

ВОЗДЕЙСТВИЕ МАТРИКСА БИОПЛЕНКИ *S.AUREUS* НА КУЛЬТУРУ ФИБРОБЛАСТОВ ДЕРМЫ

Ю.И. Ярец, к.м.н., доцент (e-mail: artyut@mail.ru)

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», г. Гомель, Республика Беларусь

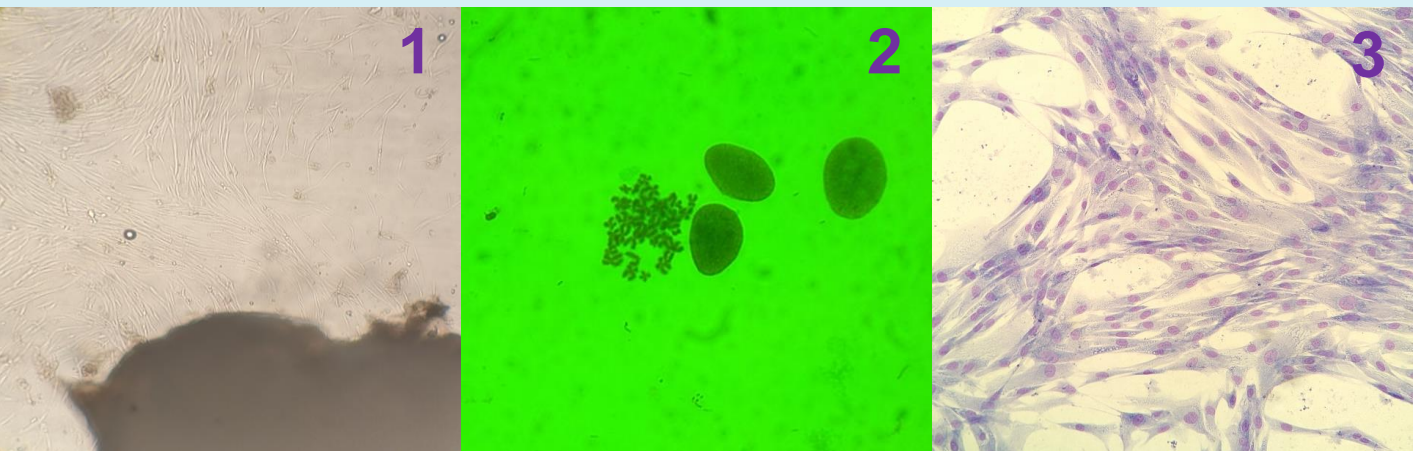
Введение. Биопленочный матрикс определяют как биохимически активную систему, представляющую собой «резервуар ферментов», которые используются бактериями для адгезии/колонизации, инвазии и агрессии. *S.aureus* входит в этиологическую структуру инфекции острых ран, является частым представителем микрофлоры хронических ран. В условиях нарушения репарации биопленка *S.aureus* вносит свой вклад в поддержание воспаления, изменяя функциональную активность клеток кожи. Оценка влияния компонентов биопленки на культуру клеток позволит установить характер биологической активности бактерий непосредственно на клеточном уровне, а также даст возможность проецировать полученные данные на организм человека.

Цель исследования: проанализировать воздействие матрикса биопленки *S.aureus* на состояние культуры дермальных фибробластов.

Материал и методы. Фибробласты из образцов здоровой кожи (n=20) культивировали методом эксплантатов. Для проведения эксперимента получали матрикс биопленки клинических штаммов *S.aureus*, который добавляли в среду для фибробластов (опытная группа). Контролем служили фибробласты, культивированные без добавления матрикса биопленки. При описании пролиферативной активности фибробластов рассчитывали время удвоения культуры и индекс пролиферации, цитотоксичность биопленки оценивалась на основании результатов ЛДГ-теста, относительного количества 7AAD+ клеток, экспрессии маркера апоптоза CD95. Предварительно проводили оценку подлинности культур фибробластов, по результатам иммунофенотипирования клетки имели фенотип: CD31-/CD34-/CD45-/CD14-/HLA-DR-; CD44+/CD90+/вimentин+/CD73+/CD10+/CD105+.

Результаты

Первичная культура клеток фибробластов кожи



- 1- Радиальная миграция фибробластов (2 нед.)
- 2- Картирование
- 3- Монослой фибробластов, 4-й пассив, окраска по Романовскому-Гимзе

Оценка пролиферативной активности в ходе эксперимента

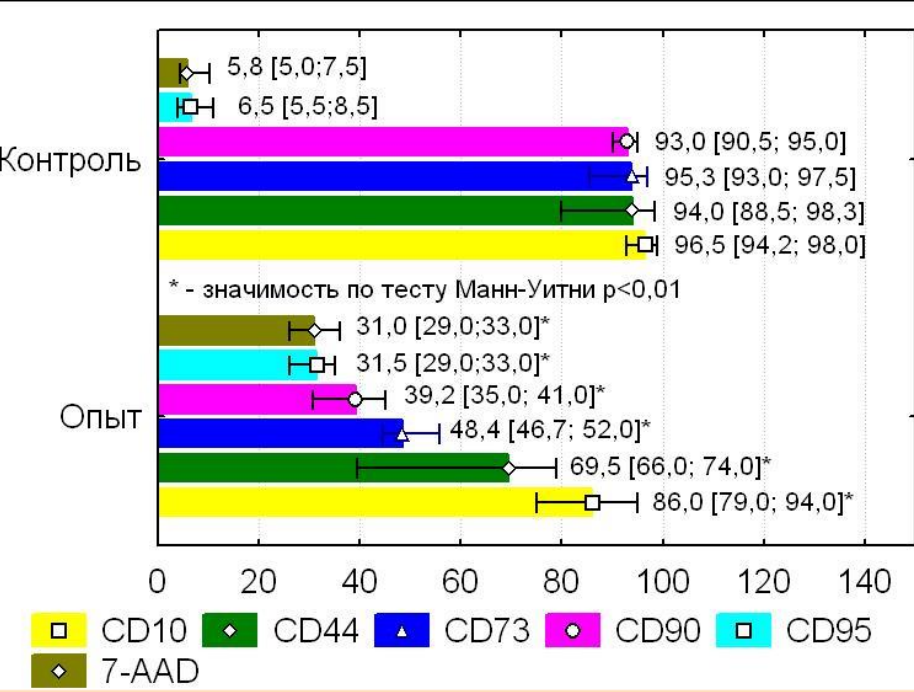
Показатель	Me [25-й; 75-й процентиля]	
	Контроль	Опыт (+матрикс S. aureus)
3-и сутки эксперимента		
Плотность монослоя, кл/мм ²	530 [495; 580]	400 [350; 420]*
Индекс пролиферации, отн. ед.	2,2 [2,4; 2,9]	1,8 [1,6; 2,0]*
Время удвоения, ч	21 [20,8; 21,5]	29 [27; 31]*
7-и сутки эксперимента		
Плотность монослоя, кл/мм ²	3520 [3480; 3615]	2000 [1800; 2300]*
Индекс пролиферации, отн. ед.	1,5 [1,4; 1,7]	1,4 [1,3; 1,9]*
Время удвоения, ч	45,4 [44,5; 52]	33 [32; 34]*

Примечание: * - значимость по тесту Манн-Уитни по сравнению с контролем, $p < 0,05$

Оценка цитотоксичности матрикса биопленки

Показатель	ЛДГ в среде, ЕД/л	ЛДГ в лизате клеток, ЕД/л	% поврежденных клеток
	Me [25-й; 75-й процентиля]		
3-и сутки эксперимента			
Контроль	35 [28; 43]	220 [190; 250]	14 %
Опыт	97 [90; 120]*	232 [220; 243]*	29,5 %*
7-и сутки эксперимента			
Контроль	39 [30; 45]	250 [220; 270]	13,5 %
Опыт	135 [125; 144]*	255 [218; 270]*	34,6 %*

Оценка иммунофенотипа фибробластов



Заключение

Результаты эксперимента отражали негативное влияние компонентов матрикса биопленки *S.aureus* на состояние фибробластов кожи в виде снижения пролиферативной активности клеток, цитотоксичности, изменения экспрессии CD маркеров, индукции апоптоза.

Исследование выполнено при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований по теме НИР «Жизнеспособность и функциональная активность фибробластов при взаимодействии с матриксом бактериальных биопленок» (договор № М19-007 от 02.05.2019), № госрегистрации 20191399 от 19.06.2019.

* - значимость по тесту Манн-Уитни, p<0,05