

УДК: 571.27

Е.А. Гришина

ЦИТОКИНОВЫЙ СТАТУС ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ГЕЛЬМИНТОЗАХ И ИХ ЛЕЧЕНИИ

Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования,
Москва, Российская Федерация

E.A. Grishina

LABORATORY ANIMALS CYTOKINE STATUS UNDER HELMINTHOSIS AND ITS TREATMENT

Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russian Federation

Резюме. *Целью работы* было исследовать динамику содержания про- и противовоспалительных цитокинов (IL-1, IL-4) и их соотношения (IL-1/ IL-4) в сыворотке крови экспериментальных мышей при развитии у них сифациоза и трихоцефалеза в первые 3 недели развития инвазии, а также на фоне проведения этиотропной монотерапии левамизолом и в комплексе с иммуномодулятором — ронколейкином. **Результаты.** Было выявлено, что в динамике развития экспериментальных инвазий (сифациоза и трихоцефалеза) на ранних этапах от 3-х до 21-х суток после заражения наблюдается значительная тенденция к повышению IL-1 на фоне менее значительного роста концентрации IL-4. Это сопровождается также плавным увеличением соотношения IL-1/IL-4 без выраженных признаков воспаления. В группе животных, получающих монотерапию левамизолом, цитокиновый профиль характеризовался плавным снижением концентраций цитокинов до контрольных значений при лечении трихоцефалеза, и удержанием на одном уровне — при лечении сифациоза. Следовательно, применение левамизола, обладающего антигельминтными и иммуномодулирующими свойствами, показало его корректирующий нормализующий эффект цитокинового статуса, заметно меняющегося при развитии самих инвазий. Использование комплексной терапии, включающей левамизол с ронколейкином, содержащим в своем составе провоспалительный цитокин IL-2, при обеих инвазиях нормализовало соотношение IL-1/IL-4, тем самым удерживая баланс между про- и противовоспалительными реакциями на постоянном уровне. **Выводы.** Таким образом, определение концентрации провоспалительного цитокина IL-1 и противовоспалительного цитокина IL-4, а также вычисление их соотношения показали активное участие данных медиаторов воспаления в развитии инвазионного процесса. Использование монотерапии левамизолом приводит к незначительной коррекции цитокинового статуса, а применение комплексной терапии с иммуномодулятором позволяет удерживать баланс

Abstract. *The aim of the present work* was to investigate a temporal profile of pro- and anti-inflammatory cytokines (IL-1 and IL-4) and their ratio (IL-1/ IL-4) in the serum of mice after experimental infection with *Syphacia obvelata* or *Trichuris trichiura* within the first 3 weeks of infestation as well as on the background of etiotropic therapy with levamisole alone and in combination with roncoleukin.

It was found that in the dynamics of the experimental infestations (*Syphacia obvelata* or *Trichuris trichiura*) within the period from 3d to 21st day there was a significant tendency of increasing IL-1 level, while the growth of IL-4 concentration was less pronounced. The IL-1/IL-4 ratio steadily increased without pronounced symptoms of inflammation. In the group of animals infected with *T. trichiura* and receiving mono-therapy with levamisole cytokine concentration decreased gradually to the control values, while in the group infected with *S. obvelata* this indicator maintained at the same level. Thus, the capacity of levamisole, which has anthelmintic and immunomodulating properties, to normalize cytokine status, which significantly changes with the development of invasions, has been confirmed. Roncoleukin comprises pro-inflammatory cytokine IL-2. So the use of complex therapy which combined both levamisole and roncoleukin normalized IL-1/IL-4 ratio holding the balance between pro- and anti-inflammatory responses to a constant level during both invasions.

This study confirmed that determining the concentration of the pro-inflammatory cytokine IL-1 and anti-inflammatory cytokine IL-4 as well as their ratio can be exploited to dynamically control the invasive process and the effectiveness of the therapy. Monotherapy with levamisole results in an insignificant correction of the cytokine status, and the use of complex therapy with the immunomodulator allows to keep the balance between pro- and anti-inflammatory reactions at a constant level.

между про- и противовоспалительными реакциями на постоянном уровне.

Ключевые слова: гельминтозы, иммунопатология, цитокины, левамизол, ронколеукин

Keywords: helminthiases, immunopathology, cytokines, levamisole, roncoleukin

Конфликт интересов отсутствует.

There is no conflict of interest.

Контактная информация автора, ответственного за переписку: Гришина Елена Анатольевна
gelana2010@yandex.ru

Contact information of the author responsible for correspondence: Elena A. Grishina
gelana2010@yandex.ru

Дата поступления 06.09. 2017

Received 06.09.2017

Образец цитирования:

Гришина Е.А. Цитокиновый статус лабораторных животных при гельминтозах и их лечении. Вестник уральской медицинской академической науки. 2017, Том 14, №4, с. 332–340, DOI: 10.22138/2500-0918-2017-14-4-332-340

For citation:

Grishina E.A. Laboratory animals cytokine status under helminthosis and its treatment. Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. Journal of Ural Medical Academic Science. 2017, Vol. 14, no. 4, pp. 332–340. DOI: 10.22138/2500-0918-2017-14-4-332-340 (In Russ)

Введение

Естественная и патологическая иммунизация организма хозяина при кишечных гельминтозах ещё недостаточно ясна и осуществляется, как показывают исследования, не за счет непосредственного контакта гельминта с клетками и тканями хозяина, а за счет секреторно-эксcretорных продуктов, выделяемых ими в процессе жизнедеятельности, а также за счет антигенов, высвобождающихся из тканей паразитов в случае их гибели и распада [1].

Клетки иммунной системы связаны сложной сетью межклеточных взаимодействий, которые играют ключевую роль на разных этапах становления и функционирования иммунной системы. Межклеточные взаимодействия осуществляются как через непосредственный контакт клеток, так и посредством гуморальных сигнальных молекул — цитокинов. Изучение функций цитокинов и их влияния на развитие иммунитета ведется уже очень давно [2, 3, 4, 5, 6]. Важным функциональным свойством цитокинов является регуляция развития и поведения клеток-эффекторов иммунной системы. Таким образом, они участвуют в поддержании гомеостаза, в управлении гиперчувствительностью и воспалительными процессами и, в некоторых случаях, могут способствовать развитию острого или хронического повреждения тканей и органов [2].

Цитокины действуют посредством рецепторного механизма и лишены специфичности в отношении антигенов. В связи с этим специфическая диагностика инфекционных заболеваний с помощью определения уровня цитокинов невозможна. Тем не менее, определение их концентрации в крови дает информацию о функциональной активности различных типов им-

мунокомпетентных клеток, тяжести воспалительного процесса, его переходе на системный уровень и о прогнозе заболевания [7].

Как показали исследования, патогенез паразитарных заболеваний напрямую зависит от уровней продукции про- и противовоспалительных цитокинов и их влияния на иммунорегуляторные и эффекторные иммунные механизмы [1, 2, 3, 4]. В настоящее время доказана ведущая роль провоспалительных цитокинов и их баланса с антагонистами — противовоспалительными цитокинами в выраженности и направленности системной воспалительной реакции [5, 6, 8]. При этом в условиях любой патологии продукция указанных факторов нарушается, что способствует развитию иммуноопосредованного воспаления [9, 10].

Возникновение цитокинового дисбаланса, а также продуцирование патогенами токсинов и молекул, связывающих, ингибирующих или имитирующих активность отдельных цитокинов, приводит к регуляторной дезорганизации иммунной системы. Иммунный ответ направляется по неадекватному для защиты от патогенов пути, что способствует прогрессированию инфекционного процесса [7, 8, 9, 10].

Кроме того, известно, что цитокины привлекают клетки, участвующие в формировании клеточных инфильтратов по типу поздней фазы аллергии немедленного типа с накоплением эозинофилов, тучных клеток, нейтрофилов, Th₂.

Таким образом, как при нормальном функционировании иммунной системы, так и при ее мобилизации при воспалении и инфекциях, цитокины чрезвычайно важны в обеспечении адекватной активности клеток и их взаимодействий. Велика роль системы цитокинов и в процессах интеграции иммунной системы с дру-

гими органно-функциональными системами организма, в частности с эндокринной, иммунной системами и системой гемопозза.

Интерлейкин-1 (ИЛ-1) относится к провоспалительным цитокинам, обладает пирогенными свойствами, является основным медиатором локальной воспалительной реакции. Действуя на клетки эндотелия, способствует повышенной экспрессии поверхностных молекул, опосредующих адгезию лейкоцитов. Оказывая влияние на созревание В-лимфоцитов, на синтез Т-хелперами ИЛ-2, он играет важную роль в развитии реакций адаптивного иммунитета. Цитокины семейства ИЛ-1 в норме активируют защитные реакции, но способны вызвать неконтролируемое развитие воспаления и повреждение тканей [9, 11]. Клинические данные подтверждают, что в случае хронических воспалительных процессов генетически обусловленная повышенная продукция ИЛ-1 ведет к более выраженным симптомам воспаления и более тяжелому течению патологического процесса, то есть не выполняет защитную функцию, а участвует в патогенезе заболевания [11].

Интерлейкин-4 (ИЛ-4) является антагонистом провоспалительных цитокинов. Его продукция усиливается под влиянием ИЛ-1 и ИЛ-2. ИЛ-4 аутокринно стимулирует функции Th_2 , размножение и созревание В-клеток, обеспечивает переключение синтеза иммуноглобулинов В-клетками на IgG_1 (у мышей), IgG_4 (у человека) и на IgE . ИЛ-4 действует на моноциты/ макрофаги ингибирующим образом, подавляя продукцию ими ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-10, ФНО- α . Таким образом, в целом ИЛ-4 является индуктором образования Th_2 , активатором аллергических реакций.

Данный факт обуславливает целесообразность экспериментальной оценки содержания данных цитокинов на всех этапах развития гельминтозного процесса. Динамическое исследование состояния цитокинов позволяет определить характер течения инвазионного процесса в целом и развития иммунопатологии, позволяет получить информацию о функциональной активности различных типов иммунокомпетентных клеток, о тяжести воспалительного процесса, его переходе на системный уровень и прогнозе, о соотношении процессов активации Th_1 и Th_2 , что очень важно при дифференциальной диагностике ряда инфекционных и иммунопатологических процессов, о стадии развития ряда аллергических и аутоиммунных заболеваний.

Кроме того, определение концентрации провоспалительных и противовоспалительных цитокинов и их соотношения в некоторых случаях может быть использовано для оценки безопасности проводимой антигельминтной монотерапии или комплексной иммуномодулирующей терапии [11].

Для этиотропной монотерапии нами был выбран левамизол (декарис), который является высокоэффек-

тивным антигельминтным препаратом, обладает широким спектром нематодоцидного действия, а также стимулирует иммунную систему млекопитающих за счет активации клеточного иммунитета и не обладает аллергизирующим действием, а в небольших дозах является еще иммуномодулятором [12].

Также в современной ветеринарной и медицинской практике все более активно используются препараты, основой которых являются цитокины. Одним из первых отечественных препаратов, относящихся к этой группе, относится ронколейкин. Это рекомбинантный интерлейкин-2 (ИЛ-2) человека [13], который и был выбран нами для сочетанной терапии с левамизолом.

Целью работы было исследовать динамику содержания про- и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-4) и их соотношения (ИЛ-1/ ИЛ-4) в сыворотке крови экспериментальных животных- мышей при развитии у них сифациоза и трихоцефалеза в течении первых 21 суток, а также при проведении этиотропной монотерапии левамизолом и комплексной терапии с ронколейкином.

Материалы и методы

В эксперименте использовались 330 мышей со средним весом 18-20 г, которые содержались в стандартных условиях вивария ФГБНУ ВНИИ фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений имени К.И. Скрябина. Животные были подразделены на следующие экспериментальные группы: 1) интактные мыши (контрольная группа) — 10 шт.; 2) животные, зараженные *Syphacia obvelata* (Rudolphi, 1802), Seurat, 1916 из подотряда *Oxiurata* — 60 мышей; 3) животные, зараженные *Trichocephalus muris* (Schrank, 1788) из подотряда *Trichocephalata* — 60 мышей; 4) животные, зараженные *Syphacia obvelata* (Rudolphi, 1802), Seurat, 1916 и получавшие через 7 суток после заражения левамизол (декарис) однократно в дозе 7,5 мг/кг — 50 мышей; 5) животные, зараженные *Trichocephalus muris* (Schrank, 1788) и получавшие через 7 суток после заражения левамизол (декарис) однократно в дозе 7,5 мг/кг — 50 мышей; 6) животные, зараженные *Syphacia obvelata* (Rudolphi, 1802), Seurat, 1916 и получавшие через 7 суток после заражения одновременно левамизол (декарис) однократно в дозе 7,5 мг/кг и ронколейкин в дозе 0,05 мг/кг (5000 МЕ/кг) — 50 мышей; 7) животные, зараженные *Trichocephalus muris* (Schrank, 1788) и получавшие через 7 суток после заражения одновременно левамизол (декарис) однократно в дозе 7,5 мг/кг и ронколейкин в дозе 0,05 мг/кг (5000 МЕ/кг) — 50 мышей.

Нематоды *Trichocephalus muris* (Schrank, 1788) и *Syphacia obvelata* (Rudolphi, 1802), Seurat, 1916 относятся к гео-гельминтам, локализуются в слепой, ободочной и сигмовидной кишках. У *Trichocephalus muris*

при температуре 25-30 °С за 16-25 сут в яйце формируется подвижная личинка и яйца становятся инвазионными. Половая зрелость *T. muris* наступает за 25-40 сут. У *Syphacia obvelata* яйца становятся инвазионными за несколько часов, а самки достигают половой зрелости за несколько суток. Выход личинок из яиц происходит в тонком кишечнике, а затем они появляются в отделах толстой кишки.

Для экспериментального заражения яйца нематод получали из фекалий спонтанно зараженных животных путем отмывания и накапливания флотационным методом Дарлинга, применяемым в паразитологии, и/или помещением нематод в чашки Петри с морской водой для откладки яиц [13]. В качестве флотационного раствора использовали смесь Бреза, состоящую из сульфата магния и тиосульфата натрия (плотность раствора 1,25-1,3 мг/см³), насыщенных растворов гипосульфита и поваренной соли, которые заранее готовили, а затем смешивали (плотность раствора 1,3 мг/см³), а также раствор сахарозы (плотность 1,25 мг/см³). Яйца культивировали в термостате при 30-37 °С до инвазионного состояния и использовали для заражения. Перед заражением культуру яиц тщательно размешивали на магнитной мешалке и проводили подсчет яиц в камере Горяева. Для заражения животных использовали суспензию инвазионных яиц с содержанием в 1 мл физиологического раствора около 200 экз. Заражение животных проводили перорально взвесью яиц по 100 экз. на животного. Подтверждение факта заражения животных, а также завершение острой и начало хронической стадии трихоцефалеза и сифациоза устанавливали с помощью копроскопии до появления первых яиц в фекалиях. Процент незараженных животных по данной методике составлял не более 5% и был исключен из эксперимента.

Выбор терапевтического препарата и его доза при монотерапии был обусловлен известными рекомендациями [12, 14]. Животным вводили пипеткой перорально через 7 суток после заражения левамизол (декарис) однократно в дозе 7,5 мг/кг или комплекс из левамизола и ронколейкина в дозе 0,05 мг/кг (5000 МЕ/кг).

В ходе опытов ежедневно проводили клинический осмотр животных. Однако, при кишечных гельминтозах клинические признаки инвазии очень слабо выражены или не выражены совсем. Один раз в три-четыре дня у животных брали кровь для получения сыворотки и проведения молекулярных исследований. В течение эксперимента у мышей брали кровь из хвостовой вены через 3, 7, 10, 14, 17, 21 суток после заражения. Кровь экспериментальных животных забирали в сухие центрифужные пробирки, отстаивали 1 ч при комнатной температуре и 1 ч при +4 °С. После центрифугирования в течение 10 мин при 3000 об/мин получали сыворотку, которую замораживали и

хранили при t -20 °С до года и при t -80 °С более года до момента определения цитокинов.

В исследуемой сыворотке животных контрольной и опытных групп оценивали содержание цитокинов (IL-1, IL-4) методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием тест-систем с флуоресцентным усилением компании CytImmune Sciences Inc. (Роквиль, Мэриленд), ELISA MAX Standard Sets (Biolegend, США), ELISA Development Kit (PeproTech, США) и тест-систем ООО «Цитокин» (г. Санкт-Петербург), на анализаторе «Multiskan» (Финляндия) при длине волны 450 нм. Чувствительность используемых тест-систем составляла 1-2 пкг/мл. Для расчета полученной концентрации для каждого цитокина строилась калибровочная кривая на основании оптической плотности стандартов с известным содержанием определяемого цитокина.

Методика статистического анализа включала расчет средней величины с вычислением средней арифметической M , средней ошибки $\pm m$ и вероятности различий p с использованием компьютерной программы SPSS Statistics 17,0 для Microsoft. Достоверность выявленных различий определяли с помощью t -критерия Стьюдента в доверительном интервале >95% при нормальном распределении вариационного ряда.

Результаты и обсуждение

Исследование содержания цитокинов в венозной крови мышей опытных групп относительно таковой у интактных животных показало достоверные их изменения (Табл. 1, 2).

Таблица 1
Динамика содержания цитокинов в крови мышей в процессе развития трихоцефалеза и проведения моно- и комплексной терапии
Table 1
Dynamics of changes in cytokine concentrations in the blood of mice during the development of trichocephalosis and mono- and complex therapy

Группы животных / Groups of animals	Сроки (сут) развития инвазии и проведения терапии / Time (days) of invasion development and therapy					
	3 сут / days n=10	7 сут / days n=10	10 сут / days n=10	14 сут / days n=10	17 сут / days n=10	21 сут / days n=10
IL-1 (пкг/мл) (M±m, P)						
Контрольная группа мышей (интактные) / Control group of mice (intact), n=10	6,51±0,16	7,11±0,26	6,98±0,54	6,87±0,43	7,30±0,32	7,21±0,10
Группа зараженных мышей / Group of infected mice, n=60	8,58±0,19*	10,17±0,22*,**	12,93±0,51*,**	13,67±0,52*,**	15,39±0,45*,**	16,26±0,37*,**
Группа зараженных мышей, получавших левамизол / Group of infected mice treated with levamisole, n=50		9,97±0,1*	10,94±0,43*,**	11,53±0,47*,**	12,37±0,21*,**	14,06±0,49*,**
Группа зараженных мышей, получавших левамизол и ронколейкин / Group of infected mice treated with levamisole and roncoleukin, n=50		8,45±0,23*,**	9,24±0,43*,**	9,13±0,21*,**	8,34±0,34*	7,06±0,47**
IL-4 (пкг/мл) (M±m, P)						
Контрольная группа мышей (интактные) / Control group of mice (intact), n=10	5,50±0,16	6,34±0,36	5,78±0,23	5,96±0,06	6,20±0,21	6,04±0,28
Группа зараженных мышей / Group of infected mice, n=60	6,94±0,22*	8,24±0,18*,**	9,74±0,34*,**	11,56±0,28*,**	13,04±0,31*,**	16,21±0,17*,**
Группа зараженных мышей, получавших левамизол / Group of infected mice treated with levamisole, n=50		7,86±0,13*	9,54±0,43*,**	10,43±0,47*,**	11,37±0,21*,**	13,26±0,49*,**
Группа зараженных мышей, получавших левамизол и ронколейкин / Group of infected mice treated with levamisole and roncoleukin, n=50		6,86±0,16*	7,56±0,34*,**	8,95±0,38*,**	10,17±0,19*,**	10,21±0,32*,**
(IL-1/IL-4) у.е. (M±m, P)						
Контрольная группа мышей (интактные) / Control group of mice (intact), n=10	1,18±0,35	1,12±0,26	1,21±0,19	1,16±0,44	1,18±0,23	1,20±0,31
Группа зараженных мышей / Group of infected mice, n=60	1,25±0,15*	1,23±0,05*	1,33±0,13*,**	1,20±0,15	1,20±0,11	1,01±0,08*,**
Группа зараженных мышей, получавших левамизол / Group of infected mice treated with levamisole, n=50		1,27±0,23*	1,15±0,19*,**	1,12±0,17**	1,10±0,09*,**	1,10±0,12*,**
Группа зараженных мышей, получавших левамизол и ронколейкин / Group of infected mice treated with levamisole and roncoleukin, n=50		1,23±0,10*	1,22±0,12	1,10±0,07*,**	0,82±0,14**	0,69±0,09*,**

Примечание: * – достоверное отличие в сравнении с контролем при P<0,05;

** – достоверное отличие с началом эксперимента при P<0,05;

Таблица 2

Динамика содержания цитокинов в крови мышей в процессе развития сифациоза и проведения моно- и комплексной терапии

Table 2

Dynamics of changes in cytokine concentrations in the blood of mice during the development of syphacioses and mono-and complex therapy

Группы животных / Groups of animals	Сроки (сут) развития инвазии и проведения терапии / Time (days) of invasion development and therapy					
	3 сут / days n=10	7 сут / days n=10	10 сут / days n=10	14 сут / days n=10	17 сут / days n=10	21 сут / days n=10
IL-1 (пкг/мл) (M±m, P)						
Контрольная группа мышей (интактные) / Control group of mice (intact), n=10	6,51±0,16	7,11±0,26	6,98±0,54	6,87±0,43	7,30±0,32	7,21±0,10
Группа зараженных мышей / Group of infected mice, n=60	9,18±0,17*	11,34±0,29*,**	13,87±0,57*,**	14,99±0,48*,**	16,45±0,40*,**	17,98±0,39*,**
Группа зараженных мышей, получавших левамизол / Group of infected mice treated with levamisole, n=50		10,67±0,21*	11,88±0,33*,**	12,74±0,41*,**	13,65±0,29*,**	14,96±0,47*,**
Группа зараженных мышей, получавших левамизол и ронколейкин / Group of infected mice treated with levamisole and roncoleukin, n=50		9,02±0,20*	10,24±0,33*,**	9,98±0,17*,**	10,39±0,24*,**	10,87±0,38*,**
IL-4 (пкг/мл) (M±m, P)						
Контрольная группа мышей (интактные) / Control group of mice (intact), n=10	5,50±0,16	6,34±0,36	5,78±0,23	5,96±0,06	6,20±0,21	6,04±0,28
Группа зараженных мышей / Group of infected mice, n=60	8,91±0,27*	9,24±0,19*	10,53±0,38*,**	10,89±0,41*,**	11,44±0,34*,**	12,29±0,77*,**
Группа зараженных мышей, получавших левамизол / Group of infected mice treated with levamisole, n=50		8,16±0,10*	8,59±0,40*	9,38±0,51*,**	10,24±0,27*,**	11,27±0,36*,**
Группа зараженных мышей, получавших левамизол и ронколейкин / Group of infected mice treated with levamisole and roncoleukin, n=50		7,80±0,15*	8,16±0,30*	8,25±0,31*,**	9,37±0,43*,**	9,29±0,29*,**
(IL-1/IL-4) у.е. (M±m, P)						
Контрольная группа мышей (интактные) / Control group of mice (intact), n=10	1,18±0,23	1,12±0,11	1,21±0,26	1,15±0,31	1,18±0,41	1,19±0,17
Группа зараженных мышей / Group of infected mice, n=60	1,03±0,12*	1,23±0,09*,**	1,32±0,14*,**	1,38±0,10*,**	1,44±0,15*,**	1,46±0,13*,**
Группа зараженных мышей, получавших левамизол / Group of infected mice treated with levamisole, n=50		1,31±0,19*	1,38±0,13*,**	1,36±0,21*,**	1,33±0,16*	1,33±0,21*
Группа зараженных мышей, получавших левамизол и ронколейкин / Group of infected mice treated with levamisole and roncoleukin, n=50		1,1±0,14	1,25±0,17**	1,21±0,10*,**	1,11±0,19*,**	1,17±0,21

Примечание: * – достоверное отличие в сравнении с контролем при P<0,05;

** – достоверное отличие с началом эксперимента при P<0,05;

Концентрация провоспалительного цитокина IL-1 в самые ранние сроки (через 3, 7, 10, 14, 17 суток) и в конце мониторинга (через 21 сутки) после заражения имела значительную тенденцию к увеличению до $16,26 \pm 0,37$ пкг/мл при трихоцефалезе и до $17,98 \pm 0,39$ пкг/мл при сифациозе относительно контроля ($7,21 \pm 0,10$ пкг/мл), т.е. более чем в 2 раза. Учитывая широкий спектр биологической активности IL-1 и его роль главного медиатора развития местной воспалительной реакции и регулятора иммунного ответа, можно предположить, что именно IL-1 запускает комплекс местных защитных реакций, вовлекающих практически все типы клеток-эффекторов воспаления в элиминацию патогена и восстановление целостности поврежденной ткани [14].

Противовоспалительные цитокины, в том числе IL-4, представляют альтернативу провоспалительным, их эффекты носят антагонистический характер, угнетая выработку последних [15, 16]. Эксперимент показал, что концентрация противовоспалительного цитокина IL-4 в ранние сроки (через 3, 7, 10, 14, 17 суток) и в конце мониторинга (через 21 сутки) после заражения также имела тенденцию к увеличению до $16,21 \pm 0,17$ пкг/мл при трихоцефалезе и до $12,29 \pm 0,77$ пкг/мл при сифациозе относительно контроля ($6,04 \pm 0,28$ пкг/мл). Известно, что изменение уровня продукции IL-4 вызывает нарушение регуляции синтеза IgE, что было положено в основу известной концепции о дисбалансе продукции цитокинов Th₁ и Th₂ в патогенезе аллергии, во время которой происходит увеличение экспрессии генов IL-4 и усиление активности В-лимфоцитов.

С целью оценки равновесия между про- и противовоспалительными цитокинами нами был изучен коэффициент (ПВК), который рассчитывали делением уровня IL-1 на уровень IL-4. Как оказалось, наблюдаемая нами разнонаправленность изменений концентрации про- и противовоспалительных цитокинов не отразилась на их соотношении. Динамика соотношения IL-1/IL-4 при развитии гельминтозов имела различный характер: незначительный подъем — в ранние сроки инвазионного процесса при трихоцефалезе (к 3–10 суткам от начала исследования коэффициент превышал контроль), и снижение — на 14 сутки с постепенным возвратом к 21 суткам к контрольным значениям (табл. 1). Как следует из полученных нами результатов, у экспериментальных животных, зараженных сифациозом, имелось более заметное повышение коэффициента ПВК (IL-1/IL-4) на протяжении всего опыта, что свидетельствует о преобладающем влиянии провоспалительных цитокинов над противовоспалительными при данной инвазии (табл. 2).

Проведенные исследования показали, что за счет поддержания баланса и контролируемых взаимоотношений между провоспалительными и противовоспалительными медиаторами, по-видимому, создаются предпосылки для уничтожения патогенного агента, его элиминации и поддержания гомеостаза.

В группе животных, получающих монотерапию левамизолом, цитокиновый профиль характеризовался некоторыми общими закономерностями: плавное снижение концентраций цитокинов до контрольных значений при лечении трихоцефалеза и удержание на одном уровне — при лечении сифациоза. Таким образом, применение левамизола, обладающего антигельминтными и иммуномодулирующими свойствами, показывает его корректирующий нормализующий эффект цитокинового статуса, заметно меняющегося при развитии инвазий.

Интересно отметить, что использование комплексной терапии, включающей левамизол с ронколейкином, содержащим в своем составе провоспалительный цитокин IL-2, при обеих инвазиях нормализовало соотношение IL-1/IL-4, тем самым удерживая баланс между про- и противовоспалительными реакциями на постоянном уровне. Это происходит, по-видимому, из-за дополнительной активации иммунного ответа интерлейкином-2, который оказывает множественное действие на различные компоненты и звенья иммунной системы. Как известно, интерлейкин-2 воздействует на Т-лимфоциты, усиливая их пролиферацию и последующий синтез интерлейкина-2, который, в свою очередь, направленно влияет на рост, дифференцировку и активацию Т- и В-лимфоцитов, моноцитов, макрофагов и др. От его присутствия зависит развитие цитолитической активности натуральных киллеров и цитотоксических Т-лимфоцитов [9, 10, 11, 13, 15]. Такое расширение спектра лизирующего действия эффекторных клеток обуславливает элиминацию разнообразных патогенных микро- и макроорганизмов, инфицированных и других клеток, что и обеспечивает иммунную защиту, направленную против возбудителей паразитарных болезней, в том числе за счет повышения экспрессии на цитоплазматических мембранах различных клеток молекул адгезии и рецепторов для других противовоспалительных цитокинов.

Заключение

Таким образом, заражение экспериментальных мышей трихоцефалезом и сифациозом показало, что инвазия заметно отражается на балансе провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, вызывая адекватное усиление продукции IL-1к концу первой недели наблюдения на фоне существенного ограничения синтеза противовоспалительного IL-4, что выражается в плавной динамике роста коэффициента IL-1/IL-4.

Использование монотерапии левамизолом, обладающим иммуномодулирующими свойствами, позволя-

ет заметно снизить интенсивность роста соотношения IL-1/IL-4. В свою очередь, применение комплексной терапии при гельминтозах, включающей левамизол и ронколейкин, заметно нормализует баланс про- и противовоспалительных цитокинов, приводя коэффициент ПБК (IL-1/IL-4) к контрольным значениям.

Следовательно, определение концентрации провоспалительных и противовоспалительных цитокинов (IL-1 и IL-4), а также их соотношения (IL-1/IL-4), показали активное участие данных медиаторов воспа-

ления в развитии инвазии и могут быть использованы для оценки патогенеза инвазионного процесса. В свою очередь, использование комплексной терапии с иммуномодулятором ронколейкином позволяет удерживать баланс между про- и противовоспалительными реакциями на постоянном уровне, тем самым снижая патогенетические проявления и увеличивая эффективность и безопасность проводимой антигельминтной терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бекиш В.Я., Коневалова Н.Ю., Бекиш О.-Я. Л. Метаболиты гельминтов как индукторы апоптоза клеток хозяина // ВЕСТНИК ВГМУ, 2005. Т. 4. №2. С. 80-84.
2. Лазарева Ю.Б., Филиппова А.В., Романова Л.М., Гришина Е.А. Актуальные проблемы подавления иммунитета при гельминтозах // Фундаментальные науки и практика. Сборник научных трудов., РФ, 2010, вып. 2, С. 70–71.
3. Даугалиева Э.Х. Перспективы применения иммуномодуляторов в комплексной терапии гельминтозов / Даугалиева Э.Х., Курочкина К.Г., Шемякова С.А. // Тр. Всеросс. ин-та гельминтологии. М., 2003. Т. 39. С.82-88.
4. Шевкопляс В.Н., Лопатин В.Г. Влияние гельминтозов на течение иммунологических процессов у животных // Российский паразитологический журнал. 2008. № 4. С. 94–101.
5. Влияние интерлейкина-1 на показатели иммунной системы здоровых людей / Н.Г. Соколова В.Г. [и др.] // Медицинская иммунология. 1999. Т.1. №3-4. С. 136.
6. Серебренникова С.Н., Семинский И.Ж., Куприянова Н.Ю., Гузовская Е.В., Семенов Н.В.. Особенности цитокиновой регуляции иммунного ответа при гельминтозах // Цитокины и воспаление. 2016. Т. 15. № 2. С. 148–153.
7. Kogut M. H. Cytokines and prevention of infectious disease in poultry: a review // Avian Pathology J, 2000. P.395-404.
8. Кетлинский С. А., Ищенко А.М. Цитокины и их антагонисты: теория и практика // Медицинская иммунология. 1999. Т.1. №3-4. С. 16.
9. Симбирцев А.С. Цитокины: классификация и биологические свойства // Цитокины и воспаление. 2004. Т. 3. №2. С. 16-22.
10. Черешнев В.А, Гусев Е.Ю. Иммунология воспаления: роль цитокинов // Медицинская иммунология. 2001. Т.3. №3. С. 361-368.
11. Авдеева Ж. И., Акользина С. Е., Алпатова Н. А. и др. // Цитокины и воспаление. 2007. Т. 6. № 2. С.46-50.
12. Архипов И.А. Антигельминтики: фармакология и применение: М. 2009. 406 с.
13. Романенко Н.А., Падченко И.К., Чебышев Н.В. Санитарная паразитология. - М.: Медицина, 2000. - 320 С.
14. Эффективность ронколейкина в лечении хрониче-

REFERENCES:

1. Bekish V.Ya., Konevalova N.Yu., Bekish O.-Ya.L. Metabolites of worms as inducers of apoptosis of host cells. VESTNIK VGMU, 2005, no. 4 (2), pp. 80-84. [In Russ]
2. Lazareva J.B., Filippova A.V., Romanova L.M., Grishina E.A. Actual problems of immunity suppression at helminthiasis. Fundamental Sciences and Practice = Fundamental'nye Nauki i Praktika. Sbornik Nauchnyh Trudov. 2010, RF, V. 2, pp. 70-71. [In Russ]
3. Daugalieva E.H. Prospects for the use of immunomodulators in the complex therapy of helminthiasis. Works of all-Russian Institute of helminthology = Tr. Vseross. in-ta gel'mintologii. M., 2003, V. 39, pp. 82-88. [In Russ]
4. Shevkoplyas V.N., Lopatin V.G. Influence of helminthiasis on immunological processes in animals. Russian Parasitological Journal = Rossijskij parazitologicheskij zhurnal. 2008, no. 4, pp. 94–101. [In Russ]
5. Sokolova V.G., Effect of interleukin-1 P on the immune system of healthy people. Medical Immunology = Meditsinskaya immunologiya. 1999. Vol. 1 (3-4), P. 136. [In Russ]
6. Serebrennikova S.N., Seminskij I.ZH., Kupriyanova N.YU., Guzovskaya E.V., Semenov N.V. Features of cytokine regulation of the immune response in helminthiasis. Cytokines and inflammation = Citokiny i vospalenie. 2016, V. 15, 2, pp. 148–153. [In Russ]
7. Kogut M. H. Cytokines and prevention of infectious disease in poultry: a review Avian Pathology J, 2000. pp. 395-404.
8. Ketlinsky S.A., Ishchenko A.M. Cytokines and their antagonists: Theory and Practice. Medical Immunology = Meditsinskaya immunologiya. 1999. Vol. 1 (3-4), P. 16. [In Russ]
9. Simbirtsev A.S. Cytokines: classification and biological properties. Cytokines and Inflammation = Tsitokiny i vospalenie. 2004, no. 3 (2), pp. 16-22. [In Russ]
10. Chereshnev V.A., Gusev E.Y. Immunology of inflammation: role of cytokines. Medical immunology = Meditsinskaya immunologiya. 2001 (3), pp. 361-368. [In Russ]
11. Avdeeva ZH.I., Akol'zina S.E., Alpatova N.A. i dr. Cytokines and inflammation = Citokiny i vospalenie. 2007, V. 6, no. 2, pp. 46-50. [In Russ]
12. Arkhipov I.A. Anthelmintics: Pharmacology and

ских рецидивирующих инфекций /Старостина Н. М. [и др.] // Медицинская иммунология. 2011.Т. 13. Вып. № 2-3.

15. Ndlovu H, Brombacher F (2014) Role of IL-4Ralpha during acute schistosomiasis in mice. *Parasite Immunol* 36: 421–427.

16. Цитокины и их роль в развитии типовых патологических процессов. / В.Ф. Митрейкин [и др.] // Изд. СПбГМУ, С.-П., 2000. 64 с.

application. М. 2009, 406 p. [In Russ]

13. Romanenko, N.A., Padchenko, I.K., Chebyshev, N.V. Sanitary parasitology. Moscow Medicine = Meditsina, 2000. 32 p.[In Russ]

14. Starostina N.M. et al. Efficiency of roncoleukin in the treatment of chronic recurrent infections. *Medical Immunology = Meditsinskaya immunologiya*. 2011, no. 13 (2-3). [In Russ]

15. Ndlovu H, Brombacher F (2014) Role of IL-4Ralpha during acute schistosomiasis in mice. *Parasite Immunol* 36: pp. 421–427.

16. Mitreykin V.F. et al. Cytokines and their role in the development of typical pathological processes. Ed. State Medical University [Izd. SPbGMU], SPb. 2000. 64 p. [In Russ]

Автор

Гришина Елена Анатольевна

ФГБОУ ДПО РМАНПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России

Кандидат биологических наук, доцент

Заместитель руководителя НИЦ, ведущий научный сотрудник отдела молекулярно-биологических исследований

125993, Российская Федерация, г. Москва, ул. Баррикадная, д.2/1, стр.1

gelana2010@yandex.ru

Autor

Elena A. Grishina

Russian Medical Academy of Continuous Professional Education

Head of Department of Molecular Biology of research Center, Cand.Sci (Biol), Associate professor

2/1-1, Barricadnaya ul., Moscow, Russian Federation, 125993

gelana2010@yandex.ru