

УДК 615.276.324:5934.96:611.019.53

## СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ ДЕКСАМЕТАЗОНА И НОВОГО ЭКСТРАКТА ИЗ ГОЛОТУРИЙ НА УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОПОДОБНЫХ ВЕЩЕСТВ В ОТДЕЛЬНЫХ ТИПАХ ИММУНОЦИТОВ ГОЛОТУРИИ *EUPENTACTA FRAUDATRIX*

Л.С. Долматова<sup>1</sup>, О.А. Уланова<sup>1</sup>, И.Ю. Долматов<sup>2,3</sup><sup>1</sup> Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН (690041, г. Владивосток, ул. Балтийская, 43),<sup>2</sup> Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН (690041, Владивосток, ул. Пальчевского, 17),<sup>3</sup> Дальневосточный федеральный университет (690950, Владивосток, ул. Суханова, 8)**Ключевые слова:** пентакан, интерлейкин-1 $\alpha$ ,  $\gamma$ -интерферон, фагоциты.

### COMPARATIVE STUDY OF THE EFFECT OF DEXAMETHASONE AND NEW HOLOTHURIANS' EXTRACT ON THE LEVEL OF THE CYTOKINE SIMILAR SUBSTANCES IN CERTAIN IMMUNE CELLS TYPES IN THE HOLOTHURIAN *EUPENTACTA FRAUDATRIX*

L.S. Dolmatova<sup>1</sup>, O.A. Ulanova<sup>1</sup>, I.Yu. Dolmatov<sup>2,3</sup><sup>1</sup> Pacific Oceanological Institute named after V.I. Il'ichev FEB RAS (43 Baltiyskaya St. Vladivostok 690041 Russian Federation),<sup>2</sup> Institute of Marine Biology named after A.V. Zhirmunskiy FEB RAS (17 Palchevskogo St. Vladivostok 690041 Russian Federation),<sup>3</sup> Far Eastern Federal University (8 Sukhanova St. Vladivostok 690950 Russian Federation)

**Background.** The 'Pentakan' preparation – is the extract from the holothurians (HE), dwelling in the shelf zone of the seas in the Far East, has a wide range of biological activities including bacteriostatic and fungistatic ones. In the experiment it prevented the coagulation of peritoneal fluid due to lower functional activity of peritoneal macrophages with their decreasing the production of reactive oxygen species, which are the mediators of proinflammatory cytokines. However, the HE effect on the cytokines' level is almost unexplored.

**Methods.** There has been carried out a comparative study of the effect of new HE and dexamethasone on the level of interleukin-1 $\alpha$ -related substances (IL-1 $\alpha$ -RS) and interferon- $\gamma$ -related substances (IFN- $\gamma$ -RS) in the two phagocytes' types (Ph1 and Ph2) derived from the coelomic fluid of the holothurian *Eupentacta fraudatrix*.

**Results.** In Ph2 after 24 hours of incubation the dexamethasone's low concentrations (1 and 0.1 mcM) reduced the levels of IL-1 $\alpha$ -RS and IFN- $\gamma$ -RS in inverse concentration dependence, and after 48 hours they raised the level of IFN- $\gamma$ -RS in direct concentration dependence. 100 mcM of dexamethasone increased the level of IFN- $\gamma$ -RS in Ph2 in both the incubation periods and in Ph1, on the contrary, after 48 hours, it was significantly inhibited. The holothurians' extract (0.01–1 mcg / ml) had the effect on the levels of IL-1 $\alpha$ -RS and IFN- $\gamma$ -RS in both types of phagocytes similar to that of dexamethasone and canceled its effects when injected together indicating the competitive relationships of the preparations.

**Conclusions.** Dexamethasone is known to affect the apoptosis level in phagocytes inhibiting the anti-inflammatory cytokines. The resulting data suggest there is a similarity in the influence of glucocorticoid hormones and HE on the cytokine related substances in the holothurians' phagocytes. The data also denote the evolutionary antiquity of the cytokine-mediated mechanisms of the natural immunity hormonal regulation and support the use of the holothurians' phagocytes as a model in the study of the vertebrates' immunity mechanisms, as well as promising research for the opportunities in use of HE in complex anti-inflammatory therapy.

**Keywords:** Pentakan, interleukin-1 $\alpha$ , interferon- $\gamma$ , phagocytes.

Pacific Medical Journal, 2014, No. 1, p. 34–38.

Известно, что у человека и других млекопитающих ведущими факторами в развитии воспаления являются

Долматова Людмила Степановна – канд. биол. наук, в.н.с. ТОИ ДВО РАН; тел.: +7 (423) 231-25-80, e-mail: dolmatova@poi.dvo.ru

некоторые цитокины, в том числе интерлейкин-1 $\alpha$  и  $\gamma$ -интерферон [1]. Показано, что вызвать развитие сепсиса в эксперименте может одно лишь добавление провоспалительных цитокинов [13]. Вследствие этого противовоспалительная терапия направлена, прежде всего, на снижение уровня этих веществ. Синтетический глюкокортикоидный гормон дексаметазон эффективно ингибирует их синтез и является одним из наиболее используемых в мире противовоспалительных препаратов [1]. Однако показания к гормональной терапии часто бывают ограниченными из-за побочных реакций, в связи с чем поиск новых противовоспалительных препаратов, сочетающих эффективность и безопасность, становится актуальной задачей.

Новый экстракт из тканей ряда голотурий (*Echino-dermata, Holothuroidea*), обитающих в шельфовой зоне морей Дальнего Востока, обладает широким диапазоном биологического действия, включая выраженное бактерио- и фунгистатическое [3]. Препарат получил коммерческое название «Пентакан» (ТУ 9154-001-77418193). В исследованиях на мышах показано, что его защитный эффект при экспериментальной псевдотуберкулезной инфекции как при профилактической, так и при терапевтической схемах применения связан не только с прямым бактериостатическим действием, но и иммуномодулирующей активностью [4]. При этом препарат оказался эффективным в предотвращении коагуляции перитонеальной жидкости у инфицированных животных. Свой эффект экстракт из голотурий (ЭГ) демонстрировал на фоне снижения функциональной активности перитонеальных макрофагов, в частности, уменьшения ими продукции активных форм кислорода, которые представляют собой медиаторы провоспалительных цитокинов. Однако его влияние на уровень самих цитокинов практически не было исследовано.

Ранее использование фагоцитов иглокожих, являющихся аналогами макрофагов позвоночных животных, было предложено в качестве адекватной модели механизмов врожденного иммунитета [5, 8]. Иглокожие животные в отличие от многих других беспозвоночных имеют общего предка с позвоночными. При этом у них есть развитая система врожденного иммунитета [1], а простота их строения позволяет в достаточной степени близко сопоставлять данные, полученные *in vitro* и *in vivo*. Кроме того, у иглокожих обнаружены

предковые формы ряда цитокинов позвоночных, в том числе и провоспалительных, таких как интерлейкин-1 $\alpha$ -подобные вещества (ИЛ-1 $\alpha$ -ПВ) и интерферон- $\gamma$ -подобные вещества (ИНФ- $\gamma$ -ПВ) и рецепторы к ним [11]. Кроме того, цитокиноподобные вещества иглокожих реагируют с антителами к цитокинам человека [5].

У дальневосточной голотурии *Eupentacta fraudatrix* имеется два типа фагоцитов (Ф1 и Ф2), обладающих разным уровнем функциональной активности, и, в частности, по-разному реагирующих на апоптозмодулирующее действие дексаметазона [9]. Поскольку цитокины участвуют в регуляции апоптоза в иммунных клетках позвоночных [6], для исследования механизмов влияния ЭГ представлялось важным исследовать его действие на уровень цитокиноподобных веществ в отдельных функционально отличных типах фагоцитов голотурий. В связи с этим цель данного исследования – изучение влияния ЭГ на уровень ИЛ-1 $\alpha$ -ПВ и ИНФ- $\gamma$ -ПВ в отдельных типах фагоцитов голотурии *E. fraudatrix* в сравнении с действием дексаметазона.

**Материал и методы.** Голотурии *E. fraudatrix* с длиной тела 40–70 мм были собраны в заливе Петра Великого в мае 2009 г. До начала экспериментов животные находились в аквариуме с проточной аэрируемой морской водой в течение двух недель. Целомическую жидкость, полученную от 40 животных, собирали в сосуд с равным объемом антикоагулирующего раствора, содержащим 30 мМ ЭДТА, 31 г/л NaCl, 50 мМ трис-HCl (pH 7,6) [8].

Разделение фагоцитов проводили центрифугированием в градиенте плотности фиколла-верографина, как описано ранее [2]. Отбирали фракции фагоцитов Ф1 и Ф2, полученные в интерфазах между образцом целомической жидкости и 3-й ступенью градиента (фиколл-верографин – антикоагулирующий раствор, 1:2 в объемном соотношении) или 3-й и 2-й ступенями (фиколл-верографин – антикоагулирующий раствор, 1:1), соответственно. Инкубацию полученных клеток

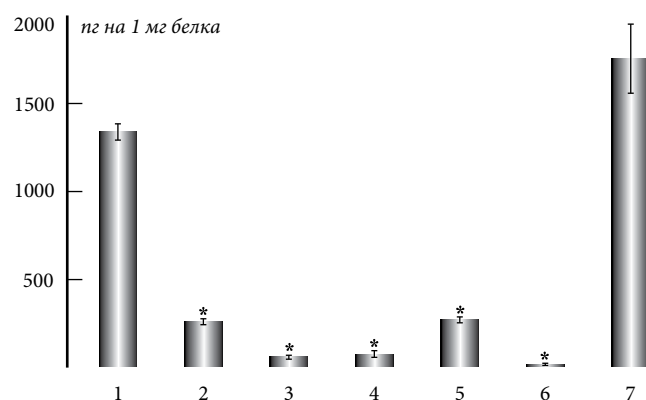


Рис. 1. Влияние дексаметазона и ЭГ на уровень ИЛ-1 $\alpha$ -ПВ в Ф2 голотурии *E. fraudatrix* при инкубации в течение 24 часов: 1 – контроль; 2 – дексаметазон, 100 мкМ; 3 – дексаметазон, 1 мкМ; 4 – дексаметазон, 0,1 мкМ; 5 – ЭГ, 1 мкг/мл; 6 – ЭГ, 0,01 мкг/мл; 7 – дексаметазон, 100 мкМ + ЭГ, 0,01 мкг/мл (\* – разница по сравнению с контролем статистически значима).

проводили 24 или 48 часов при 20 °С с различными концентрациями экстракта – 0,01, 0,1 и 1 мкг/мл – и/или дексаметазона (KRKA, Словакия) – 0,1, 1 и 100 мкМ.

Определение уровня ИЛ-1 $\alpha$ -ПВ и ИНФ- $\gamma$ -ПВ осуществляли с использованием наборов для иммуноферментного анализа содержания интерлейкина-1 $\alpha$  и  $\gamma$ -интерферона человека («Цитокин», Санкт-Петербург). Определение белка проводили с использованием красителя Кумасси G-250.

Результаты обрабатывали статистически, используя для определения достоверности различий между группами t-критерий Стьюдента.

**Результаты исследования.** Инкубация Ф2 с дексаметазоном в течение 24 часов приводила к концентрационно-зависимому снижению уровня ИЛ-1 $\alpha$ -ПВ по сравнению с контролем, при этом зависимость была обратной (рис. 1). Наибольшее снижение уровня ИЛ-1 $\alpha$ -ПВ (более чем в 20 раз по сравнению с контролем) индуцировал дексаметазон в концентрации 1 мкМ. Инкубация с ЭГ также вызывала значительное снижение уровня ИЛ-1 $\alpha$ -ПВ в фагоцитах: в 4,6 раза по сравнению с контролем при концентрации 1 мкг/мл и практически полное подавление синтеза – при концентрации 0,1 мкг/мл. Таким образом, как и при действии дексаметазона, для уровня ИЛ-1 $\alpha$ -ПВ при использовании ЭГ отмечена обратная концентрационная зависимость. При инкубации фагоцитов одновременно с дексаметазоном (100 мкМ) и ЭГ (0,01 мкг/мл) уровень ИЛ-1 $\alpha$ -ПВ возвращался практически к контрольному уровню.

В тот же временной срок инкубации дексаметазон в низких концентрациях (1 и 0,1 мкМ) также снижал уровень ИНФ- $\gamma$ -ПВ в обратной концентрационной зависимости (рис. 2, а). Однако в концентрации 100 мкМ он уже, напротив, стимулировал рост содержания ИНФ- $\gamma$ -ПВ на 30%. ЭГ во всех исследованных концентрациях снижал уровень интерферона в обратной концентрационной зависимости (на 40, 43 и 74% при концентрациях 1, 0,1 и 0,01 мкг/мл, соответственно). При совместном использовании дексаметазона (100 мкМ) и различных концентраций ЭГ уровень ИНФ- $\gamma$ -ПВ либо не отличался от такового при действии одного дексаметазона (1 мкг/мл экстракта), либо (0,01–0,1 мкг/мл экстракта) был достоверно ниже, чем при воздействии дексаметазона, приближаясь к контрольному уровню. ЭГ в концентрации 0,01 мкг/мл при совместном применении отменял действие дексаметазона.

Тем не менее через 48 часов в Ф2 дексаметазон в концентрации 0,1 мкМ уже не снижал, а в концентрациях 1 и 100 мкМ даже стимулировал рост уровня ИНФ- $\gamma$ -ПВ в 9,3 и 7,4 раза, соответственно (рис. 2, б). ЭГ также стимулировал рост уровня ИНФ- $\gamma$ -ПВ в концентрациях 0,1 и 1 мкг/мл (максимально – в 4 раза при концентрации 1 мкг/мл), но не в концентрации 0,01 мкг/мл. При одновременном действии дексаметазона (100 мкМ) и ЭГ в концентрациях 1 и 0,1 мкг/мл уровень ИНФ- $\gamma$ -ПВ не отличался от контрольного,

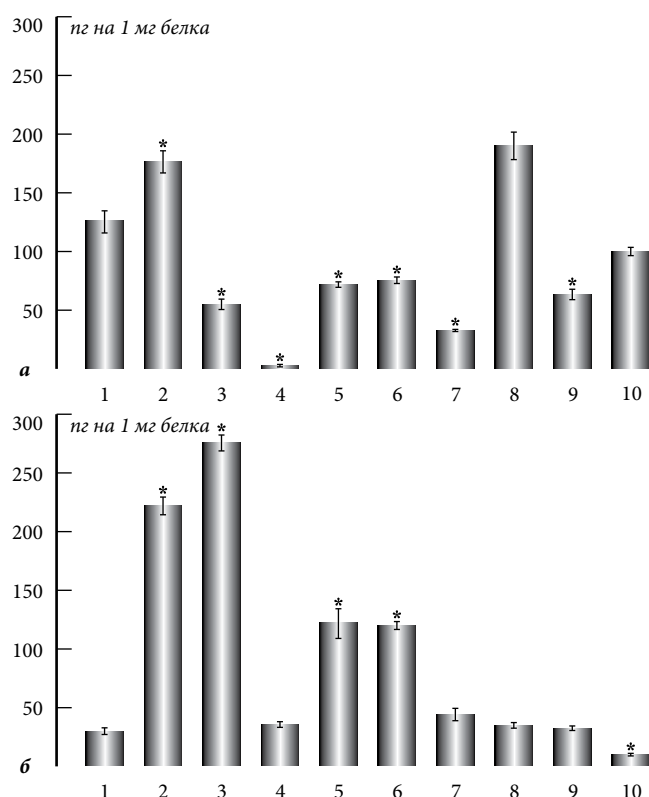


Рис. 2. Влияние дексаметазона и ЭГ на уровень ИНФ- $\gamma$ -ПВ в Ф2 голотурии *E. fraudatrix* при инкубации в течение 24 (а) и 48 (б) часов:

1 – контроль; 2 – дексаметазон, 100 мкМ; 3 – дексаметазон, 1 мкМ; 4 – дексаметазон, 0,1 мкМ; 5 – ЭГ, 1 мкг/мл; 6 – ЭГ, 0,1 мкг/мл; 7 – ЭГ, 0,01 мкг/мл; 8 – дексаметазон, 100 мкМ + ЭГ, 1 мкг/мл; 9 – дексаметазон, 100 мкМ + ЭГ, 0,1 мкг/мл; 10 – дексаметазон, 100 мкМ + ЭГ, 0,01 мкг/мл (\* – разница по сравнению с контролем статистически значима).

а при концентрации экстракта 0,01 мкг/мл даже снижался на 70% по сравнению с контролем.

В Ф1, в отличие от Ф2, дексаметазон, напротив, через 48 часов стимулировал рост уровня ИНФ- $\gamma$ -ПВ в наименьших из исследованных концентраций, а в концентрации 100 мкМ практически полностью его подавлял (рис. 3). ЭГ практически не влиял на уровень ИНФ- $\gamma$ -ПВ в концентрациях 0,1–0,01 мкг/мл, но значительно снижал его (в 6 раз) в концентрации 1 мкг/мл. При совместном действии дексаметазона (100 мкМ) и ЭГ в концентрациях 0,01 или 1 мкг/мл уровень ИНФ- $\gamma$ -ПВ был равен контрольному или значительно подавлен, соответственно.

**Обсуждение полученных данных.** Через 24 часа инкубации низкие концентрации дексаметазона (1 и 0,1 мкМ) оказывали обратное концентрационно-зависимое ингибирующее влияние на уровень ИЛ-1 $\alpha$ -ПВ и ИНФ- $\gamma$ -ПВ в Ф2 голотурий. Однако через 48 часов дексаметазон демонстрировал стимулирующий ИНФ- $\gamma$ -ПВ-эффект при всех исследованных концентрациях. Эти данные соответствуют представлениям об ингибирующем действии низких концентраций дексаметазона на уровень провоспалительных цитокинов позвоночных и наличии бифазного эффекта в зависимости от концентрации препарата [1, 7].

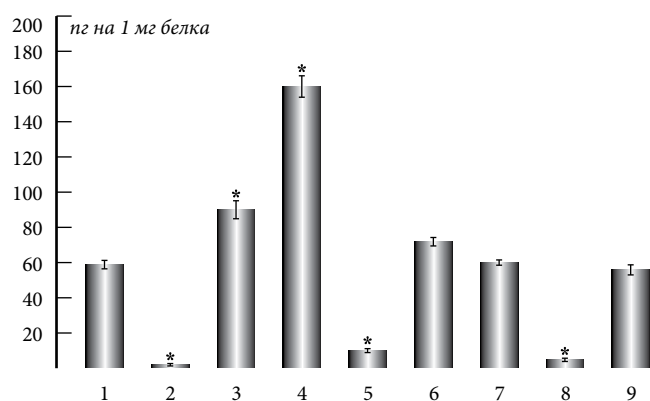


Рис. 3. Уровень ИНФ- $\gamma$ -ПВ в Ф1 голотурии *E. fraudatrix* при действии дексаметазона и ЭГ через 48 часов инкубации:

1 – контроль; 2 – дексаметазон, 100 мкМ; 3 – дексаметазон, 1 мкМ; 4 – дексаметазон, 0,1 мкМ; 5 – ЭГ, 1 мкг/мл; 6 – ЭГ, 0,1 мкг/мл; 7 – ЭГ, 0,01 мкг/мл; 8 – дексаметазон, 100 мкМ + ЭГ, 1 мкг/мл; 9 – дексаметазон, 100 мкМ + ЭГ, 0,01 мкг/мл (\* – разница по сравнению с контролем статистически значима).

Ранее было показано, что дексаметазон в концентрации 100 мкМ через 24 часа инкубации с Ф2 снижал уровень апоптоза по сравнению с контролем, а в концентрациях 0,1 и 1 мкМ, напротив, его стимулировал. Через 48 часов только 0,1 мкМ дексаметазона стимулировал уровень апоптоза, при этом концентрация 1 мкМ даже снижала его уровень, а 100 мкМ – не влияла на него [9]. Сопоставление полученных в настоящей работе и литературных источниках данных свидетельствует о том, что проапоптотическое действие дексаметазона находится в обратной зависимости от уровня цитокиноподобных веществ (ИЛ-1 $\alpha$ -ПВ и ИНФ- $\gamma$ -ПВ) в этих клетках. По-видимому, индукция дексаметазоном апоптоза Ф2 происходит на фоне снижения им уровня провоспалительных цитокинов в клетке.

Влияние дексаметазона на уровень ИНФ- $\gamma$ -ПВ в Ф1 через 48 часов инкубации отличалось от такового для Ф2: он стимулировал выработку ИНФ- $\gamma$ -ПВ только в наименьшей концентрации, а в концентрациях 1 и 100 мкМ, напротив, угнетал ее. Тот факт, что в Ф1 для ингибирующего эффекта требовались более высокие концентрации дексаметазона, свидетельствовал о более высокой чувствительности Ф2 к этому препарату. Ранее I.Yu. Dolmatov et al. [9] была показана и более низкая чувствительность Ф1 по сравнению с Ф2 к апоптозстимулирующему действию дексаметазона: через 48 часов инкубации он стимулировал апоптоз в Ф1 только в высокой концентрации (100 мкМ).

Известно, что у позвоночных эффект некоторых цитокинов, в том числе  $\gamma$ -интерферона, может быть разнонаправленным в зависимости от типа клеток. Так, он может стимулировать апоптоз в тимоцитах, но подавлять его в нейтрофилах [12]. Кроме того, сам уровень  $\gamma$ -интерферона может изменяться под действием одного агента по-разному в различных субпопуляциях клеток [10]. Разнонаправленное влияние дексаметазона на уровень ИНФ- $\gamma$ -ПВ в Ф1 и Ф2 свидетельствует в пользу высказанного ранее предположения

о различной функциональной активности этих двух типов фагоцитов [9].

Полученные данные свидетельствуют также о сходстве характера влияния дексаметазона на цитокины в иммунных клетках позвоночных и цитокиноподобные вещества в фагоцитах голотурий. По-видимому, глюкокортикоидные гормоны могут оказывать иммуномодулирующий эффект в клетках голотурии по механизмам, сходным с таковыми у позвоночных, включающим синтез цитокиноподобных веществ, аналогичных провоспалительным цитокинам позвоночных. Эти данные указывают также на эволюционную древность цитокин-опосредованных механизмов гормональной регуляции естественного иммунитета и подтверждают возможность использования фагоцитов голотурий как модельного объекта при исследовании механизмов иммунитета позвоночных.

ЭГ подобно дексаметазону снижал уровень ИЛ-1 $\alpha$ -ПВ и ИНФ- $\gamma$ -ПВ в Ф2 через 24 часа в обратной концентрационной зависимости. Так же, как и у дексаметазона, действие ЭГ менялось на противоположное через 48 часов: экстракт стимулировал уровень ИНФ- $\gamma$ -ПВ при всех исследованных концентрациях. Ф1 были менее чувствительны к ИНФ- $\gamma$ -ПВ-ингибирующему действию экстракта из голотурий, чем Ф2: экстракт значительно снижал их уровень только в наибольшей концентрации (1 мкг/мл).

Полученные данные свидетельствуют о том, что ЭГ может модулировать уровень провоспалительных цитокинов сходным с дексаметазоном образом. При этом степень влияния экстракта на ИЛ-1 $\alpha$ -ПВ была сопоставима со степенью влияния дексаметазона, а на ИНФ- $\gamma$ -ПВ – только в диапазоне низких концентраций гормона (0,1–1 мкМ).

При 24-часовой инкубации Ф2 одновременно с дексаметазоном (100 мкМ) и ЭГ эффект отдельного действия препаратов на уровень обоих цитокиноподобных веществ снижался или, как при действии наименьшей концентрации экстракта (0,01 мкг/мл), отменялся. При 48-часовой инкубации практически все концентрации экстракта отменяли эффекты отдельного применения препаратов в отношении ИНФ- $\gamma$ -ПВ как в Ф2, так и в Ф1.

Для многих растительных экстрактов, содержащих гликозиды, показано сходное с дексаметазоном противовоспалительное действие, прежде всего, снижение синтеза провоспалительных цитокинов [14]. Биологическая активность тритерпеновых гликозидов из тканей голотурий, входящих и в состав ЭГ, в некоторых случаях значительно выше, чем у растительных гликозидов. ЭГ также оказывал сходное с дексаметазоном влияние на уровень цитокиноподобных веществ в фагоцитах голотурий, более того, при их совместном применении действие препаратов по отдельности отменялось. Учитывая, что в ряде случаев было показано, что тритерпеновые соединения, входящие в состав растительных экстрактов,

конкурировали с дексаметазоном за связывание с глюкокортикоидным рецептором и являются функциональными лигандами рецептора к гормону [14], можно предположить, что компоненты ЭГ могут быть функциональными лигандами глюкокортикоидного гормона. При этом цитокинмодулирующее действие экстракта голотурий даже в малых концентрациях было выше или сопоставимо с таковым дексаметазона, что подтверждает перспективность дальнейших исследований возможностей эффективного использования пентакана в комплексной противовоспалительной терапии.

#### Выводы

1. Ингибирующее влияние дексаметазона на уровень цитокиноподобных веществ в фагоцитах 2-го типа голотурии *E. fraudatrix* при воздействии в течение 24 или 48 часов находится в обратной зависимости от его концентрации и также зависит от времени инкубации.
2. Во фракции фагоцитов 1-го типа способность дексаметазона снижать уровень ИНФ- $\gamma$ -ПВ при инкубации в течение 48 часов возрастает с увеличением его концентрации, причем низкие концентрации (0,1 и 1 мкМ) даже стимулируют рост уровня ИНФ- $\gamma$ -ПВ.
3. Различная чувствительность фагоцитов 1-го и 2-го типов к модулирующему действию дексаметазона на уровень цитокиноподобных веществ свидетельствует в пользу представлений о разной функциональной активности этих клеток.
4. ЭГ в концентрации 0,01–1 мкг/мл оказывает на уровни ИЛ-1 $\alpha$ -ПВ и ИНФ- $\gamma$ -ПВ в обоих типах фагоцитов голотурий действие, сходное с таковым дексаметазона, и отменяет его эффекты при совместном применении.
5. Цитокинмодулирующий эффект ЭГ может быть одним из важных механизмов его противовоспалительного действия.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ – ДВО РАН № 08-04-99141.*

#### References:

1. Gusev E.Yu., Chereshev V.A., Evolution of inflammation // Cytokines and inflammation. 2012. Vol. 11, No. 4. P. 5–13.
2. Dolmatova L.S., Eliseikina M.G., Romashina V.V. Antioxidant enzymatic activity of coelomocytes of Far Eastern holothurian *Eupentacta fraudatrix* // Journal of evolutionary biochemistry and physiology. 2004. Vol. 40, No. 2. P. 104–111.
3. Dolmatova L.S., Rakhmanova S.N., Yutskovskiy A.D. Place and role of yeasts in the development of acne // Far Eastern Bulletin of dermatovenerology, dermatocosmetology and sexual pathology. 2008. No. 2. P. 17–18.
4. Dolmatova L.S., Zaika O.A., Timchenko N.F. Effect of extract from Far Eastern species of sea cucumbers on oxidant-antioxidant balance and apoptosis in murine macrophages in experimental pseudotuberculosis infection // Pacific Medical Journal 2012. No. 1. P. 53–56.
5. Diachkov I.S., Kudryavtsev I.V., Sukhachev A.N. Study of the mechanisms of intercellular cooperation in the reactions of the echinoderms' innate immunity // Bulletin of Ural Medical Academic Science. 2006. No. 3–1 (14). P. 57–60.
6. Chechina O.E., Biktasova A.K., Sazonova E.V. [et al.]. The role

- of cytokines in redox-dependent the regulation of apoptosis // Bulletin of Siberian medicine. 2009. No. 2. P. 67–72.
7. Chantong B., Kratschmar D.V., Nashev L.G. [et al.]. Mineralocorticoid and glucocorticoid receptors differentially regulate NF-kappaB activity and pro-inflammatory cytokine production in murine BV-2 microglial cells // Neuroinflammation. 2012. Vol. 9. doi: 10.1186/1742-2094-9-260.
  8. Chia F., Xing J. Echinoderm coelomocytes // Zoological Studies. 1996. Vol. 35, No. 4. P. 231–254.
  9. Dolmatov I.Yu., Dolmatova L.S., Shitkova O.A., Kovaleva A.L. Dexamethasone-induced apoptosis in phagocytes of holothurian *Eupentacta fraudatrix* // Proceedings of the 11th International Echinoderm Conference, Munich, Germany. 2003. London. 2004. P. 105–119.
  10. Huebner L., Engeli S., Wrann C.D. [et al.]. Human NK cell subset functions are differentially affected by adipokines // PLoS One. 2013. Vol. 8. e75703. doi: 10.1371/journal.pone.0075703.
  11. Legas E., Vaugier G.L., Bousquet F. [et al.]. Primitive cytokines and cytokine receptors in invertebrates: the sea star *Asterias rubens* as a model of study // Scandinavian Journal of Immunology. 1996. Vol. 44. P. 375–380.
  12. Liles W.C., Dale D.C., Klebanoff S.J. Glucocorticoids inhibit apoptosis of human neutrophils // Blood. 1995. Vol. 86. P. 3181–3188.
  13. Muroya M., Chang K., Uchida K. [et al.]. Analysis of cytotoxicity induced by proinflammatory cytokines in the human alveolar epithelial cell line A549 // Bioscience Trends. 2012. Vol. 6. P. 70–80.
  14. Yang C.S., Ko S.R., Cho B.G. [et al.]. The ginsenoside metabolite compound K, a novel agonist of glucocorticoid receptor, induces tolerance to endotoxin-induced lethal shock // Journal of Cellular and Molecular Medicine. 2008. Vol. 12, No. 5A. P. 1739–1753.

Received 2013.12.12.

**Сравнительное исследование действия дексаметазона и нового экстракта из голотурий на уровень цитокиноподобных веществ в отдельных типах иммунцитов голотурии *Eupentacta fraudatrix* Л.С. Долматова<sup>1</sup>, О.А. Уланова<sup>1</sup>, И.Ю. Долматов<sup>2,3</sup>**

<sup>1</sup> Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН (690041, г. Владивосток, ул. Балтийская, 43),

<sup>2</sup> Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН (690041, Владивосток, ул. Пальчевского, 17), <sup>3</sup> Дальневосточный федеральный университет (690950, Владивосток, ул. Суханова, 8)

**Резюме.** Исследовано влияние дексаметазона и нового экстракта из тканей дальневосточных голотурий (препарат «Пентакан») на уровень интерлейкин-1α-подобных (ИЛ-1α-ПВ) и интерферон-γ-подобных (ИФН-γ-ПВ) веществ в двух типах фагоцитов (Ф1 и Ф2) голотурии *Eupentacta fraudatrix*. В Ф2 низкие концентрации дексаметазона (1 и 0,1 мкМ) через 24 часа инкубации снижали уровень ИЛ-1α-ПВ и ИФН-γ-ПВ в обратной, а через 48 часов – повышали уровень ИФН-γ-ПВ в прямой концентрационной зависимости. 100 мкМ дексаметазона повышали уровень ИФН-γ-ПВ в Ф2 в оба срока инкубации, в Ф1, напротив, значительно его ингибировали через 48 часов. Экстракт из голотурий (0,01–1 мкг/мл) оказывал на уровни ИЛ-1α-ПВ и ИФН-γ-ПВ в обоих типах фагоцитов действие, сходное с таковым дексаметазона, и отменял его эффекты при совместном введении, что указывает на конкурентные отношения препаратов. Полученные данные свидетельствуют об эволюционной древности цитокин-опосредованных механизмов гормональной регуляции врожденного иммунитета, а также перспективности дальнейшего исследования возможностей использования экстракта из голотурий в комплексной противовоспалительной терапии.

**Ключевые слова:** пентакан, интерлейкин-1α, γ-интерферон, фагоциты.

УДК 616.211-002-056.43:612.017.1-053.2

## СТРУКТУРА ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ НАЗАЛЬНОГО СЕКРЕТА ПРИ АЛЛЕРГИЧЕСКОМ РИНИТЕ У ДЕТЕЙ

*Е.В. Просекова<sup>1</sup>, С.Ю. Нетесова<sup>2</sup>, Н.Р. Забелина<sup>1</sup>, В.А. Сабыныч<sup>1</sup>, С.А. Сотниченко<sup>3</sup>*

<sup>1</sup> Тихоокеанский государственный медицинский университет (690950, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2), <sup>2</sup> Краевая детская клиническая больница № 1 (690002, Владивосток, пр-т Острякова, 27), <sup>3</sup> Дальневосточный окружной медицинский центр Федерального медико-биологического агентства (690022, г. Владивосток, пр-т 100 лет Владивостоку, 161)

**Ключевые слова:** аллергическое воспаление, интерлейкины, фактор некроза опухоли-альфа, гамма-интерферон.

### THE CYTOKINE PROFILE STRUCTURE OF NASAL SECRETION IN CHILDREN'S ALLERGIC RHINITIS

*E.V. Prosekova<sup>1</sup>, S.Yu. Netesova<sup>2</sup>, N.R. Zabelina<sup>1</sup>, V.A. Sabynych<sup>1</sup>, S.A. Sotnichenko<sup>3</sup>*

<sup>1</sup> Pacific State Medical University (2 Ostryakova Ave. Vladivostok 690950 Russian Federation), <sup>2</sup> Regional Children's Clinical Hospital No. 1 (27 Ostryakova Ave. Vladivostok 690002 Russian Federation), <sup>3</sup> Far East District Medical Center of Federal Medicobiologic Agency (161 100-letiya Vladivostoku Ave. Vladivostok 690022 Russian Federation)

**Background.** The results of the cytokine profiles study in various biological substrates for children's allergic diseases presented in solitary domestic and foreign publications being often contradictory that determines importance of this research.

**Methods.** There was the research of the cytokine profile of nasal secretion in 120 children with allergic rhinitis (AR), which in 40

cases combined with bronchial asthma. The control tests rates - 20 healthy peers. The levels of the Interleukins (IL) 4, 8 and 13, tumor necrosis factor alpha (TNFα) and interferon gamma (IFNγ) were determined by enzyme-linked immunosorbent assay.

**Results.** The predominance of IL-8, increased synthesis of IL-13 and IL-4 in children with AR in the structure of the cytokine profile has been recorded. During activation of allergic immune inflammation the proportion of IL-13, IL-8 and IFNγ was substantially similar. During an exacerbation of the disease the proportion of IL-4 in nasal secretion was significantly higher than in the remission period and in mild clinical course of the disease. The content of IL-8 in nasal secretion during AR exacerbation was significantly higher than in the remission period. In children with isolated AR the IL-8 level was 3.2 times lower than in children with complex lesions of the upper and lower respiratory tract but significantly higher than the control tests rates. During the rhinitis exacerbation a statistically significant increase of IL-4 concentration in nasal secretion has been recorded. The IFNγ content was definitely different in the disease periods, a correlation with the activity and severity of allergic inflammation as well as the presence of allergic pathology have been revealed. The following

Просекова Елена Викторовна – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики, общей и клинической иммунологии ТГМУ; тел.: +7 (423) 266-07-19, e-mail: pros.ev@mail.ru