova, P. Chang // Molecular Cell. – 2015. – V. 1. – P. 959–969.
7. Bock, F.J. New directions in poly(ADP-ribose) polymerase biology / F.J. Bock, P. Chang // FEBS J. – 2016. – V. 283(22). – P. 4017–4031.
8. Buist, G. LysM, a widely distributed protein motif for binding to (peptido) glycans / G. Buist, A. Steen, J. Kok, O.P. Kuipers // Mol. Microbiol. – 2008. – V. 68. – P. 838–847. doi: 10.1111/j.1365-2958.2008.06211.x.
9. Canas, M.A. Outer membrane vesicles from probiotic and commensal *Escherichia coli* activate NOD1-mediated immune responses in intestinal epithelial cells // M.A. Canas, M.J. Fabrega, R. Gimenez, J. Badia, L. Baldoma // Front. Microbiol. – 2018. – V. 9. – P. 498. doi: 10.3389/fmicb.2018.00498.
10. Chiarugi, A. Poly(ADP-ribose) polymerase-1 activity promotes NF- $\kappa$ B-driven transcription and microglial activation: Implication for neurodegenerative disorders / A. Chiarugi, M.A. Moskowitz // J Neurochem. – 2003. – V. 85(2). – P. 306–317.
11. Commane, D. The potential mechanisms involved in the anti-carcinogenic action of probiotics / D. Commane, R. Hughes, C. Shortt, I. Rowland // Mutation Research. - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis. – 2005. – V. 91. – P. 276–89.
12. El-Jamal, N. Effect of muramyl peptides on mitochondrial respiration / N. El-Jamal, G.M. Bahr, K.S. Echtay // Clin Exp Immunol. – 2009. – V. 155(1). – P. 72–78.
13. Franchi, L. Function of Nod-like receptors in microbial recognition and host defense // L. Franchi, N. Warner, K. Viani, G. Nunez // Immunol. Rev. – 2009. – V. 227. – P. 106–128. doi: 10.1111/j.1600-065X.2008.00734.x.
14. Furnari, F.B. Malignant astrocytic glioma: Genetics, biology, and paths to treatment / F.B. Furnari, T. Fenton, R.M. Bachoo, A. Mukasa, J.M. Stommel, A. Stegh, W.C. Hahn, K.L. Ligon, D.N. Louis, C. Brennan, L. Chin, R.A. DePinho, W.K. Cavenee // Genes and Development. – 2007. – V. 21. – P. 2683–2710.
15. Gibson, B.A. New insights into the molecular and cellular functions of poly(ADP-ribose) and PARPs / B.A. Gibson, W.L. Kraus // Nature Reviews Molecular Cell Biology. – 2012. – V. 13. – P. 411–124.
16. Gonet-Surówka, A.K. P1250 Influence of Lactobacilli probiotic strains on apoptosis of colon cancer cells lines / A.K. Gonet-Surówka, M. Strus, P.B. Heczko // Int J Antimicrob Agents. – 2007. – P. 343–344.
17. Horcajo, P. Peptidoglycan plasticity in bacteria: stress-induced peptidoglycan editing by noncanonical D-amino acids / P. Horcajo, M. A. de Pedro, F. Cava // Microb. Drug Resist. – 2012. – V. 18. – P. 306–313. doi: 10.1089/mdr.2012.0009.
18. Irazoki, O. Peptidoglycan Muropeptides: Release, Perception, and Functions as Signaling Molecules / O. Irazoki, S.B. Hernandez, F. Cava // Front. Microbiol. – 2019. – V. 10. – P. 500. doi: 10.3389/fmicb.2019.00500.

19. Kauppinen, T.M. Poly(ADP-ribose) polymerase-1-induced NAD<sup>+</sup> depletion promotes nuclear factor- $\kappa$ B transcriptional activity by preventing p65 de-acetylation / T.M. Kauppinen, L. Gan, R.A. Swanson // *Biochim Biophys Acta*. – 2013. – V. 1833 (8). – P. 1985–1991.
20. Kim, J.Y. Screening for antiproliferative effects of cellular components from lactic acid bacteria against human cancer cell lines / J.Y. Kim, H.J. Woo, Y.S. Kim, H.J. Lee // *Biotechnol Lett*. – 2002. – V. 24 (17). – P. 1431–1436.
21. Kong, Y.C. Effects of natural or synthetic microbial adjuvants on induction of autoimmune thyroiditis / Y.C. Kong, F. Audibert, A.A. Giraldo, N.R. Rose, L. Chedid // *Infect Immun*. – 1985. – V. 49(1). – P. 40–45. doi: 10.1128/IAI.49.1.40-45.1985.
22. Masjuk, D.M. A method of enhancing the natural resistance of newborn piglets. Ukraine Patent 118400 / D.M. Masjuk, V.S. Nedzvetsky KAV. August 10, 2017.
23. Mayer, S. C-type lectins: their network and roles in pathogen recognition and immunity / S. Mayer, M.K. Raulf, B. Lepenies // *Histochem. Cell Biol*. – 2017. – V. 147, P. 223–237. doi: 10.1007/s00418-016-1523-7.
24. McAdam, K.P. Amyloidosis and the serum amyloid A protein response to muramyl dipeptide analogs and different mycobacterial species / K.P. McAdam, N.T. Foss, C. Garcia, R. DeLellis, L. Chedid, R.J. Rees // *Infect Immun*. – 1983. – V. 39 (3). – P. 1147–1154. doi: 10.1128/IAI.39.3.1147-1154.1983.
25. Mellroth, P. A scavenger function for a *Drosophila* peptidoglycan recognition protein / P. Mellroth, J. Karlsson, H. Steiner // *J. Biol. Chem*. – 2003. – V. 278. – P. 7059–7064. doi: 10.1074/jbc.M208900200.
26. Mesnage, S. Molecular basis for bacterial peptidoglycan recognition by LysM domains / S. Mesnage, M. Dellarole, N.J. Baxter, J.B. Rouget, J.D. Dimitrov, N. Wang // *Nat. Commun*. – 2014. – V. 5. – P. 4269. doi: 10.1038/ncomms5269.
27. Mir, M. The extracytoplasmic domain of the *Mycobacterium tuberculosis* Ser/Thr kinase PknB binds specific muropeptides and is required for PknB localization / M. Mir, J. Asong, X. Li, J. Cardot, G.J. Boons, R.N. Husson // *LoS Pathog*. – 2011. – V. 7 (7). – P. e1002182. doi: 10.1371/journal.ppat.1002182
28. Nadesalingam, J. Mannose-binding lectin recognizes peptidoglycan via the N-acetyl glucosamine moiety, and inhibits ligand-induced proinflammatory effect and promotes chemokine production by macrophages / J. Nadesalingam, A.W. Dodds, K.B.M. Reid, N. Palaniyar // *J. Immunol*. – 2005. – V. 175. – P. 1785–1794. doi: 10.4049/jimmunol.175.3.1785.
29. Nedzvetsky, V.S. Neuroprotective Effect of Curcumin on LPS-activated Astrocytes Is Related to the Prevention of GFAP and NF- $\kappa$ B Upregulation / V.S. Nedzvetsky, C.A. Agca, S.V. Kyrychenko // *Neurophysiology*. – 2017. – V. 49(4). – P. 305–307.
30. Owens, R. Divergent neuroinflammatory regulation of microglial TREM expression and involvement of NF- $\kappa$ B / R. Owens, K. Grabert, C.L. Davies, A. Alfieri, J.P. Antel, L.M. Healy, B.W. McColl // *Front Cell Neurosci*. – 2017. – V. 2. – P. 11.
31. Plusa, T. The immunomodulatory proteins contained in the colostrum. / T. Plusa, P. Merkuriusz // *Livestock Production Science*. – 2009. – V. 25. – P. 234–238.
32. Porter, P. Secretory IgA and antibodies to *Escherichia Coli* in porcine colostrum and milk and their significance in the alimentary tract of the young pig / P. Porter, D.E. Noakes, and W.D. Allen // *Immunology*. – 1970. – V. 18. – P. 245–256.
33. Vaarala, O. Immunological effects of probiotics with special reference to lactobacilli / O. Vaarala // *Clin. Exp. Allergy*. – 2003. – V. 12(33). – P. 1634–1640.
34. Wolf, A.J. Peptidoglycan recognition by the innate immune system / A.J. Wolf, D.M. Underhill // *Nat. Rev. Immunol*. – 2018. V. 18. – P. 243–254. doi: 10.1038/nri.2017.136.
35. Zhang, X.C. Evolutionary genomics of LysM genes in land plants / X.C. Zhang, S.B. Cannon, G Stacey // *BMC Evol. Biol*. – V. 9(9). – P. 183. doi: 10.1186/1471-2148-9-183.