

**ЦИТОКИНОВЫЙ ОТВЕТ НА БАКТЕРИАЛЬНУЮ ТРАНСЛОКАЦИЮ
НА МОДЕЛИ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ КИШЕЧНИКА
У ОБЕЗЬЯН ВИДА *MACACA MULATTA***

Амаба С. Т.¹,
Конджария И. Г.¹,
Матуа А. З.¹,
Трапш Х. З.¹,
Миквабия З. Я.¹,
Дьяченко А. Г.²

¹ Научно-исследовательский институт экспериментальной патологии и терапии Академии наук Абхазии, Сухум, Абхазия

² Сумской государственной университет, Сумы, Украина

**CYTOKINE RESPONSE TO BACTERIAL TRANSLOCATION IN A
MODEL OF INFLAMMATORY BOWEL DISEASES IN *MACACA
MULATTA* MONKEYS**

Amaba S. T. ^a,

Konjaria I. G. ^a,

Matua A. Z. ^a,

Trapsh Kh. Z. ^a,

Mikvabiya Z. Ya. ^a,

Dyachenko A. G. ^b

^a Research Institute of Experimental Pathology and Therapy of the Academy of Sciences of Abkhazia, Sukhum, Abkhazia

^b Sumy State University, Sumy, Ukraine

Резюме

Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК), представляющие собой гетерогенную группу патологий с различными клинико-морфологическими проявлениями, являются значимой проблемой современной медицины. Развитие ВЗК обусловлено сложным взаимодействием генетических факторов, особенностей иммунной системы и роли микробиоты кишечника. Сложность диагностики, разнообразные подходы к лечению и в ряде случаев неясная этиология некоторых форм воспалительных заболеваний кишечника подчёркивают необходимость проведения углубленных исследований *in vivo* с использованием адекватных человеку животных моделей. Целью исследования было воспроизведение признаков ВЗК у *Macaca mulatta* (макака резус), путем перорального введения химического индуктора, и оценка цитокиновой реакции на повреждение кишечного барьера и транслокацию бактериальных компонентов в сосудистое русло. В качестве объекта исследования были выбраны половозрелые самцы *Macaca mulatta* (n=5), содержащиеся в питомнике при ГНУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной патологии и терапии Академии наук Абхазии». Индукция воспалительного заболевания кишечника у макак резусов осуществлялась путем химического воздействия – перорального введения 5%-ной натриевой соли сульфатированного декстрана (ДСН) с молекулярным весом 40 000 в объёмах, соответствующих физиологическим потребностям животных. Для определения цитокинов и маркера микробной транслокации использовали иммунологические и молекулярно-генетические методы анализа. Результаты исследования показали, что индукция ВЗК у макак резусов приводит к закономерному нарастанию сывороточного маркера транслокации 16S рДНК со вторых суток после воздействия ДСН, с достижением максимальных значений на шестые сутки. Параллельно с нарастанием маркера транслокации наблюдалась стимуляция цитокинового ответа, проявляющаяся достоверным нарастанием концентраций IL-6

и IFN- γ . Стимуляция выработки цитокинов в ответ на индукцию наблюдается на ранних этапах, начиная с первых суток, и достигает пиковых значений на 2–6-й день. Важно отметить, что после отмены ДСН уровни маркеров воспаления оставались высокими, хотя и демонстрировали тенденцию к постепенному снижению к концу опыта. Таким образом, разработана модель химически индуцированного воспалительного процесса у *Macaca mulatta*, характеризующаяся четким, преимущественно Th1-цитокиновым профилем, сопровождающимся выраженной микробной транслокацией. Продолжительность воспаления, индуцированного ДСН, сопоставима со временем, необходимым для перехода острого воспаления в хроническую форму. Полученная модель может быть ценным инструментом для дальнейшего изучения патогенеза и разработки новых методов лечения ВЗК.

Ключевые слова: *Macaca mulatta*; декстрансульфат натрия; микробная транслокация; цитокины; модель.

Abstract

Inflammatory bowel diseases (IBD), which are a heterogeneous group of pathologies with various clinical and morphological manifestations, are a significant problem in modern medicine. The aim of the study was to reproduce the signs of IBD in *Macaca mulatta* (Rhesus macaque) by oral administration of DSS and to assess the cytokine response to intestinal barrier damage and translocation of bacterial components into the vascular bed. Mature *Macaca mulatta* males (n=5), kept in the wildebeest nursery at the Scientific Research Institute of Experimental Pathology and Therapy of the Academy of Sciences of Abkhazia were selected as the object of the study. The induction of inflammatory bowel disease in Rhesus macaque was carried out by chemical exposure – oral administration of 5% sodium salt of sulfated dextran (DSS) with a molecular weight of 40 000 in volumes corresponding to the physiological needs of animals. Immunological and molecular genetic analysis methods were used to determine cytokines and a marker of microbial translocation. The results of the study showed that induction of IBD in Rhesus monkeys leads to a regular increase in the serum marker of 16S rDNA translocation from the second day after exposure to DSS, reaching maximum values on the sixth day. In parallel with the increase in the translocation marker, there was an increase in the cytokine response, manifested by a significant increase in the concentrations of IL-6 and IFN- γ . The stimulation of cytokine production in response to induction is observed in the early stages, starting from the first day, and reaches peak values on the 2nd to 6th day. It is important to note that after the discontinuation of DSS, the levels of inflammation markers remained high, although they showed a gradual decrease towards the end of the experiment. Thus, a model of chemically induced inflammatory process in *Macaca mulatta* has been developed, characterized by a clear, predominantly Th1-cytokine profile, accompanied by pronounced microbial translocation. The duration of inflammation induced by DSS is comparable to the time required for acute inflammation to transition into a chronic form. This model can be a valuable tool for further studying the pathogenesis and developing new treatments for IBD.

Keywords: *Macaca mulatta*; sodium dextran sulfate; microbial translocation; cytokines; mode

1 Введение

Одна из наиболее распространенных и широко используемых классификаций болезней, в том числе УДК, основывается на определении органа или ткани, в которых развивается патологический процесс. В свою очередь, типичным и наиболее часто встречающимся видом патологического процесса является воспаление, которое можно определить как совокупность эволюционно приобретенных и высоко консервативных иммунобиологических реакций, приводящих к локализации повреждающего фактора, его элиминации или нейтрализации и восстановлению поврежденных тканей. Как правило, воспалительный процесс контролируется множеством иммунных регуляторных клеток, а также присутствующими в очаге воспаления патогенными и комменсальными микроорганизмами. В кишечнике, населенном триллионами бактерий, вирусов, архей и грибов, контролируемое воспаление является важнейшим императивом сохранения гомеостаза. Взаимодействие иммунных клеток с кишечными бактериями и пищевыми молекулами играет ключевую роль в поддержании гомеостаза кишечника посредством регуляции воспалительных процессов. Эти взаимодействия стимулируют как провоспалительные эффекторные клетки, так и активируют противовоспалительные пути [29, 31]. Нарушение данного баланса может способствовать развитию иммунных конфликтов, приводящих к тканевым повреждениям. В частности, такие события, как деструкция эпителиального барьера, утрата контроля над бактериальной колонизацией и стимуляцией иммунных эффекторов и нарушение гомеостатического баланса, могут возникать в различных отделах кишечника и способствовать развитию патологических состояний [14, 31].

Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК) характеризуются хроническим, рецидивирующим воспалением, затрагивающим толстую кишку и другие отделы желудочно-кишечного тракта. Среди ВЗК выделяют два основных клинических типа: болезнь Крона (БК), проявляющаяся трансмуральным изъязвлением как тонкой, так и толстой кишки, и неспецифический язвенный колит (НЯК), при котором наблюдаются язвенные повреждения слизистой оболочки толстой кишки [23]. Заболеваемость НЯК в мире колеблется от 6,3 на 100 000 человеко-лет в развивающихся странах до 24,3 на 100 000 человеко-лет в развитых странах, в то время как БК колеблется от 5,0 до 20,2, причем частота и распространенность обоих заболеваний растет [1].

Эпителиальный барьер кишечника представляет собой сложную структуру, состоящую из монослоя эпителиальных клеток, их межклеточных соединений, а также слизистого слоя, богатого муцином и другими защитными компонентами. Отделяя микрофлору кишечника от иммунной системы, эпителиальный барьер играет ключевую роль в поддержании гомеостаза, обеспечивает физическую и иммунологическую защиту. В

45 здоровом состоянии микрофлора кишечника участвуют в модуляции
46 иммунного ответа, способствует укреплению барьера, стимулируя выработку
47 муцинов, слизи и антимикробных пептидов, а также поддерживая целостность
48 эпителия. В то же время небольшое количество бактериальных компонентов и
49 /или целых бактерий регулярно проникает в подслизистый
50 слой, лимфатическую систему и кровотоки. Этот феномен получил
51 название микробная/бактериальная транслокация. Она чрезвычайно
52 важна для сохранения иммунной компетенции [6,8]. Нарушение
53 целостности эпителиального барьера ведет к повышенной экспрессии
54 ключевых цитокинов [8, 31, 32]. При длительном сохранении высоких
55 уровней транслокации кишечных бактерий или их продуктов наблюдается
56 системная иммунная активация [28], неизбежным следствием которой в свою
57 очередь является иммунное истощение и утрата иммунных функций [10].
58 Механизм развития ВЗК связан с нарушением иммунной толерантности
59 к резидентным комменсальным бактериям кишечника [8, 22], что приводит к
60 хроническому воспалению в тонкой или толстой кишке. Неконтролируемое
61 воспаление кишечника, в свою очередь, неизбежно оказывает воздействие на
62 весь организм в целом [7, 9]. Этиология ВЗК до конца не изучена, однако
63 выделяют несколько ключевых факторов, способствующих развитию
64 заболеваний, включающих генетическую предрасположенность, нарушения
65 микробиоты и рациона питания. Комплексное взаимодействие
66 этих и некоторых других факторов создает условия для нарушения
67 иммунорегуляции и развития патологического воспаления, что в конечном
68 итоге способствует возникновению и прогрессированию ВЗК [18, 30]. В
69 частности, геномные исследования показали участие более 200 генетических
70 локусов в появлении восприимчивости к ВЗК [13]. Так, выключая или нарушая
71 работу ряда генов, связанных с ВЗК (например, IL-10-/-, IL-2-/-, STAT3-/-),
72 удастся точно воспроизвести на моделях грызунов многие из симптомов,
73 патологию, сигнальные пути и гистологические особенности заболевания [16].
74 Более того, получены убедительные доказательства связи между
75 генетической предрасположенностью и потерей микробной
76 толерантности в начале хронического колита на примере генетически
77 восприимчивых мышей, у которых колит не развивается при содержании их в
78 асептических условиях [15]. Хронические воспалительные заболевания
79 кишечника часто ассоциированы с предшествующими эпизодами
80 острого воспаления, этиологическими факторами которых могут
81 выступать вирусные, бактериальные или паразитарные инфекции [5].
82 Дисрегуляция иммунных ответов в кишечнике и аутоиммунные нарушения
83 также вносят существенный вклад в развитие ВЗК [30, 37]. В этой связи,
84 применение моделей *in vivo* является ценным подходом для выяснения
85 этиопатогенетических механизмов воспалительных заболеваний кишечника.
86 Лечение ВЗК определяется симптомами заболевания и продолжается
87 зачастую пожизненно. Современные терапевтические стратегии лечения ВЗК

88 включают использование противовоспалительных препаратов,
89 иммунодепрессантов, антибиотиков и биологически активных веществ. В
90 случаях критических ситуаций или у не реагирующих
91 пациентов терапевтические подходы приходится комбинировать с
92 хирургическими вмешательствами [23, 27]. Тем не менее, далеко не у всех
93 пациентов лечение оказывается эффективным. У некоторых пациентов
94 развиваются побочные эффекты, осложняющие течение основного
95 заболевания. В существующих схемах лечения ВЗК отсутствует
96 специфическая направленность на этиологический фактор, а также
97 способность стимулировать восстановление поврежденного эпителия,
98 что важно для индукции ремиссии [22].

99 Использование моделей на животных позволяет разрабатывать новые виды
100 терапии, которые могут вызвать ремиссию или предотвратить рецидив.
101 Большинство разработанных к настоящему времени животных моделей ВЗК
102 основано на химической индукции симптомов у мышей,
103 крыс, минипигов, кроликов с использованием в качестве индуктора
104 воспаления натриевой соли сульфатированного декстрана (ДСН) и
105 2,4,6-тринитробензенсульфоновой кислоты (ТНБС) [41].

106 Экспериментальная модель ВЗК, созданная с использованием декстрана
107 сульфата натрия, открывает возможности для изучения влияния бактерий и
108 пробиотиков на возникновение и течение заболевания. Этот тип
109 индуцированного колита представляет собой удобную модель для
110 исследования острых повреждений кишечника, поскольку он воспроизводит
111 разнообразные поражения в стенках толстой и тонкой кишки, характерные для
112 патологии ВЗК [17]. Использование приматов в качестве модели обладает
113 рядом достоинств, обусловленных сходством их биохимических и
114 иммунологических параметров с человеческими, что делает результаты
115 исследований более релевантными для клинической практики. В литературе
116 имеется только два сообщения о получении ДСН-индуцированной модели
117 ВЗК на нечеловекообразных приматах *Macaca fascicularis* и
118 *Macaca mulatta* с описанием внешних признаков ВЗК и
119 гистологических изменений [21, 38].

120 Цель исследования – воспроизвести признаки ВЗК у *Macaca mulatta*
121 путем перорального введения ДСН и оценить цитокиновый
122 ответ на повреждение кишечного барьера и транслокацию бактериальных
123 компонентов в сосудистое русло.

124 2 Материалы и методы

125 Животные

126 В исследовании использовали обезьян вида *Macaca mulatta* (макака
127 резус), n=5. Все животные происходят из колонии, находящейся в питомнике
128 обезьян ИЭПиТ АНА (Сухум), и были клинически здоровы на момент начала
129 эксперимента. Содержание и уход за животными осуществлялся в питомнике
130 в соответствии с существующими стандартами по уходу и использованию
131 лабораторных животных [2].

132 Реактивы

133 В качестве индуктора острого воспаления кишечника у макак резусов
134 использовалась натриевая соль сульфатированного декстрана (ДСН)
135 с молекулярной массой 40 000.

136 Дизайн эксперимента 5% раствор ДСН вводили перорально в объёмах,
137 соответствующих суточным нормам потребления (100 мл на 1 кг веса
138 животного). Взятие образцов крови осуществляли в динамике эксперимента
139 на следующие временные точки: фон, 1, 2, 3, 6, 14, 16 и 42 сутки от начала
140 введения раствора.

141 Анализ маркеров воспаления и микробной транслокации

142 Содержание IFN- γ , IL-1 β , IL-6, TNF- α проводили с
143 помощью

144 иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием реагентов «Вектор
145 Бест» (Россия) по инструкции фирмы производителя. Концентрацию sCD14
146 определяли с использованием коммерческих наборов фирмы Hycult Biotech
147 (Нидерланды). Концентрацию 16S рДНК устанавливали с помощью ПЦР в
148 реальном времени (rt-PCR) с набором ZymoRes(США).

149 Статистический анализ

150 Для статистического анализа данных использовалась программа
151 StatTech v.4.7.1 (ООО "Статтех", Россия). Количественные показатели
152 проверялись на нормальность распределения критерием Шапиро-Уилка. В
153 случае соответствия нормальному распределению, данные описывались как M
154 \pm SD с указанием 95% доверительного интервала (ДИ). Сравнение трёх и более
155 связанных групп с нормальным распределением проводилось однофакторным
156 дисперсионным анализом с повторными измерениями (F-критерий Фишера).
157 Для апостериорного анализа использовался парный t-критерий Стьюдента
158 (поправка Холма). Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

159 **3 Результаты**

160 В данной работе проведено исследование динамики бактериальной
161 транслокации и цитокинового ответа у макак резусов при индуцированном
162 воспалении кишечника, вызванном введением индуктора ДСН. В рамках
163 исследования были проанализированы молекулярные маркеры бактериальной
164 транслокации и иммунной реакции в динамике, как до, так и на фоне
165 воздействия индуктора.

166 Нарушение барьерной функции слизистой оболочки кишечника и
167 снижение её способности к регенерации приводят к
168 проникновению микробных компонентов через дефекты слизистого слоя в
169 более глубокие слои ткани и далее в сосудистое русло. Это сопровождается
170 ростом проницаемости кишечного мукозного барьера и способствует
171 транслокации липополисахарида (ЛПС) – компонента наружной
172 мембраны грамотрицательных бактерий, обладающего способностью
173 индуцировать иммунную активацию и воспалительный ответ. В исследуемой
174 модели у интактных макак резусов среднее значение уровня sCD14 составляло
175 1,8 мкг/мл. После введения ДСН животным отмечено относительное

176 повышение содержания sCD14 в крови на 1–6 сутки с последующим
177 снижением к концу эксперимента. Статистический анализ показал, что эти
178 изменения не были значимыми ($p=0,119$), что подтверждается использованием
179 критерия Фишера с повторными измерениями.

180 Нами отмечалось увеличение транслокации прямого бактериального
181 маркера 16S рДНК. В эксперименте введение ДСН макакам резусам привело
182 к наблюдаемому динамическому увеличению концентрации 16S рДНК в
183 сосудистом русле, причем в некоторые дни отмечались уровни выше 11
184 копий/мкл. К концу исследования у четырех особей эти показатели снизились
185 до фоновых значений. Статистический анализ показал, что
186 изменения концентрации 16S рДНК были значимыми ($p=0,014$), что
187 подтверждается использованием критерия Фишера с повторными
188 измерениями (рисунок 1).

189 Известно, что бактериальные и тканевые антигены, индуцируя синтез
190 провоспалительных цитокинов, способствуют развитию воспаления и
191 иммунного ответа. В данном исследовании оценивалась динамика уровней IL-
192 6, IL-1 β , TNF- α и IFN- γ в крови под воздействием ДСН. Результаты показали
193 повышение уровней цитокинов по сравнению с исходными значениями,
194 причем значимыми были изменения концентраций IL-6 и IFN- γ ($p<0,001$ для
195 обоих показателей). В то же время, несмотря на тенденцию к росту,
196 статистическая разница не была выявлена для IL-1 β и TNF- α ($p=0,509$ и
197 $p=0,083$ соответственно). Максимальные уровни цитокинов наблюдались со 2-
198 го по 6-й день после введения ДСН, при этом уровни большинства
199 медиаторов превышали исходные в 1,5–3 раза. После отмены
200 стимулирующего агента уровни цитокинов оставались повышенными и
201 постепенно снижались лишь к концу исследования, что свидетельствует о
202 продолжительном характере воспалительной реакции и возможном
203 переходе острого воспаления в хроническое (Рисунок 2).

204 Таким образом, полученные данные демонстрируют, что вызванное
205 введением ДСН воспаление сопровождается усиленной бактериальной
206 транслокацией, активацией иммунных механизмов и длительным
207 сохранением повышенного уровня провоспалительных
208 цитокинов. Эти результаты подчеркивают важность изучения
209 механизмов регуляции кишечного барьера и иммунного ответа при
210 воспалительных заболеваниях кишечника.

211 **4 Обсуждение**

212 Снижение барьерной функции усиливает транслокацию бактериальных
213 продуктов, таких как эндотоксины или фрагменты бактериального генома, из
214 желудочно-кишечного тракта в системный кровоток. На фоне введения
215 индуктора ДСН макакресусам повышенная проницаемость
216 кишечного барьера увеличивала давление бактериальных антигенов, в
217 частности ЛПС. ЛПС, гликолипид, входящий в состав клеточной стенки
218 грамотрицательных бактерий, стимулирует продукцию IL-6, IL-1 β , TNF- α и
219 интерферонов I типа [24, 25] путем взаимодействия с

220 мембранными рецепторами: CD14 и комплексом MD-2-TLR4.
221 Это взаимодействие, в свою очередь, через сигнальные пути,
222 приводит к активации фактора транскрипции NF-κB и экспрессии цитокинов.
223 Для модуляции ответа на высокие уровни ЛПС, в организме секретируется
224 растворимая форма CD14 (sCD14), которая, связывая ЛПС, предотвращает
225 гиперактивацию моноцитов. sCD14, продуцируемый макрофагами и клетками
226 печени, циркулирует в сыворотке крови и служит маркером активации
227 моноцитов, индуцированной ЛПС [12, 19]. В сыворотке здоровых людей и
228 шимпанзе концентрация sCD14 варьирует в пределах 1-3 мкг/мл [32, 40].
229 Несмотря на то, что sCD14 является косвенным маркером микробной
230 транслокации, его уровень позволяет прогнозировать клиническое
231 течение и исход течения заболеваний [32]. В наших
232 исследованиях мы использовали sCD14, прежде всего, в
233 качестве индикатора активации моноцитов. Тенденция к динамическому
234 повышению в ранние сроки и последующему снижению к концу наблюдения
235 циркулирующего sCD14 была статистически незначима.
236 Прямым маркером бактериальной транслокации через мукозный барьер
237 является обнаруживаемый в циркуляции продукт распада бактерий 16S рДНК
238 - ген 16S рРНК прокариот. Увеличение нагрузки 16S рДНК после химической
239 индукции кишечного воспаления с помощью перорального введения ДСН
240 было статистически значимым на протяжении всего срока наблюдения и
241 свидетельствует о длительности микробной транслокации.
242 Бактериальная транслокация участвует в патогенезе ВЗК, вызывая,
243 одерживая или усугубляя воспалительное состояние. Цитокины,
244 продуцируемые Т-хелперными клетками (Th1, Th2 и Th17), оказывают
245 влияние на воспалительные процессы в кишечнике, что было показано на
246 мышинной модели экспериментального колита, индуцированного
247 декстрансульфатом натрия [35]. Считается, что повышение проницаемости
248 кишечного барьера, сопровождающееся инфильтрацией иммунными
249 эффекторными клетками, увеличивает продукцию
250 провоспалительных цитокинов в слизистой оболочке, осуществляемую как
251 эпителиальными, так и иммунокомпетентными клетками [39]. В рамках
252 настоящего исследования была проведена оценка продукции
253 провоспалительных цитокинов IL-6, IL-1β,
254 TNF-α и IFN-γ в ответ на воздействие ДСН.
255 Известно, что цитокины реализуют свои биологические эффекты
256 посредством активации Janus-киназ и факторов транскрипции STAT. Данные,
257 полученные в ходе экспериментальной блокады рецепторов IL-6, указывают
258 на ключевую роль данного цитокина в развитии Th1-
259 опосредованного химически индуцированного колита, реализуемую
260 посредством активации сигнального пути STAT3 [4]. Действительно, STAT3
261 является наиболее сильным тирозинфосфорилирующим ферментом у
262 пациентов с НЯК и БК и у мышей с ДСН-индуцированным колитом [36]. Эти
263 данные предполагают, что IL-6/STAT3 сигнальный путь играет

264 критическую роль в развитии и прогрессировании ДСН-
265 индуцированного колита, являясь важнейшим негативным
266 регулятором. В наших исследованиях мы также зафиксировали достоверные
267 ($p < 0,001$) изменения концентрации IL-6 на фоне введения индуктора. Этот
268 результат указывает на участие IL-6 в развитии химически индуцированного
269 колита у обезьян.

270 TNF- α играет центральную роль в патогенезе опосредованного Th1
271 колита типа БК и не только. Так, экспрессия рецепторов TNFR2 и активатора
272 транскрипции STAT3, через которые сигнал передается эпителиальным
273 клеткам толстого кишечника, заметно возрастает на этапе восстановления при
274 ДСН-индуцированном колите [26]. Трансдукция сигнала цитокина через
275 рецептор TNFR1 имеет похоже протективный эффект в мышинных моделях
276 ВЗК [11]. Член суперсемейства TNFR индуцируемый глюкокортикоидами ген
277 G1TR конститутивно экспрессируется на высоком уровне на CD4+CD25+
278 регуляторных Т-клетках и на низком уровне - на не стимулированных Т-
279 клетках, В-клетках и макрофагах [34]. Этот рецептор в CD4+ Т-клетках
280 участвует в развитии и прогрессии колита [20], в то время как делеция G1TR
281 защищает от химически индуцированного колита путем подавления
282 врожденного иммунного ответа и эффекторной Т-клеточной активности [33].
283 Несмотря на хорошо описанную в литературе ключевую роль TNF- α в
284 патогенезе Th1-опосредованных форм колита, таких как болезнь Крона, в
285 нашем исследовании статистически значимых изменений уровня TNF- α на
286 фоне введения ДСН не зафиксировано. Наблюдаемая динамика может
287 свидетельствовать о сложной регуляции продукции TNF- α в
288 модели экспериментального воспаления, при которой активность данного
289 цитокина может подвергаться временным ограничениям или модулироваться
290 другими провоспалительными факторами. В частности, в нашей работе было
291 выявлено статистически значимое увеличение уровня IFN- γ , что может
292 указывать на его потенциальную роль в компенсации или подавлении
293 активности TNF- α .

294 IFN- γ продуцируется Т-лимфоцитами и НК-клетками.
295 Патологическая роль IFN- γ при ВЗК объясняется
296 иммуномодулирующим и эпителиальным действием. IFN- γ стимулирует
297 дифференцировку Th0 в Th1. Иммунный IFN- γ вместе со своим антагонистом
298 IL-4 поддерживает баланс Th1/Th2. Являясь основным продуктом Th1-
299 клеток, IFN- γ снижает секреторную активность Th2-клеток. В результате всех
300 этих взаимодействий IFN- γ усиливает развитие клеточного иммунитета и
301 подавляет проявления гуморального иммунного ответа. Кроме того, он
302 увеличивает проницаемость плотных соединений эпителиального барьера,
303 тем самым увеличивая проникновение антигенного материала. Наконец,
304 совместно с TNF- α IFN- γ может вызвать прямое разрушение тканей и
305 усиливать воспалительную реакцию. Увеличение концентраций
306 IFN- γ коррелирует с тяжестью заболевания у пациентов с
307 ВЗК [39]. Нами установлено статистически значимое нарастание ($p < 0,001$)

уровня сывороточного IFN- γ на фоне введения индуктора, что согласуется с его ключевой ролью в патогенезе воспалительных заболеваний кишечника. IL-1 β является значимым медиатором воспаления и повреждения тканей при ВЗК. Баланс между IL-1 β и его эндогенным ингибитором IL-1Ra играет решающую роль, как в иницировании, так и в регуляции воспаления. IL-1 β вносит значительный вклад в индукцию провоспалительных реакций посредством привлечения и активации иммунных клеток в слизистой оболочке кишечника. Параллельно IL-1 β участвует в нарушении кишечного барьера и модулирует дифференциацию и функцию клеток Т-хелперов путем активации дифференциации клеток Th17. Дисбактериоз кишечника также может стимулировать иммунные клетки к выработке IL-1 β , который, в свою очередь, способствует развитию воспаления. Получены доказательства, указывающие на центральную роль участия miRNA в сигнализации, связанной с IL-1 β , при ВЗК, в особенности в поддержании гомеостаза в эпителии кишечника [3]. Однако, в нашем эксперименте, несмотря на эти известные механизмы, мы не обнаружили статистически значимого повышения уровня IL-1 β на фоне введения ДСН. Это может говорить о том, что в организме запускаются компенсаторные механизмы — баланс между IL-1 β и его естественным ингибитором IL-1Ra, а также регуляция на уровне miRNA, которые ограничивают чрезмерное воспаление. Накопленные данные свидетельствуют о значимой роли цитокинов и хемокинов, функционирующих в качестве медиаторов иммуновоспалительных реакций, в развитии воспалительных заболеваний кишечника. Вместе с тем, единая точка зрения относительно характера, степени изменений цитокинового профиля и их влияния на тяжесть и прогрессирование воспалительного процесса в кишечнике в настоящее время отсутствует. В исследованиях, использующих модели кишечного воспаления у мелких лабораторных животных, выявляется нарушение соотношения между провоспалительными и противовоспалительными цитокинами. По нашим данным цитокиновая реакция в ответ на повреждение кишечного барьера и прохождение бактериальных антигенов в системный кровоток характеризовалась кратным достоверным ($p < 0,001$) повышением сывороточных цитокинов IL-6 и IFN- γ .

5 Заключение

Результаты, полученные в рамках клинико-экспериментального исследования на модели ВЗК у *Macaca mulatta*, соответствуют профилю интенсивного воспалительного ответа. Следствием деструкции слизистой оболочки является повышение бактериальной транслокации, подтвержденное увеличением концентрации 16S рДНК. Уровень указанного маркера значительно превышает фоновые значения и демонстрирует динамический рост, достигая максимальных показателей в период с 3-х по 16-е сутки наблюдения. Иммунная активация характеризуется

352 цитокинемией, проявляющейся достоверным нарастанием концентраций IL-6
353 и IFN- γ . Стимуляция выработки цитокинов в ответ на индукцию наблюдается
354 на ранних этапах, начиная с первых суток, и достигает пиковых значений на
355 2–6-й день.

356 Продолжительность воспалительного процесса,
357 индуцированного ДСН, сопоставима с временным периодом, необходимым
358 для перехода острого воспаления в хроническую фазу. В отличие от моделей
359 ВЗК, индуцированных химическими веществами у мелких лабораторных
360 животных, данная модель характеризуется выраженным Th1-
361 доминированным цитокиновым профилем, сопровождающимся значительной
362 микробной транслокацией. Полученная нами модель на *Macaca mulatta* может
363 быть использована для дальнейшего изучения патогенеза и разработки новых
364 методов лечения ВЗК.

365 **Благодарности**

366 Авторы выражают благодарность руководству института за реализацию
367 данного исследования, научным сотрудникам лаборатории иммунологии и
368 вирусологии за их вклад в осуществление работы и коллегам зоотехнического
369 отдела за помощь в проведении эксперимента.

РИСУНКИ

Рисунок 1. Динамика изменения концентраций sCD14(A) и 16SpДНК(B) у *Macaca mulatta* в ответ на введение ДСН

Figure 1. Dynamics of changes in sCD14(A) and 16S rDNA(B) concentrations in *Macaca mulatta* in response to DSS administration

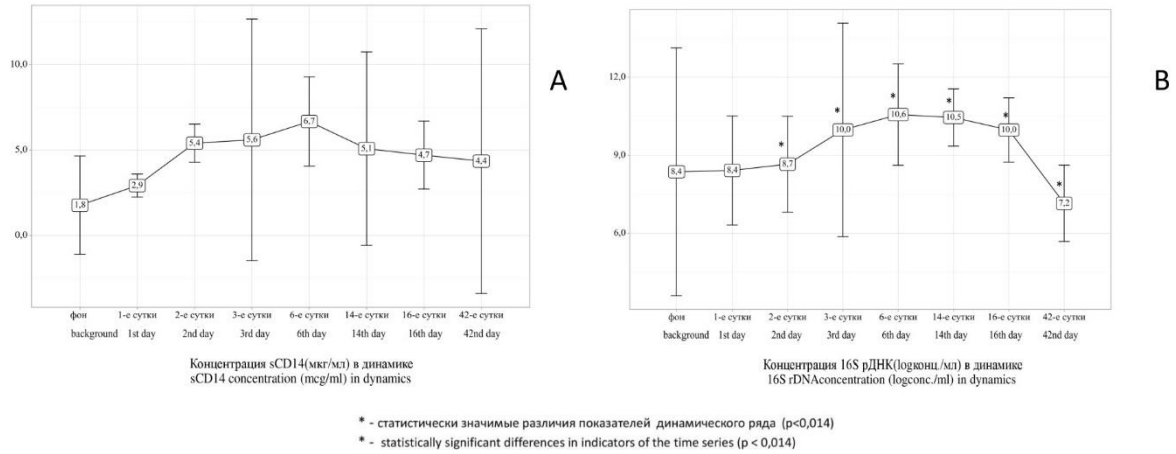
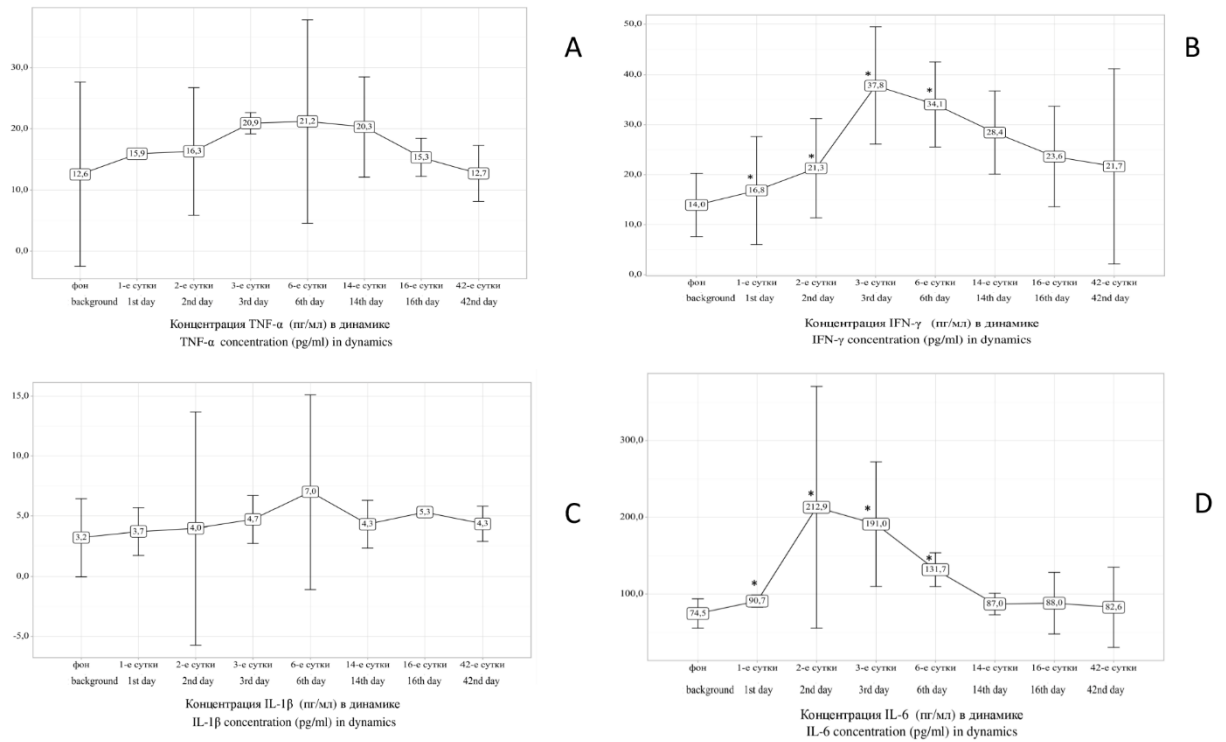


Рисунок 2. Динамика изменения уровня TNF- α (A), IFN- γ (B), IL-1 β 2 (C), IL-6 (D) у *Macaca mulatta* в ответ на введение ДСН

Figure 2. Dynamics of changes in the levels of TNF- α (A), IFN- γ (B), IL-1 β 2 (C), and IL-6 (D) in *Macaca mulatta* in response to the administration of DSS



* - статистически значимые различия показателей IL-6 ($p < 0.001$), IFN- γ ($p < 0.001$) при сравнении с фоном

* - statistically significant differences in IL-6 levels ($p < 0.001$) and IFN- γ levels ($p < 0.001$) compared to baseline

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Амаба Сима Тариеловна, младший научный сотрудник лаборатории иммунологии и вирусологии ГНУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной патологии и терапии Академии наук Абхазии», Сухум, Абхазия;

адрес: 384900, Абхазия, г.Сухум, гора Трапезия, а/я 66;

телефон: [+79409988900](tel:+79409988900);

e-mail: simaamaba@mail.ru

Amaba Sima Tarielovna, Junior Researcher at the Laboratory of Immunology and Virology of the SSI «Research Institute of Experimental Pathology and Therapy of the Academy of Sciences of Abkhazia», Sukhum, Abkhazia;

telephone: [+79409988900](tel:+79409988900);

e-mail: simaamaba@mail.ru

Блок 2. Информация об авторах

Конджария Ирина Георгиевна, к.б.н., доцент, старший научный сотрудник лаборатории иммунологии и вирусологии ГНУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной патологии и терапии Академии наук Абхазии», Сухум, Абхазия;

Konjaria Irina Georgievna, d.m.s., Associate Professor, Senior Researcher at the Laboratory of Immunology and Virology of the SSI «Research Institute of Experimental Pathology and Therapy of the Academy of Sciences of Abkhazia», Sukhum, Abkhazia;

Матуа Алиса Зауровна, к.б.н., доцент, заместитель директора по научной работе, заведующий лабораторией иммунологии и вирусологии ГНУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной патологии и терапии Академии наук Абхазии», Сухум, Абхазия;

Matua Alisa Zaurovna, c.b.s., Associate Professor, deputy Director of Scientific Work, Head. Laboratory of Immunology and Virology of the SSI «Research Institute of Experimental Pathology and Therapy of the Academy of Sciences of Abkhazia», Sukhum, Abkhazia;

Трапш Хамида Зурабовна, младший научный сотрудник лаборатории иммунологии и вирусологии ГНУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной патологии и терапии Академии наук Абхазии», Сухум, Абхазия;

Trapsh Khamida Zurabovna, Junior Researcher at the Laboratory of Immunology and Virology of the SSI «Research Institute of Experimental Pathology and Therapy of the Academy of Sciences of Abkhazia», Sukhum, Abkhazia;

Миквабия Зураб Ясонович, д.м.н., профессор, директор ГНУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной патологии и терапии Академии наук Абхазии», Сухум, Абхазия;

Mikvabiya Zurab Yasonovich, d.m.s., Professor, director of the SSI «Research Institute of Experimental Pathology and Therapy of the Academy of Sciences of Abkhazia», Sukhum, Abkhazia;

Дьяченко Анатолий Григорьевич, д.м.н., профессор, Сумской Государственный Университет, Сумы, Украина;

Dyachenko Anatoly Grigorievich, d.m.s., Professor, Sumy State University, Sumy, Ukraine.

Блок 3. Метаданные статьи

ЦИТОКИНОВЫЙ ОТВЕТ НА БАКТЕРИАЛЬНУЮ ТРАНСЛОКАЦИЮ НА МОДЕЛИ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ КИШЕЧНИКА У ОБЕЗЬЯН ВИДА *MACACA MULATTA*

CYTOKINE RESPONSE TO BACTERIAL TRANSLOCATION IN A MODEL OF INFLAMMATORY BOWEL DISEASES IN *MACACA MULATTA* MONKEYS

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

МОДЕЛЬ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ КИШЕЧНИКА У ОБЕЗЬЯН

MODEL OF INFLAMMATORY BOWEL DISEASE IN MONKEYS

Ключевые слова: *Macaca mulatta*; декстрансульфат натрия; микробная транслокация; цитокины; модель.

Keywords: *Macaca mulatta*; sodium dextran sulfate; microbial translocation; cytokines; model.

Оригинальные статьи.

Количество страниц текста – 9,

Количество таблиц – 0,

Количество рисунков – 2.

13.10.2025

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1	Князев О.В., Шкурко Т.В., Каграманова А.В., Веселов А.В., Никонов Е.Л. Эпидемиология воспалительных заболеваний кишечника. Современное состояние проблемы (обзор литературы). <i>Доказательная гастроэнтерология</i> . - 2020. – Т.9, №2. – С. 66-73.	Kniazev OV, Shkurko TV, Kagramanova AV, Veselov AV, Nikonov EL. Epidemiology of inflammatory bowel disease. State of the problem (review). <i>Russian Journal of Evidence-Based Gastroenterology</i> . 2020, Vol. 9, no. 2, pp. 66-73.	https://doi.org/10.17116/dokgastro2020902166
2	Руководство по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических (неклинических) исследований [Электронный ресурс]. Коллегия Евразийской экономической комиссии. - М.: Коллегия Евразийской экономической комиссии, 2023. - № 33. - С. 1-102.	Rukovodstvo po rabote s laboratornymi (eksperimental'nymi) zhivotnymi pri provedenii doklinicheskikh (neklinicheskikh) issledovanij [Guidelines for working with laboratory (experimental) animals during preclinical (non-clinical) studies]. Kollegiya Evrazijskoj ekonomicheskoy komissii [Moscow, Board of the Eurasian Economic Commission], 2023, no. 33, pp. 1-102.	https://www.alta.ru/tamdoc/23rk0033/

3	Aggeletopoulou, I., Kalafateli, M., Tsounis, E. P. et al. Exploring the role of IL-1 β in inflammatory bowel disease pathogenesis. <i>Frontiers in Medicine</i> , 2024, Vol. 11, article 1307394.	-	https://doi.org/10.3389/fmed.2024.1307394
4	Alhendi, A., Saleh, A. N. The dual role of interleukin-6 in Crohn's disease pathophysiology. <i>Frontiers in Immunology</i> , 2023, vol. 14, article 1295230.	-	https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1295230
5	Axelrad, J. E., Cadwell, K. H., Colombel, J. F. et al. The role of gastrointestinal pathogens in inflammatory bowel disease: a systematic review. <i>Therapeutic Advances in Gastroenterology</i> , 2021, Vol. 31, no. 14, article 17562848211004493.	-	https://doi.org/10.1177/17562848211004493
6	Brenchley, J. M., Douek, D. C. Microbial translocation across the GI tract. <i>Annual Review of Immunology</i> , 2012, Vol. 30, pp. 149-173.	-	https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-020711-075001
7	Denou, E., Lolmede, K., Garidou, L. et al. Defective NOD2 peptidoglycan sensing promotes diet-induced inflammation, dysbiosis, and insulin	-	https://doi.org/10.15252/emmm.201404169

	resistance. EMBO Molecular Medicine, 2015, Vol. 7, no. 3, pp. 259–274.		
8	Diez-Martin, E., Hernandez-Suarez, L., Muñoz-Villafranca, C. et al. Inflammatory bowel disease: A comprehensive analysis of molecular bases, predictive biomarkers, diagnostic methods, and therapeutic options. International Journal of Molecular Sciences, 2024, Vol. 25, no. 13, article 7062.	-	https://doi.org/10.3390/ijms25137062
9	Di Vincenzo, F., Del Gaudio, A., Petito, V. et al. Gut microbiota, intestinal permeability, and systemic inflammation: a narrative review. Internal and Emergency Medicine, 2024, Vol. 19, no. 2, pp. 275-293.	-	https://doi.org/10.1007/s11739-023-03374-w
10	Dyavar, S. R., Velu, V., Titanji, K. et al. PD-1 blockade during chronic SIV infection reduces hyperimmune activation and microbial translocation in rhesus macaques. The Journal of Clinical Investigation, 2012, Vol. 122, no. 5, pp. 1712–1716.	-	https://doi.org/10.1172/JCI60612
11	Ebach, D. R., Newberry, R., Stenson, W. F. Differential role of tumor necrosis factor receptors in TNBS colitis.	-	https://doi.org/10.1097/01.mib.0000163698.34592.30

	Inflammatory bowel disease, 2005, Vol. 11, no. 6, pp. 533-540.		
12	French, A. L., Evans, C. T., Agniel, D. M. et al. Microbial translocation and liver disease progression in women coinfecting with HIV and hepatitis C virus. <i>The Journal Infectious Diseases</i> , 2013, Vol. 208, no. 4, pp. 679-689.	-	https://doi.org/10.1093/infdis/jit225
13	Jia, K., Shen, J. Transcriptome-wide association studies associated with Crohn's disease: challenges and perspectives. <i>Cell & Bioscience</i> , 2024, Vol. 14, no. 1, article 29.	-	https://doi.org/10.1186/s13578-024-01204-w
14	Jiminez, J. A., Uwiera, T. C., Inglis, G. D., Uwiera, R. R. E. Animal models to study acute and chronic intestinal inflammation in mammals. <i>Gut Pathogens</i> , 2015, Vol. 7, article 29.	-	https://doi.org/doi:10.1186/s13099-015-0076-y
15	Kamada, N., Seo, S. U., Chen, G. Y. et al. Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease. <i>Nature Reviews Immunology</i> , 2013, Vol. 13, no. 5, pp. 321-335.	-	https://doi.org/10.1038/nri3430
16	Katsandegwaza, B., Horsnell, W., Smith, K. Inflammatory bowel disease: A review of pre-clinical murine models of human disease. <i>International Journal</i>	-	https://doi.org/10.3390/ijms23169344

	of Molecular Sciences, 2022, Vol. 23, no. 16, article 9344.		
17	Kawada, M., Arihiro, A., Mizoguchi, E. Insights from advances in research of chemically induced experimental models of human inflammatory bowel disease. World Journal of Gastroenterology, 2007, Vol. 13, no. 42, pp. 5581-5593.	-	https://doi.org/10.3748/wjg.v13.i42.5581
18	Kofla-Dhubacz, A., Pytrus, T., Akutko, K. et al. Etiology of IBD-Is it still a mystery? International Journal of Molecular Sciences, 2022, Vol. 23, no. 20, article 12445.	-	https://doi.org/10.3390/ijms232012445
19	Kristoff, J., Haret-Richter, G., Ma, D. et al. Early microbial translocation blockade reduces SIV-mediated inflammation and viral replication. Journal of Clinical Investigation, 2014, Vol. 124, pp. 2802-2806.	-	https://doi.org/10.1172/JCI75090
20	Lee, S. K., Choi, B. K., Kim, Y. H. et al. Glucocorticoid-induced tumour necrosis factor receptor family-related receptor signalling exacerbates hapten-induced colitis by CD4+ T cells. Immunology, 2006, Vol. 119, pp. 479-487.	-	https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2006.02459.x

21	Li, W., Ma, Z. S. A theoretic approach to the mode of gut microbiome translocation in SIV-infected Asian macaques. FEMS Microbiology Ecology, 2020, vol. 96, no. 8, article fiaa134.	-	https://doi.org/10.1093/femsec/fiaa134
22	Lu, Q., Yang, M. F., Liang, Y. J. et al. Immunology of inflammatory bowel disease: Molecular mechanisms and therapeutics. Journal of Inflammation Research, 2022, Vol. 15, pp. 1825-1844.	-	https://doi.org/10.2147/JIR.S353038
23	McDowell, C., Farooq, U., Haseeb, M. Inflammatory bowel disease, 2025, StatPearls Publishing. [Online]. Available at:	-	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470312/ (accessed 01.02.2025).
24	Miller, S. I., Ernst, R. K., Bader, M. W. LPS.TLR4 and infectious disease diversity. Natural Reviews Microbiology, 2005, Vol. 3, no. 1, pp. 36-46.	-	https://doi.org/10.1038/nrmicro1068
25	Miyake, K. Roles for accessory molecules in microbial recognition by Toll-like receptors. Journal of Endotoxin Research, 2006, Vol. 12, no. 4, pp. 195-204.	-	https://doi.org/10.1179/096805106X118807
26	Mizoguchi, E., Mizoguchi, A., Takedatsu, H. et al. Role of tumor	-	https://doi.org/10.1053/gast.2002.30347

	necrosis factor receptor 2 (TNFR2) in colonic epithelial hyperplasia and chronic intestinal inflammation in mice. <i>Gastroenterology</i> , 2002, Vol. 122, pp. 134-144.		
27	M'Koma, A. E. Inflammatory bowel disease: Clinical diagnosis and surgical treatment-overview. <i>Medicina</i> , 2022, Vol. 58, no. 5, article 567.	-	https://doi.org/10.3390/medicina58050567
28	Neurath, M. F. Strategies for targeting cytokines in inflammatory bowel disease. <i>Nature reviews. Immunology</i> , 2024, Vol. 24, pp. 559–576.	-	https://doi.org/10.1038/s41577-024-01008-6
29	Papoff, P., Ceccarelli, G., d'Ettoire, G. et al. Gut microbial translocation in critically ill children and effects of supplementation with pre- and probiotics. <i>International Journal of Microbiology</i> , 2012, Vol. 2012, article 151393.	-	https://doi.org/10.1155/2012/151393
30	Ramos, G. P., Papadakis, K. A. Mechanisms of disease: Inflammatory bowel diseases. <i>Mayo Clinic Proceedings</i> , 2019, Vol. 94, no. 1, pp. 155-165.	-	https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2018.09.013
31	Saez, A., Herrero-Fernandez, B., Gomez-Bris, R. et al. Pathophysiology	-	https://doi.org/10.3390/ijms24021526

	of Inflammatory bowel disease: Innate immune system. International Journal of Molecular Sciences, 2023, Vol. 24, no. 2, article 1526.		
32	Sandler, N. G., Wand, H., Roque, A. et al. Plasma levels of soluble CD14 independently predict mortality in HIV infection. The Journal of Infectious Disease, 2011, Vol. 203, no. 6, pp. 780-790.	-	https://doi.org/10.1093/infdis/jiq118
33	Santucci, L., Agostini, M., Bruscoli, S. et al. GITR modulates innate and adaptive mucosal immunity during the development of experimental colitis in mice. Gut, 2007, Vol. 56, no. 1, pp. 52-60.	-	https://doi.org/10.1136/gut.2006.091181
34	Shimizu, J., Yamazaki, S., Takahashi, T. et al. (2002) Stimulation of CD25(+) CD4(+) regulatory T cells through GITR breaks immunological self-tolerance. Nature Immunology, Vol. 3, no. 2, pp. 135-142.	-	https://doi.org/10.1038/ni759
35	Stevceva, L., Pavli, P., Husband, A. et al. Dextran sulphate sodium- induced colitis is ameliorated in interleukin 4 deficient mice. Genes and immunity, 2001, Vol. 2, no. 6, pp. 309-316.	-	https://doi.org/10.1038/sj.gene.6363782

36	Suzuki, A., Hanada, T., Mitsuyama, K. et al. CIS3/SOCS3/SSI3 plays a negative regulatory role in STAT3 activation and intestinal inflammation. <i>The Journal of experimental medicine</i> , 2001, Vol. 193, no. 4, pp. 471-481.	-	https://doi.org/10.1084/jem.193.4.471
37	Tabas, I., Glass, C. K. Anti-inflammatory therapy in chronic disease: challenges and opportunities. <i>Science</i> , 2013, Vol. 339 (6116), pp. 166-172.	-	https://doi.org/10.1126/science.1230720
38	Takahashi, N., Kitazawa, C., Itani, Y. et al. Exploratory clinical characterization of experimentally-induced ulcerative colitis nonhuman primates. <i>Heliyon</i> , 2020, Vol. 6, no. 1, article e03178.	-	https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03178
39	Vakhitov, T. Ya., Kudryavtsev, I. V., Sall', T. S. et al. Subpopulyatsii T-khelperov, klyuchevye tsitokiny i khemokiny v patogeneze vospalitel'nykh zabolevanij kishechnika [T helper subpopulations, key cytokines, and chemokines in the pathogenesis of inflammatory bowel disease]. <i>Voprosy prakticheskoy pediatrii</i> , 2021, Vol. 16, no. 1, pp. 41–		https://doi.org/10.20953/1817-7646-2021-41-51

	51. https://doi.org/10.20953/1817-7646-2021-41-51		
40	Verstrepen, B. E., Nieuwenhuis, I. G., Mooij, P. et al. Role of microbial translocation in soluble CD14 up-regulation in HIV-, but not in HCV-, infected chimpanzees. The Journal of general virology, 2016, Vol. 97, pp. 2599-2607.		https://doi.org/10.1099/jgv.0.000577
41	Yang, C., Merlin, D. Unveiling Colitis: A Journey through the Dextran Sodium Sulfate-induced Model. Inflammatory bowel diseases, 2024, Vol. 30, no. 5, pp. 844-853.		https://doi.org/10.1093/ibd/izad312