

**ЦИТОКИНЫ СЫВОРОТКИ КРОВИ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ  
БРОНХОЛЕГОЧНОМ ВОСПАЛЕНИИ И ВВЕДЕНИИ ИММУНОМОДУЛЯТОРОВ**

Мокренко Е.В., Шабанов П.Д.

*ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург, 194044, ул. Акад. Лебедева, 6, (812)542-4397, pdshabanov@mail.ru;*

Экспериментальную бронхопневмонию моделировали введением скипидара в трахею под эфирным наркозом. После операции на протяжении 5 дней (1 раз/сут) животным внутривентриально вводили раствор одного из исследуемых иммуномодуляторов: полиоксидония – 0,75 мг/кг, трекрезана 25 мг/кг или метапрота 25 мг/кг. После декапитации в крови определяли профиль интерлейкинов, используя коммерческие наборы (Merk). Воспаление снижало в крови концентрации как провоспалительных факторов (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-2, ИЛ-12, интерферона- $\gamma$  и хемокина MCP-1), так и противовоспалительных (ИЛ-4, ИЛ-10) цитокинов. При этом повышались уровни ФНО $\alpha$  и ИЛ-6, а также противовоспалительного цитокина ИЛ-13. Введение иммуномодуляторов полиоксидония, трекрезана и метапрота в значительной степени нормализовало уровень про- (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-2, ИЛ-12(p7), хемокина MCP-1, ИЛ-6) и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-10). Противовоспалительный эффект препаратов связывают с нормализацией обмена цитокинов.

**Ключевые слова:** бронхопневмония, цитокины, иммуномодуляторы, полиоксидоний, трекрезан, метапрот

**CYTOKINES OF THE RAT BLOOD SERUM IN BRONCHOPULMONARY  
INFLAMMATION AND ADMINISTRATION OF IMMUNE MODULATORS**

Mokrenko E.V., Shabanov P.D.

*SM Kirov Military-Medical Academy, Saint-Petersburg, 194044, 6, Acad Lebedev street,  
(812)542-4397, pdshabanov@mail.ru*

The experimental bronchopneumonia was modeled in rats by administration of turpentine into the trachea under ether anesthesia. One of the immune modulators (polyoxydonium 0.75 mg/kg, trekrezan 25 mg/kg or metaprot 25 mg/kg) was injected intraperitoneally for 5 days (once a day) after operation. The rats were decapitated on 5<sup>th</sup> day and a profile of cytokines in the blood serum was determined using commercial kits (Merk). Inflammation decreased blood levels of both pro-inflammatory factors (IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-12, interferon- $\gamma$  and chemokine MCP-1) and anti-

inflammatory cytokines (IL-4, IL-10). The content of TNF $\alpha$  and IL-6 and anti-inflammatory cytokine IL-13 was increased. Administration of immune modulators polyoxydonium, trekrezan and metaprot normalized the level of both pro-inflammatory (IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-12(p7), chemokine MCP-1, interferon- $\alpha$ ) and anti-inflammatory (IL-4, IL-10) cytokines in significant degree. Therefore, anti-inflammatory effect of the drugs studied is connected with normalization of cytokine metabolism.

**Key words:** bronchopneumonia, cytokines, immune modulators, polyoxydonium, trekrezan, metaprot

### **Введение**

В последние годы при бронхолегочном воспалении стали активно использовать иммуномодуляторы с целью предупреждения вторичного иммунодефицита, нарушений энергетического метаболизма и оксидативного стресса [2]. В предыдущих исследованиях [2, 5] был показан высокий защитный эффект иммуномодуляторов полиоксидония, трекрезана и метапрота у животных при экспериментальном воспалении бронхолегочной ткани. Был выяснен ряд иммунопатологических механизмов, составляющих основу развития этого процесса, главным образом затрагивающих фагоцитарное звено иммунитета. В настоящей работе изучали характер изменений содержания про- и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови крыс при моделировании бронхолегочной пневмонии и введении иммуномодуляторов полиоксидония, трекрезана и метапрота.

### **Материалы и методы**

Опыты выполнены на крысах самцах Вистар массой 200-250 г. Все крысы были разделены на 5 групп (n=13-18): 1 – контроль; 2 – бронхолегочное воспаление; 3 – бронхолегочное воспаление + полиоксидоний 0,75 мг/кг; 4 – бронхолегочное воспаление + трекрезан 25 мг/кг; 5 – бронхолегочное воспаление + метапрот 25 мг/кг. Острую бронхопневмонию воспроизводили введением 0,1 мл живичного скипидара в трахею крысы под эфирным наркозом [2]. Сразу после операции и далее на протяжении 5 дней (1 раз в сутки) подопытным животным внутрибрюшинно вводили раствор одного из исследуемых иммуномодуляторов. На 5-е сутки эксперимента крыс декапитировали, забирали кровь, из которой готовили сыворотку, сыворотку замораживали и хранили при температуре -20°C до тестирования.

Концентрацию цитокинов определяли методом протеонного мультиплексного анализа с использованием проточной иммунофлуорометрии [3] на приборе Bio-Rad Laboratories

(США). Использовали коммерческие наборы Milliplex Map Rat Citokine/Chemokine (Merk) в соответствии с инструкцией фирмы-изготовителя.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием стандартного пакета программ Statistica for Windows 6.0.

### Результаты и обсуждение

Экспериментальная бронхопневмония у крыс, подтвержденная морфологически [2], сопровождалась существенными изменениями содержания цитокинов в сыворотке крови, продуцируемыми как В-, так и  $T_{H1}$  и  $T_{H2}$  лимфоцитами и другими клетками (табл. 1). При этом в крови снижались концентрации как провоспалительных (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-2, ИЛ-12, ИНФ- $\gamma$  и хемокина МСР-1), так и противовоспалительных факторов (ИЛ-4, ИЛ-10). Повышенными в крови были уровни ФНО $\alpha$  и ИЛ-6, а также противовоспалительного цитокина ИЛ-13 (в 3 раза).

Таблица 1

Уровни цитокинов (пг/мл) в сыворотке крови крыс при моделировании бронхолегочного воспаления и лечении иммуномодуляторами ( $M \pm m$ )

Цитокины	Контроль, n=18	Бронхопне- вмония, n=19	Бронхопне- вмония + полиокси- доний, n=13	Бронхопне- вмония + трекрезан, n=15	Бронхопне- вмония + метапрот, n=16
ИЛ-1 $\beta$	0,12 $\pm$ 0,03	0,07 $\pm$ 0,01	0,35 $\pm$ 0,04*/**	0,24 $\pm$ 0,04*/**	0,18 $\pm$ 0,03**
ИЛ-2	0,39 $\pm$ 0,06	0,21 $\pm$ 0,04*	0,58 $\pm$ 0,05*/**	0,41 $\pm$ 0,06**	0,42 $\pm$ 0,05**
ФНО $\alpha$	3,1 $\pm$ 0,5	9,8 $\pm$ 1,2*	6,1 $\pm$ 0,9*/**	5,3 $\pm$ 0,6*/**	4,5 $\pm$ 0,06*/**
ИЛ-4	0,16 $\pm$ 0,03	0,09 $\pm$ 0,001*	0,26 $\pm$ 0,05**	0,47 $\pm$ 0,05*/**	0,48 $\pm$ 0,06*/**
ИЛ-6	0,31 $\pm$ 0,05	1,45 $\pm$ 0,15*	0,62 $\pm$ 0,04*/**	0,66 $\pm$ 0,05*/**	0,58 $\pm$ 0,004*/**
ИЛ-10	0,12 $\pm$ 0,03	0,07 $\pm$ 0,01	0,51 $\pm$ 0,07*/**	0,41 $\pm$ 0,05*/**	0,26 $\pm$ 0,04*/**
ИЛ-2(p70)	0,34 $\pm$ 0,07	0,19 $\pm$ 0,03	0,45 $\pm$ 0,06**	0,41 $\pm$ 0,07**	0,37 $\pm$ 0,06**
ИЛ-13	0,09 $\pm$ 0,002	0,28 $\pm$ 0,04*	0,36 $\pm$ 0,05*	0,35 $\pm$ 0,06*	0,19 $\pm$ 0,03*
ИЛ-17A	1,8 $\pm$ 0,4	2,0 $\pm$ 0,3	2,9 $\pm$ 0,4	2,4 $\pm$ 0,5	1,9 $\pm$ 0,5
ИНФ $\gamma$	0,2 $\pm$ 0,04	0,14 $\pm$ 0,02	0,21 $\pm$ 0,04	0,46 $\pm$ 0,04*/**	0,45 $\pm$ 0,05*/**
МСР-1	2,4 $\pm$ 0,5	1,16 $\pm$ 0,02*	2,9 $\pm$ 0,04**	2,8 $\pm$ 0,03**	2,3 $\pm$ 0,5**

Примечание. \* $p < 0,05$  к группе контроля; \*\* $p < 0,05$  к группе с бронхопневмонией.

В целом, экспериментальная бронхопневмония у крыс способствовала развитию вторичного иммунодефицита с резким угнетением иммунорегулирующих функций цитокинов. Так, более чем в 3 раза увеличивалось содержание ФНО $\alpha$ , являющегося мощным фактором избыточной пролиферации и усиления апоптоза, индуктором развития

не только местного, но и системного воспаления [1]. О высокой тяжести и выраженности системного воспалительного процесса свидетельствует и 5-кратный подъем содержания ИЛ-6, являющегося «цитокином повреждения» и продуцируемого не только моноцитами, но и Т-клетками, макрофагами, фибробластами и эндотелиальными клетками [4]. ИЛ-6 активирует и В-лимфоциты с образованием плазматических клеток и антител [1].

При лечении бронхопневмонии иммуномодуляторами значительно снизился уровень смертности животных. Так, процент выживаемости крыс составил при введении полиоксидония – 58%, трекрезана – 65% и метапрота – 60% по сравнению с выживаемостью в 48% при воспроизведении бронхопневмонии без введения препаратов. Курсовое введение иммуномодуляторов существенно ограничивало влияние патологического процесса на содержание цитокинов в крови крыс. Уровень провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-2, ИЛ-12(p7), а также хемокина MCP-1 и ИНФа, как и противовоспалительных цитокинов ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-13 стал значительно выше, что свидетельствует о частичном восстановлении иммунорегулирующей функции и даже экспрессии цитокин-продуцирующих свойств клеток В-, Т<sub>x1</sub>, Т<sub>x2</sub> лимфоцитов. Исследуемые препараты существенно ограничили и цитотоксическое действие ИЛ-6, одного из ведущих медиаторов воспаления. Видимо, саногенетическим механизмом действия изучаемых препаратов является и восстановление выработки противовоспалительных цитокинов ИЛ-4 и ИЛ-10.

### **Заключение**

Следовательно, используемые для уменьшения выраженности и тяжести бронхопневмонии у крыс фармакологические препараты (полиоксидоний, трекрезан и метапрот) проявляют свойства истинных иммуномодуляторов, способствуя выявлению защитных свойств цитокинов и обеспечивая комплексный адаптивный ответ организма при тяжелом воспалении в бронхолегочной ткани.

## Литература

1. Бережная Н.М. Цитокиновая регуляция при патологии: стремительное развитие и неизбежные вопросы // Цитокины и воспаление. – 2007. – Т.2, №6. – С.26-34.
2. Зарубина И.В., Мокренко Е.В., Болехан А.В., Шабанов П.Д. Сравнительная противовоспалительная и эрготропная активность метапрота, трекрезана и полиоксидония и их комбинаций при экспериментальном бронхолегочном воспалении у крыс // Мед. академ. журнал. – 2016. – Т.16, №3. – С.48-50.
3. Останин А.А., Леплина О.Ю., Шевела Е.Я. и др. Оценка цитокинового профиля у больных с тяжелым сепсисом методом проточной флюориметрии (Bio-Plex-анализа) // Цитокины и воспаление. – 2004. – Т.1, №3. – С.20-27.
4. Симбирцев А.С. Цитокины: новая система защитных реакций организма // Цитокины и воспаление. – 2004. – Т.1, №2. – С.16-22.
5. Шабанов П.Д., Зарубина И.В., Мокренко Е.В. Фармакология трекрезана – нового иммуномодулятора и адаптогена // Обз. по клин. фармакол. и лек. терапии. – 2014. – Т.12, №2. – С.12-27.