

ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ КИШЕЧНИКА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ КЛЕБСИЕЛЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ И НА ФОНЕ ЕЕ ТЕРАПИИ РАЗЛИЧНЫМИ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИМИ ПРЕПАРАТАМИ

Бусленко А.О.¹, Алешукина А.В.², Пшеничная Н.Ю.¹, Алешукина И.С.²,
Костенко О.Д.²

¹ ГБОУ ВПО РостГМУ Минздрава России, кафедра инфекционных болезней с курсом детских инфекций ФПК и ППС, Ростов-на-Дону, doctor-futur2007@yandex.ru

² ФБУН «РостовНИИ микробиологии и паразитологии», Ростов-на-Дону

Проанализированы данные цитокинового профиля в кишечнике у лабораторных мышей при экспериментальной клебсиеллезной инфекции на фоне патогенетической терапии иммуномодулирующими препаратами. Были выделены 4 группы, по 10 лабораторных мышей в зависимости от схемы терапии. 1-я группа была контрольной, терапия животным в ней не проводилась. Во 2-й группе животные получали аминодигидрофталазиндион натрия (АДГФНа). В 3-й группе состояли мыши, которым вводили одномоментно АДГФНа и бактериофаг (пиобактериофаг поливалентный очищенный жидкий «Микроген»). Лабораторные животные 4-й группы получали комплекс препаратов: АДГФНа, пиобактериофаг и лактоглобулин против условно-патогенных бактерий и сальмонелл (ФБУН «РостовНИИ микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора). Все препараты вводили перорально в дозах в пересчете на 1 г массы животного ежедневно в течение 9 дней от начала эксперимента. Для определения уровня цитокинов использовались смывы фекалий на 2-й, 6-й, 9-й день эксперимента. Был дан сравнительный анализ эффективности использованных препаратов. Результаты эксперимента позволяют рассматривать целесообразность использования иммуномодулирующих препаратов, таких как аминодигидрофталазиндион натрия, в комплексном лечении острых кишечных инфекций (ОКИ), вызванных условно-патогенной флорой (УПФ).

Ключевые слова: цитокины, клебсиеллезная инфекция, иммуномодуляторы

THE CYTOKINE PROFILE IN EXPERIMENTAL KLEBSIELLEZNY INTESTINAL INFECTIONS AND THE BACKGROUND OF THE THERAPY OF VARIOUS IMMUNOMODULATORY DRUGS

Buslenko A.O.¹, Aleshukina A.V.², Pshenichnaya N.Y.¹, Aleshukina I. S.²,
Kostenko O.D.²

¹ Rostov State Medical University, the Department of infectious diseases with a course of childhood infections, Rostov-on-Don, doctor-futur2007@yandex.ru

² Rostov Research Scientific Institute of Microbiology and Parasitology

Data analyzed the cytokine profile in the intestine in laboratory mice in experimental klebsiellazny infection on the background of pathogenetic therapy of immunomodulatory drugs. Were allocated to 4 groups, 10 mice depending on the regimen. Group 1 was the control, therapy animals are not conducted in it. In the 2nd group of animals received sodium aminodehydroabietic (Advfn). In the 3rd group consisted of mice that were administered a one-stage Advfn and bacteriophage (pyobacteriophage polyvalent purified liquid «Microgen»). Laboratory animals of the 4th group received a combination of these medications: Advfn, pyobacteriophage and lactoglobulin against opportunistic bacteria and Salmonella (FBSI «rostovye of Microbiology and Parasitology» of Rospotrebnadzor). All drugs were administered orally in doses equivalent to 1 g of animal weight daily for 9 days from the start of the experiment. To determine the level of cytokines was used swabs of feces at 2, 6, 9 day of the experiment. Was a comparative analysis of the effectiveness used drugs. The results of the experiment allow us to consider the feasibility of using immunomodulatory drug, such as sodium aminodehydroabietic, in the complex treatment of acute intestinal infections (AII) caused by conditionally pathogenic flora (AFPS).

Keywords: cytokines, klebsiellazny infection, immunomodulators

Актуальность

Острые кишечные инфекции (ОКИ) занимают одно из ведущих мест в структуре инфекционной заболеваемости и приводят к существенным экономическим затратам в сфере

здравоохранения. В 2013–2014 г. зарегистрирован рост заболеваемости острыми кишечными инфекциями (ОКИ) установленной и неустановленной этиологии. Заболеваемость ОКИ, вызванными установленными бактериальными и вирусными возбудителями, включая пищевые токсикоинфекции установленной этиологии, составила 153,4 на 100 тыс. населения (2012 г. – 154,8, 2011 г. – 149,5). Показатель заболеваемости детей до 17 лет составил 671,1 на 100 тыс. (2012 г. – 670,9, 2011 г. – 649,3), при этом наиболее пораженными группами являлись дети до 1 года (показатель заболеваемости – 2654,3 на 100 тыс.) и дети 1—2 лет (2175,9 на 100 тыс.) [1, 2].

Существенно выросла эпидемиологическая роль условно-патогенных микроорганизмов, в том числе условно-патогенных энтеробактерий (УПЭБ) и вирусов [1, 4, 7]. Одно из ведущих мест среди представителей условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) занимает *K. pneumoniae*, на долю которой приходится от 11,2 до 54,2% [11]. ОКИ, вызванные УПФ, развиваются, как правило, на фоне снижения местной неспецифической резистентности и развития дисбиоза кишечника, что нередко приводит к повторным их эпизодам. Это свидетельствует о целесообразности использования препаратов с иммуномодулирующими и противовоспалительными свойствами. К числу таких препаратов можно отнести бактериофаги — иммунобиологические препараты антибактериального действия, способные уничтожить бактерии, устойчивые к антибиотикам, не вызывающие побочных эффектов и сочетающиеся с любыми лекарственными препаратами [9, 11]. Высокими специфическими антибактериальными свойствами, а также способностью снижать токсигенные и вирулентные свойства бактерий, и, как следствие, повышать их чувствительность к антибактериальным препаратам, обладает лактоглобулин [2, 9]. В последнее время появился также ряд исследований об аминокислоте галактитине натрия (Галавит®), обладающем способностью воздействовать на функционально-метаболическую активность макрофагов, ингибировать активность провоспалительных цитокинов и стимулировать синтез противовоспалительных цитокинов [8].

Известно, что цитокинам принадлежит важная роль в развитии и течении заболеваний различных органов и систем, в том числе и органов пищеварения. Цитокины обладают широким спектром биологических свойств: индуцируют и регулируют такие физиологические и патологические процессы, как рост, пролиферация, старение клеток, апоптоз, гемопоез, воспаление, иммунный ответ, метаболизм, регенерация тканей и др. Также цитокины принимают непосредственное участие в формировании неспецифической защиты и специфического иммунитета, образуя в комплексе единую интегративную клеточно-гуморальную систему защиты организма [10]. Следует брать во внимание, что в настоящее время идентифицировано более 100 цитокинов и их число продолжает увеличиваться. Среди

цитокинов выделяют следующие группы: интерлейкины (ИЛ-1-25), интерфероны (ИФ α , β , γ), факторы некроза опухоли (ФНО α , β), колониестимулирующие факторы, факторы роста, хемокины. У здоровых людей содержание цитокинов минимально, вместе с тем при патологических состояниях их уровень резко возрастает. Индукторами служат инфекционные агенты, продукты их жизнедеятельности, токсины, метаболиты и др. [8].

Следовательно, именно цитокины отражают всю картину иммунного ответа и могут служить одним из критериев эффективности различных схем лечения при тех или иных заболеваниях.

Цель работы

Изучить цитокиновый профиль в кишечнике у лабораторных мышей с экспериментальной клебсиеллезной инфекцией и при ее лечении различными иммуномодулирующими препаратами.

Материалы и методы

Экспериментальный клебсиеллез, вызванный штаммом *Klebsiellapneumonia* № 7571, воспроизводили на 40 белых лабораторных беспородных мышах весом 12–14 г путем перорального введения суточной культуры *Klebsiellapneumonia* № 7571 из расчета 1 млрд МЕ на животное. Наблюдение и отбор проб фекалий проводили на 2-й, 6-й и 9-й день после заражения. Ежедневно проводили оценку состояния животных. Мышей рандомизировали по группам поровну по 10 особей в зависимости от используемых для лечения препаратов. 1-я группа была контрольной, терапия животным в ней не проводилась. Во 2-й группе животные получали аминодигидрофталазиндион натрия (АДГФНа). В 3-й группе состояли мыши, которым вводили одномоментно АДГФНа и бактериофаг (пиобактериофаг поливалентный очищенный жидкий «Микроген»). Лабораторные животные 4-й группы получали комплекс препаратов: АДГФНа, пиобактериофаг и лактоглобулин против условно-патогенных бактерий и сальмонелл (ФБУН «РостовНИИ микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора). Все препараты вводили перорально в дозах в пересчете на 1 г массы животного ежедневно в течение 9 дней от начала эксперимента. Смывы фекалий использовали для определения уровня цитокинов. Между отдельными цитокинами существуют сходства, поэтому в нашем исследовании мы выделили несколько особо ярких представителей некоторых групп цитокинов: ИЛ- 1-бета; ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10. Альфа-ФНО, ИНФ-гамма и ПКТ определяли в фекалиях мышей с использованием коммерческих наборов «Вектор-бест» (Новосибирск).

Результаты и обсуждение

В ходе исследования оказалось, что динамика изменения цитокинового профиля в экспериментальных группах существенно отличалась в зависимости от схемы терапии.

Данные, полученные в ходе нашего эксперимента, приведены отдельно по каждому из изученных цитокинов, в зависимости от их изменения в различных группах.

В 1-й группе уровень ИЛ-1 β резко поднялся к 3-му дню эксперимента, но к концу снизился. Во 2-й группе уровень ИЛ-1 β оставался на минимальном уровне все дни эксперимента, что говорит о почти полном подавлении воспалительной реакции. В 3-й и 4-й группе к 3-му дню ИЛ-1 β оказался на одной отметке. При этом в 3-й группе уровень ИЛ-1 β так и не снизился (рис. 1).

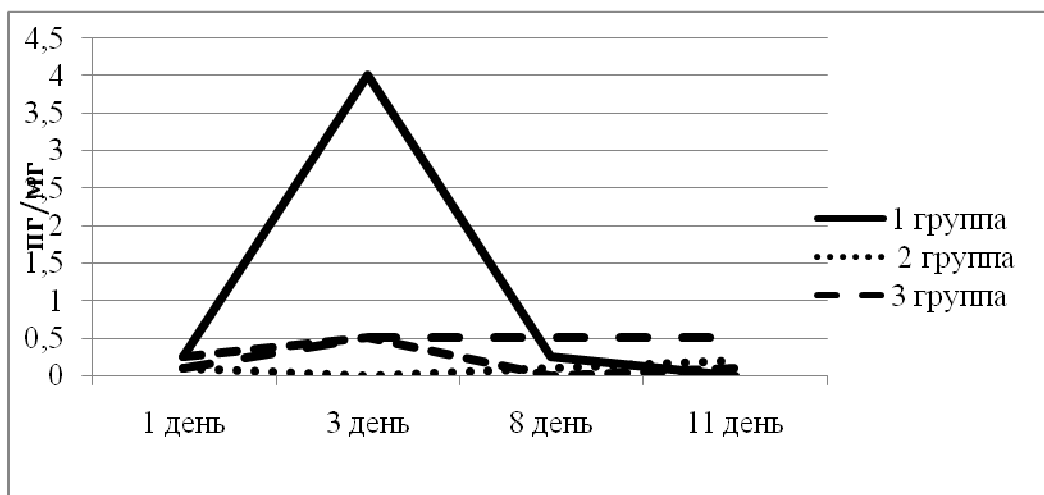


Рис. 1. Динамика изменения ИЛ-1 β в экспериментальных группах животных

ИЛ-6 выполняет как про-, так и противовоспалительные функции. Исходный уровень цитокина в экспериментальных группах находился примерно в одной точке. Максимальный подъем на третий день эксперимента наблюдался в 1-й и 3-й группе. Далее в 3-й группе уровень ИЛ-6 плавно снизился, что говорит об отсутствии противовоспалительного эффекта, в то время как в 1-й группе к 8-му дню эксперимента ИЛ-6 резко снизился, а к 11-му дню вновь поднялся. Во 2-й группе уровень ИЛ-6 к 3-му дню оставался на исходном уровне, что указывает на подавление воспаления. К 8-му дню ИЛ-6 повысился, демонстрируя свои противовоспалительные функции, и плавно снизился к концу эксперимента (рис. 2).

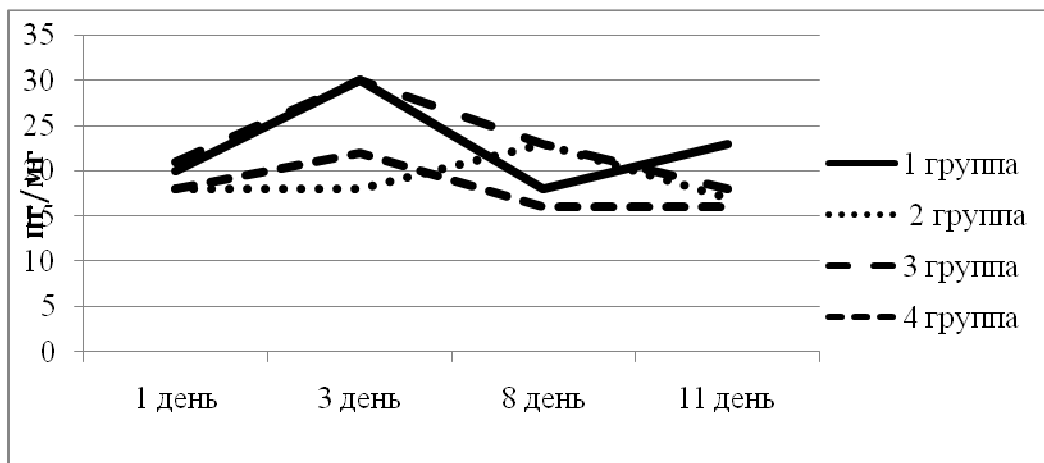


Рис. 2. Динамика изменения ИЛ-6 в экспериментальных группах животных

Исходный уровень ИФ-у в 1-й группе был выше относительно других групп. К 3-му дню эксперимента снизился и оставался на одном уровне до конца эксперимента. Во 2-й, 3-й, 4-й группе изначальный уровень находился в одной точке. Во 2-й группе ИФ-у повысился только к концу эксперимента, что говорит о выработке ответа на воспаление (рис. 3).

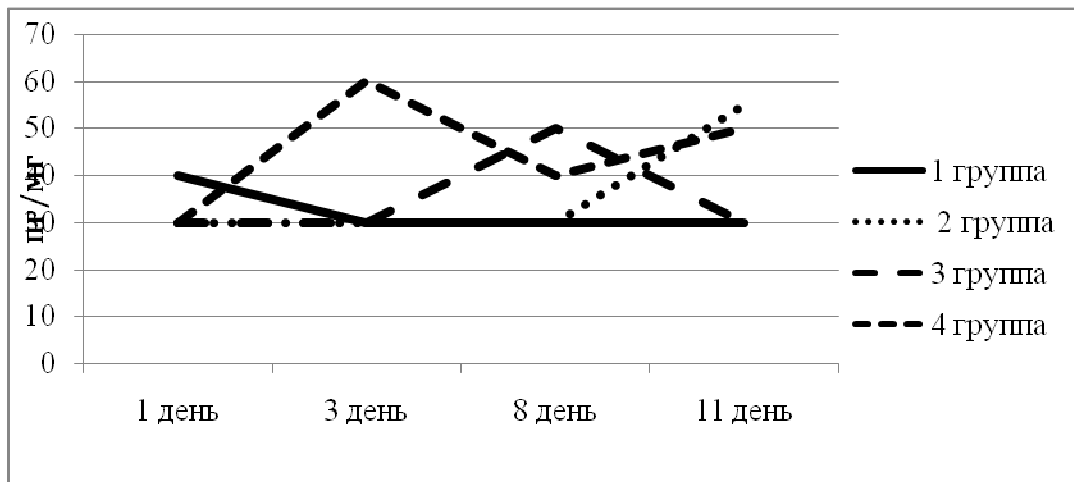


Рис. 3. Динамика изменения ИФ-у в экспериментальных группах животных

На диаграмме можно заметить, что изначальная точка у всех групп была примерно на одном уровне. Что касается динамики изменения уровня ИЛ-4, то во всех группах наблюдалось плавное снижение. Во 2-й группе уровень ИЛ-4 перестал снижаться после 3-го дня эксперимента. В целом, подобную картину можно объяснить тем, что подавление воспалительной реакции не требует увеличения уровня противовоспалительного цитокина (рис. 4).

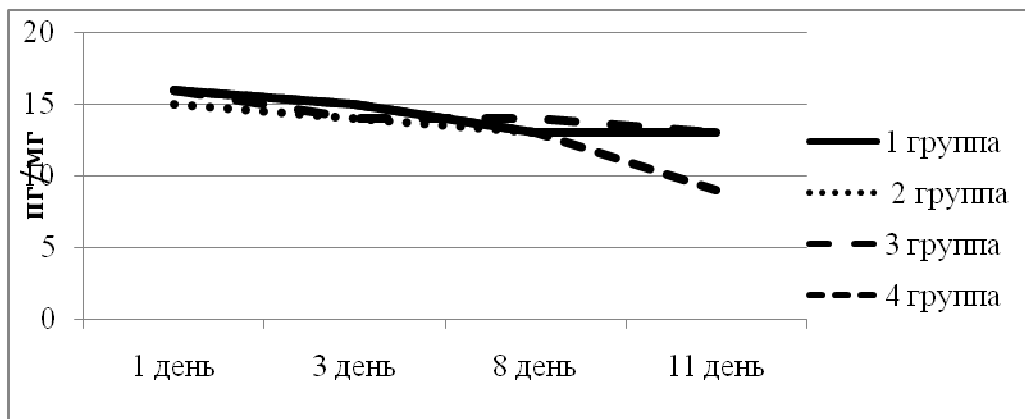


Рис.4. Динамика изменения ИЛ-4 в экспериментальных группах животных

ИЛ-10 обладает мощным противовоспалительным эффектом, регулирует интенсивность воспалительных и регенераторных процессов, ингибирует фиброз и атрофию в тканях. Повышение уровня данного интерлейкина более специфично для хронических патологий ЖКТ. Уровень ИЛ-10 в 1-й группе не менялся на протяжении всего эксперимента и был на достаточно высоком уровне. Во 2-й группе уровень ИЛ-10 снизился до 200 пг/мл,

но к концу эксперимента достиг исходного уровня, что указывает на эффективность схемы лечения во 2-й группе. Во 2-й и 3-й группах к 11-му дню плавно снизился (рис. 5).

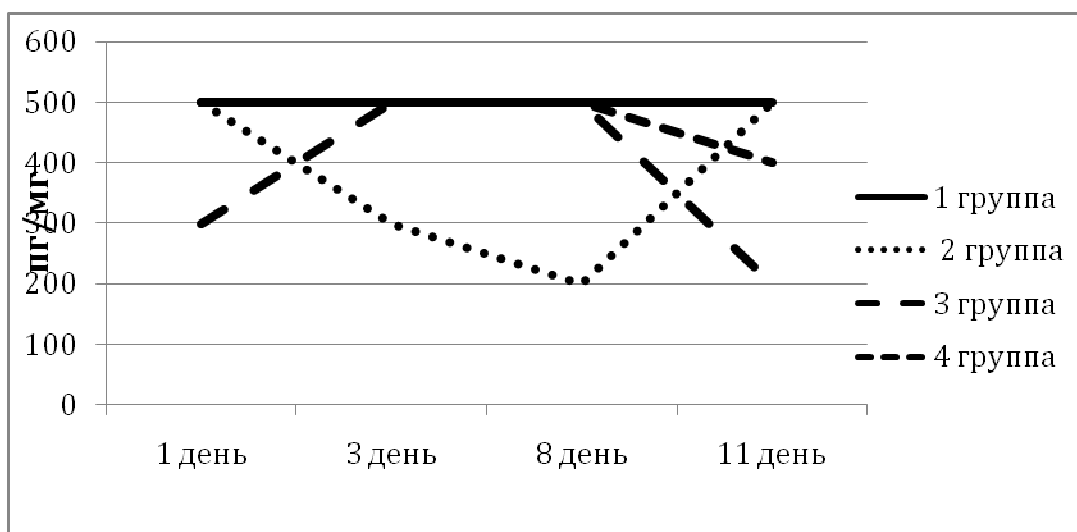


Рис. 5. Динамика изменения ИЛ-10 в экспериментальных группах животных

ФНО запускает каскад воспалительных и регенераторных реакций. Во всех группах изначальный уровень ФНО был достаточно высоким, по прошествии же эксперимента уровень плавно снижался, что свидетельствовало о том, что все схемы лечения в равной степени проявили свои иммуномодулирующие свойства. Проще говоря: если процесс воспаления подавляется, то и уровень воспалительного цитокина остается на низком уровне (рис. 6).

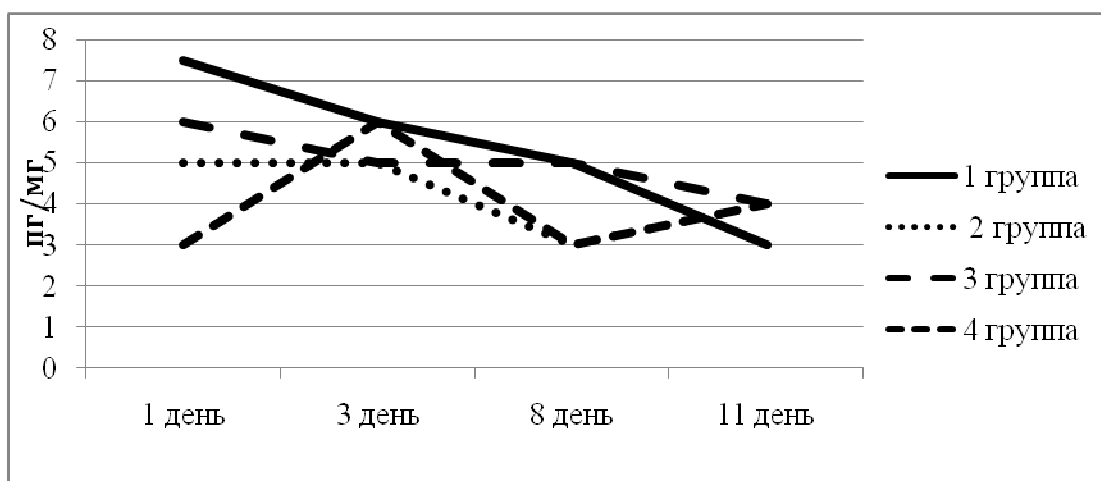


Рис. 6. Динамика изменения ФНО в экспериментальных группах животных

ПКТ является воспалительным цитокином. Повышение его уровня свидетельствует о наличии в организме инфекционного агента, а также может спрогнозировать течение заболевания. ПКТ является специфичным для определения его в сыворотке крови, в то время как в нашем исследовании использовались супернанты фекалий. Результаты рознились во всех группах, о чем свидетельствует диаграмма, которую мы расценили как не являющуюся информативной[12] (рис. 7).

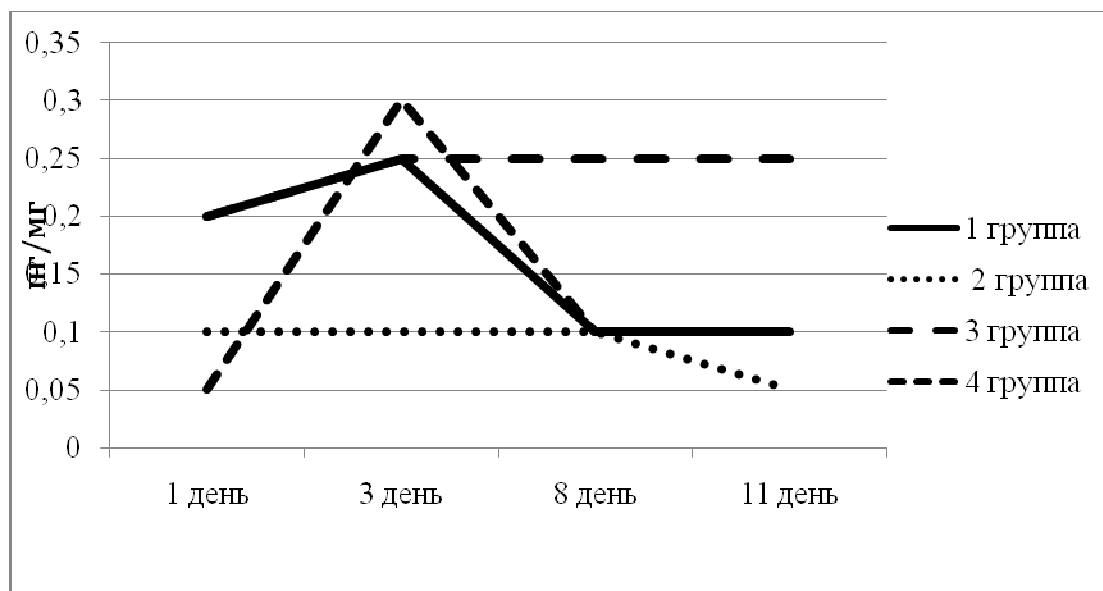


Рис. 7. Динамика изменения PCT в экспериментальных группах животных

Заключение

Данные, приведенные выше, свидетельствуют, что препараты, обладающие противовоспалительной и иммуномодулирующей активностью, корректируют и стабилизируют цитокиновый профиль. Результаты эксперимента позволяют рассматривать целесообразность использования подобных препаратов, таких как аминокислоты, в комплексном лечении острых кишечных инфекций (ОКИ), вызванных условно-патогенной флорой (УПФ).

Список литературы

1. Агафонов В.М., Некрасова Л.И., Колесникова Е.Е., Пономарева Н.А., Котюгина Ю.С. Острые кишечные инфекции в практике работы инфекционного стационара // Материалы VI Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням.— М. — 2014. — С. 7.
2. Алексанина Н.В. Микробиоценоз толстого кишечника детей с диарейными заболеваниями в процессе лечения иммунным лактоглобулином // Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. — М. —1998. — С. 4–6.
3. Мартыненко Л.Д. Факторы патогенности *Klebsiellapneumonia* и их роль в патогенезе острой кишечной инфекции у детей первого года жизни // Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук — Ростов-на-Дону. — 1996. — С. 7–9.
4. Михайлова Л.В. Биология условно-патогенных микроорганизмов, вызывающих кишечные инфекции // Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. — Волгоград. — 2011 — С. 3–5.

5. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2013 году: Государственный доклад. — М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2014. — 191 с. — С. 88.
6. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2014 году: Государственный доклад. — М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2015. — 206 с. — С. 92–98.
7. Покровский В.И. Инфекционные болезни в России: оценка ситуации // Русский медицинский журнал. — 2000. — № 17. — С. 3–4.
8. Сологуб Т.В., Осиновец О.Ю. Иммуномодуляторы в комплексной терапии ОРВИ: возможности применения препарата Галавит. // Русский медицинский журнал. — 2013. — № 3. — С. 10–11.
9. Соболева С.В. Лактоглобулины — препараты нового поколения для лечения и профилактики острых кишечных инфекций и дисбактериозов у детей / Мат. Юбил. научно-практической конф. к 100-летию ФГУН РНИИМП «Актуальные вопросы инфекционной патологии». — Ростов-на-Дону, 2009. — С. 251–255.
10. Царегородцева Т.М., Серова Т.И. Цитокины в гастроэнтерологии. — М.: Анахарсис, 2003. — С.4–14, 24–4711.
11. Чушков Ю.В. Бактериофаги в лечении и профилактике инфекционных заболеваний // Фарматека. — 2011 — № 6. — С. 34–41.
12. Muller B, Becker KL, Schachinger H, Rickenbacher PR, Huber PR, Zimmerli W, Ritz R. Crit Care Med. 2000; 28: 977-83. Calcitonin precursors are reliable markers of sepsis in a medical intensive care unit.

Рецензенты:

Амбалов Ю.М., д.м.н., проф., зав. кафедрой инфекционных болезней, Ростовский Государственный Медицинский Университет, г. Ростов-на-Дону;

Яговкин Э.А., д.м.н., заместитель директора по научно-производственной деятельности, ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону.