РОССИЙСКИЙ ПАРАЗИТОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
RUSSIAN JOURNAL OF PARASITOLOGY
Том 36
Выпуск 2/2016

БИОХИМИЯ, БИОТЕХНОЛОГИЯ И ДИАГНОСТИКА

Поступила в редакцию: 07.02.2016
Принята в печать: 04.05.2016
УДК: 571.27
DOI: 10.12737/20063

Для цитирования:
Гришина Е.А., Довгалев А.С. Некоторые механизмы вторичной иммуносупрессии в процессе хронизации геогельминтозов // Российский паразитологический журнал. — М., 2016. — Т. 36. — Вып. 2 . — С. 202–209.

For citation:
Grishina E.A., Dovgalev A.S. Certain mechanisms of secondary immunosuppression under chronisation of geohelminthiasis. Russian Journal of Parasitology, 2016, V. 36, Iss. 2, pp. 202–209.

НЕКОТОРЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВТОРИЧНОЙ ИММУНОСУПРЕССИИ В ПРОЦЕССЕ ХРОНИЗАЦИИ ГЕОГЕЛЬМИНТОЗОВ

Гришина Е.А., Довгалев А.С.
ГБОУ ДПО Российская медицинская академия последипломного образования Минздрава России, 125993, г. Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, стр. 1, e-mail: gelana2010@yandex.ru

Реферат

Целью настоящего исследования было установление возможной связи между апоптозом иммунокомпетентных клеток, динамикой изменений в лейкоцитарной формуле периферической крови мышей, зараженных сифациозом, и развитием иммунодепрессии в ходе хронизации гельминтозного процесса.

Точные механизмы развития вторичной паразитогенной иммуносупрессии до сих пор не выяснены. Еще меньше изучен вопрос о способности антигенов гельминтов вызывать апоптоз в иммунокомпетентных клетках млекопитающих в процессе инвазии.

Материалы и методы. В эксперименте использовались 85 белых мышей со средним весом тела 18-20 г., подразделенные на следующие экспериментальные группы: 1) интактные животные (контрольная группа); 2) животные, зараженные *Syphacia obvelata (Rudolphi, 1802), Seurat,1916* из п/о *Oxiurata.*

В течение эксперимента мышей декапитировали через 1, 2, 3 и 6, 7, 8 недель после заражения под рауш-наркозом и брали кровь из хвостовой вены. Мазки крови окрашивали по Романовскому-Гимза и в них определяли лейкоцитарную формулу, а также подсчитывали количество нейтрофилов и лимфоцитов с морфологическими признаками апоптоза разной степени методом световой микроскопии. Лимфоциты выделяли разделением в градиенте плотности фиколл — верографин и затем в камере Горяева подсчитывали их общую концентрацию и доводили ее средой до концентрации $2x10^6$ в 1 мл.

Полученные данные были статистически обработаны с использованием программ STATISTICA (версия 8.0 для Windows) и SPSS (версия 11.0).

Результаты и обсуждение. Гельминтоз в острой стадии (1, 2, 3 нед.) способствовал формированию эозинофилии и снижению количества гетерофилов и лимфоцитов, существенно не изменив процентное содержание других форм лейкоцитов. В мазках крови с морфологическими признаками апоптозав небольшом количестве наблюдались только гетерофилы и лимфоциты, как и у контрольной группы.

Таким образом, установлено, что в острой стадии инвазии происходит активизация клеточного иммунитета, выраженная в основном в форме эозинофилии и свидетельствующая о развитии гиперчувствительности.

© Самойловская Н.А. © Муравьева А.А. © Samoylovskaya N. © Muravieva L.

При развитии гельминтозного процесса (сифациоза мышей) на протяжении 8 недель и перехода в хроническую стадию повышается активность апоптоза лейкоцитов крови мышей, и это, по-видимому, является существенным звеном патогенеза гельминтозов в целом, и развивающейся иммунодепрессии — в частности. Наиболее важная роль принадлежит апоптозу в функционировании таких иммуно-компетентных клеток, как лимфоциты и гетерофилы.

Ключевые слова: гельминтозы, иммуносупрессия, иммунокомпетентные клетки, апоптоз.

Введение

В результате многочисленных исследований уже выявлены некоторыеособенности иммунитета при гельминтозах, главным индуцирующим фактором которых можно считать способность гельминтов «держать под контролем» иммунитет хозяина. Эта способность сформировалась в процессе их длительной совместной эволюции и адаптации и необходима гельминтам для защиты от факторов иммунитета хозяина, что обеспечивает первым возможность длительного паразитирования в организме хозяина и активную репродуктивную функцию, а вторым нужна для сохранения жизни и регуляции численности паразитов.

Основным патологическим фактором при гельминтозах принято считать сенсибилизацию организма хозяина огромным пулом антигенов гельминтов. При контакте с личинками паразита, являющимися сильными иммуногенами, происходит образование антител, которые обратимо адсорбируются на тучных клетках и базофилах. При взаимодействии с антигеном эти клетки выделяют медиаторы иммунного ответа, способные активировать эозинофилы, предназначенные для разрушения паразитов. Количество антигена, которое требуется для этого, чрезвычайно мало. При инвазии же в организм хозяина попадает большое количество антигена гельминтов, поэтому иммунный ответ становится патологическим и приводит уже на начальной стадии к развитию аллергических реакций. В процессе развития гельминтозного процесса и его хронизации реакции гиперчувствительности постепенно затухают, и на их фоне начинают развиваться процессы иммунодепрессии, приводящие к смене острой фазы гельминтоза на хроническую.

При хронизации большинства гельминтозов аллергические проявления, уровень эозинофилов периферической крови, а также титры специфических антител значительно снижаются. Исключение составляют случаи неспецифических инвазий, супер-инвазий и реинвазий, особенно при тканевых гельминтозах.

Развивающаяся при хронизации гельминтозов паразитогенная иммунодепрессия может возникать в различных звеньях системы иммунитета: лимфоцитарном, макрофагальном, гранулоцитарном, комплементном и др. Общий механизм формирования вторичных иммунодефицитов, по-видимому, заключается чаще в репрессии, подавлении функциональной активности группы генов иммунных клеток, в нарушении естественно существующих межклеточных и межмолекулярных взаимодействий между рецепторами клеток и циркулирующими иммуноглобулинами, цитокинами, молекулами адгезии и др. под влиянием различных патогенных агентов. Более точных выводов о механизмах развития вторичной паразитогенной иммунодепрессии в мировой литературе нет.

Паразитогенная иммунодепрессия, действуя ингибирующе на обменные процессы, ферментативную активность в организме хозяина, способствует развитиюу него дисбаланса иммунологических показателей, количественных и функциональных изменений лимфоцитов периферической крови, нарушений нормальных соотношений клеточных субпопуляций, дисгамма- и дисиммуноглобулинемий, что служит основой нарушения иммунологической реактивности. Все это свидетельствует о снижении резистентности организма и развитии иммунной недостаточности и согласуется с имеющимися данными о развитии иммунной депрессии при большинстве гельминтозов [5, 6, 7, 8, 9,12].

Вопрос о способности метаболитов гельминтов вызывать апоптоз клеток млекопитающих в процессе инвазии изучен крайне недостаточно. При проведении щелочного гель-электрофореза единичных клеток в костном мозге и семенниках мышей-самцов, инвазированных карликовыми цепнями, личинками токсокар, трихинеллами впервые было установлено, что метаболиты паразитов обладают цитотоксическим воздействием как на

© Самойловская Н.А. © Муравьева Л.А. © Samoylovskaya N. © Muravieva L.

соматические, так и на генеративные клетки хозяина, обусловливая рост апоптотических клеток [1, 2, 11, 13]. При гименолепидозе, миграционном аскаридозе, токсокарозе и трихинеллезе было отмечено [13] снижение активности сперматогенеза за счет пониженного выхода сперматозоидов в придатки у зараженных мышей, вызванное цитотоксическим воздействием на конечную стадию сперматогенеза животных [3]. Белковые соматические продуктыиз тканей карликовых цепней, токсокар и секреторно-экскреторно-соматические продукты личинок трихинелл обладают цитоксическим действием на лимфоциты крови доноров, вызывая invitro рост апоптотических клеток [4].

Целью настоящего исследования было установление возможной связи между апоптозом иммунокомпетентных клеток, динамикой изменений в лейкоцитарной формуле периферической крови мышей, зараженных сифациозом, и развитием иммунодепрессии в ходе хронизациигельминтозного процесса.

Материалы и методы

В эксперименте использовались 85 белых мышей со средним весом тела 18-20 г. Мыши содержались в стандартных условиях вивария Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина. Животные были подразделены на следующие экспериментальные группы:

1. Интактные животные (контрольная группа).
2. Животные, зараженные *Syphacia obvelata* (*Rudolphi*, 1802), Seurat,1916 из п/о *Oxiurata*.

В течение эксперимента мышей декапитировали через 1,2, 3 и 6,7,8 недель после заражения под рауш-наркозом. Материалом для приготовления мазков служила кровь из хвостовой вены. Мазки крови окрашивали по Романовскому-Гимза. В мазках крови определяли лейкоцитарную формулу на основании дифференциального подсчета. В тех же мазках подсчитывали количество нейтрофилов и лимфоцитов с признаками апоптоза разной степени.

Лейкоциты служат удобной моделью для исследования механизмов гибели клеток при действии разнонаправленных факторов, так как они легко подвергаются апоптозу. Характерные для апоптоза морфологические изменения лейкоцитов в мазках крови (уменьшение размеров клетки, вакуолизация, уменьшение ядра с конденсацией и грануляцией хроматина по периферии), оценивали методом световой микроскопии с помощью микроскопа МИКМЕД –2.

Лимфоциты выделяли разделением в градиенте плотности фиколл — верографин (плотность 1,007 г/мл), и затем в камере Горяева подсчитывали их общую концентрацию и доводили ее средой до концентрации $2x10^6$ в 1 мл.

Полученные данные были статистически обработаны с использованием критерия Стьюдента, а также с помощью программ STATISTICA (версия 8.0 для Windows) и SPSS (версия 11.0).

Результаты и обсуждение

В нормальных условиях у здоровых (интактных) животных лейкоцитарная формула довольно постоянна. Однако известно, что количественный и качественный состав крови очень чутко реагирует на изменение физических параметров и отражает общее состояние организма. В ходе опыта нами было изучено изменение лейкоцитарной формулы периферической крови в ходе развития гельминтозного процесса — сифациоза мышей на протяжении 8 недель. Анализ полученных экспериментальных данных явно свидетельствует о том, что при заражении животных геогельминтами в ходе развития инвазионного процесса произошли характерные изменения лейкоцитарной формулы периферической крови (табл. 1).

При заражении сифациозом в острой стадии резко возрастает общее количество лейкоцитов (от 9,51±0,338 до 14,86±0,238), и постепенно снижается в процессе хронизации (до 6,23±0,156). Изменилось и процентное соотношение в лейкоцитарной формуле: значительно увеличилось по сравнению с контролем число эозинофилов, палочкоядерных гетерофилов ($p<0.01$), лимфоцитов, моноцитов ($p<0.001$), и в меньшей степени – базофилов. Таким образом, гельминтоз в острой стадии (1, 2, 3 нед.) вызывал четко

© Самойловская Н.А. © Муравьева А.А. © Samoylovskaya N. © Muraveva L.

Таблица 1

Изменение лейкоцитарной формулы мышей после заражения сифациозом и в процессе его хронизации

Компоненты белой крови	Число лейкоцитов у контр. группы мышей M (*10^9/л) ± m,n= 15	Число лейкоцитов у мышей, зараженных сифачиозом в разные сроки (нед) развития инвазии M (*10^9/л) ±m,n = 70					
		1 нед n= 15	2 нед n= 15	3 нед n= 10	6 нед n= 10	7 нед n= 10	8 нед n= 10
Общее число лейкоцитов	9,51± 0,338	10,75± 0,336	12,54± 0,128	14,86± 0,238	11,34± 0,312	8,54± 0,243	6,23± 0,156
Базофилы	0,05± 0,001	0,11± 0,005	0,15± 0,006	0,10± 0,003	0,06± 0,001	0,08± 0,002	0,14± 0,005
	0,5 %	1,0%	1,2%	0,7%	0,5%	0,9%	2,2%
Эозинофилы	0,21± 0,008	0,89± 0,018	2,80± 0,086	5,67± 0,098	5,21± 0,087	4,78± 0,064	3,68± 0,031
	2,2 %	8,2%	22,3%	38,2%	45,9%	55,9%	59,0%
Моноциты	0,41± 0,012	0,89± 0,022	0,96± 0,038	0,64± 0,028	0,56± 0,015	0,53± 0,012	0,44± 0,007
	4,0 %	8,2%	7,6%	4,3%	4,9%	6,2%	7,0%
Гетерофилы палочкоядерные	0,22± 0,010	0,35± 0,018	0,34± 0,016	0,28± 0,020	0,31± 0,022	0,40± 0,019	0,26± 0,005
	2,0 %	3,2%	2,7%	1,9%	2,7%	4,7%	4,2%
Гетерофилы сегментоядерные	2,23± 0,067	2,21± 0,060	2,28± 0,048	2,02± 0,055	1,50± 0,045	1,23± 0,058	1,09± 0,035
	23,0 %	20,5%	18,2%	13,6%	13,2%	14,4%	17,5%
Общее число гетерофилов	2,40± 0,065	2,56± 0,054	2,48± 0,042	2,31± 0,038	1,85± 0,028	1,63± 0,021	1,24± 0,017
	25,0 %	23,6%	20,9%	15,5%	15,9%	19,1%	21,7%
Гетерофилы с признаками апоптоза	0,08± 0,001	0,12± 0,001	0,15± 0,002	0,29± 0,008	0,44± 0,010	0,53± 0,032	0,58± 0,028
	3,3%	4,7%	6,0%	12,6%	23,8%	32,5%	46,8%
Лимфоциты	6,50± 0,318	6,89± 0,438	8,45± 0,534	10,12± 0,521	8,23± 0,438	9,24± 0,308	11,35± 0,358
	68,0 %	64,1%	67,4%	68,1%	63,8%	73,1%	69,8%
Лимфоциты с признаками апоптоза	1,05± 0,038	1,26± 0,048	2,46± 0,058	4,37± 0,078	8,12± 0,054	8,68± 0,032	10,42± 0,086
	16,1%	18,3%	29,1%	43,2%	98,7%	93,9%	91,8%

All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin
117218, Russia, Moscow, Bolshaya Cheremushkinskaya str., 28
© Russian Journal of Parasitology

выраженный лейкоцитоз (контроль: эозинофилы — 0,21±0,008, базофилы — 0,05±0,001, палочкоядерные гетерофилы — 0,22±0,010, сегментоядерные гетерофилы — 2,23±0,067, лимфоциты — 6,50±0,318, моноциты — 0,41±0,012;сифациоз: эозинофилы — 5,67±0,098, базофилы — 0,15±0,006, палочкоядерные гетерофилы — 0,35±0,018, сегментоядерные гетерофилы — 2,28±0,048, лимфоциты — 10,12±0,521, моноциты — 0,96±0,038).Наиболее заметно гельминтоз способствовал формированию эозинофилии и снижению количества гетерофилов и лимфоцитов, существенно не изменив процентное содержание других форм лейкоцитов. В мазках крови с морфологическими признаками апоптоза наблюдались только нейтрофилы и лимфоциты. Нейтрофилы с признаками апоптоза имели округлую форму, но были меньшего размера, иногда в их цитоплазме выделялось несколько вакуолей. Изменения ядерного вещества выражалось в уменьшении размера ядра с одновременной конденсацией и грануляцией хроматина по периферии, что, по-видимому, обусловленонарушением связи ДНК с отдельными нуклеосомами и приводит к развитию большого количества фрагментов.

В лимфоцитах также наблюдалась выраженная фрагментация хроматина. Иногда можно было заметить образование вакуолей, что также свидетельствовало об усилении апоптоза этой группы клеток.

Апоптотические клетки выявлялись в небольшом количестве и в контрольной группе животных. Однако, под влиянием гельминтозного процесса происходит усиление апоптоза в сравнение с контролем (контроль: 0,08±0,001 — гетерофилы и 1,05±0,038 — лимфоциты; сифациоз: 0,58±0,028 — гетерофилы и 10,42±0,086 — лимфоциты). При этом повышение активности апоптозагетерофилов происходит с меньшей прогрессией, чем у лимфоцитов. Усиление апоптоза лейкоцитов (гетерофилов и лимфоцитов) при действии инвазии может быть связано с интенсификацией процессов пероксидного окисления липидов и увеличением содержания в крови его активных продуктов, вызывающих нарушение целостности мембран и развития признаков апоптоза [10], а также может происходить и по другим причинам, которые требуют дальнейшего исследования.

Заключение

Таким образом, нами установлено, что в начальной острой стадии инвазии происходит активизация клеточного иммунитета, выраженная в основном в форме эозинофилии и свидетельствующая о развитии гиперчувствительности.При этом развивается дисбаланс иммунологических показателей, выраженный в форме количественных и функциональных изменений среди моноцитов, гетерофилов (нейтрофилов) и лимфоцитов периферической крови, а также в форме нарушения нормальных соотношений других клеточных субпопуляций, что служит основой нарушения иммунологической реактивности.

Как показали исследования, при развитии гельминтозного процесса (сифациоза мышей) на протяжении 8 недель и перехода в хроническую стадию повышается активность апоптоза лейкоцитов крови мышей, и это, по-видимому,является существенным звеном патогенеза гельминтозов в целом, и развивающейся иммунодепрессии — в частности. Известно, что апоптоз играет важную роль в определении количественного и качественного состава клеток иммунной системы. При морфологической оценке состояния иммуно-компетентных клеток, характеризующих апоптоз, нами учитывались изменения ядра (пикноз, фрагментация и вакуолизация) и цитоплазмы (токсическая зернистость и вакуолизация), деструкция мембраны (цейозис) и уменьшение размера клеток [10], а также ломка цитоскелета, конденсация цитоплазмы с сохраненными органеллами, ядрышковая сегрегация, карио-пикноз и карио-рексис, образование фагоцитируемых апоптозных тел и др.

Как показал наш эксперимент, наиболее важная роль принадлежит апоптозу в функционировании таких иммуно-компетентных клеток, как гетерофилы и, в еще большей степени, — лимфоцитов.

Известно, что лимфоциты имеют ограниченное время жизни и погибают по механизму апоптоза, «отработав» свою программу. Об этом свидетельствует определенный процент апоптирующих лимфоцитов в норме у контрольной группы животных. В таких лимфоцитах снижается экспрессия генов, защищающих лимфоцит от апоптоза на время иммуногенеза, но экспрессируются индуцирующие апоптоз рецепторы, а именно: молекула Fas (CD95),

© Самойловская Н.А. © Муравьева А.А. © Samoylovskaya N. © Muravieva L.

рецепторы для глюкокортикоидов и α-ФНО [10]. Следовательно, глюкокортикоидные гормоны, α-ФНО и FasL в определённое время от начала развития иммунного ответа могут стать факторами физиологической иммуносупрессии за счет индукции апоптоза лимфоцитов и других лейкоцитов.

Паразитогенная иммуносупрессия при хронизации гельминтозного процесса индуцируется, по-видимому, ещё и дополнительными факторами, такими как продукты метаболизма гельминтов, значительно активирующими апоптоз лимфоцитов. Индукторами программируемой клеточной гибели при этом могут служить паразитарные эндо- и экзотоксины. Как показал эксперимент, гибель гетерофилов и лимфоцитов путём апоптоза находится в положительной корреляции с быстрой прогрессией иммунодепрессии при хронизации гельминтозов.

Литература

1. Бекиш В.Я., Коневалова Н.Ю., Бекиш О.-Я.Л. Метаболиты гельминтов как индукторы апоптоза клеток хозяина // Вестник ВГМУ.- Инфекционные и паразитарные болезни. — 2005, — Т. 4, № 2, — С.80-85.

2. Бекиш В.Я. Повреждения ДНК клеток костного мозга и семенников при экспериментальном гименолепидозе // Вестник ВГМУ. — 2004. — Т. 3, № 3. — С. 74-81.

3. Бекиш В.Я., Дурнев А.Д. Генотоксическое и цитотоксическое воздействия метаболитов личинок токсокар на соматические и генеративные клетки хозяина // Вестник ВГМУ. — 2004. — Т. 3, № 4. — С. 85-89.

4. Бекиш В.Я., Дурнев А.Д. Повреждения ДНК клеток костного мозга и семенников мышей при экспериментальном трихинеллезе // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2004. — Т. 138, № 9. — С. 320-323.

5. Копанев Ю.А. Клинико-микробиологические особенности современного течения аскаридоза и энтеробиоза у детей: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: 03.00.07, 14.00.09. / Российская медицинская академия последипломного образования. — М., 2001. — 27 с.

6. Москалец О.В., Палеев Ф.Н., Котова А.А., Наумова Т.Е. и др. Патогенез синдрома вторичной иммунной недостаточности и подходы к его лечению // Клиническая медицина. — 2002. — Т. 80, № 11. — С. 18-23.

7. Озерецковская Н.Н. Органная патология в острой стадии тканевых гельминтозов: роль эозинофилии крови и тканей, иммуноглобулинемии Е, G4 и факторов, индуцирующих иммунный ответ // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. — 2000. — № 3. — С. 3-8.

8. Озерецковская Н.Н. Органная патология в хронической стадии тканевых гельминтозов: роль эозинофилии крови и тканей, иммуноглобулинемии Е, G4 и факторов, индуцирующих иммунный ответ. // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. — 2000. — № 4. — С. 9-14.

9. Озерецковская Н.Н. Эозинофилия крови и иммуноглобулинемия Е: особенности регуляции при гельминтозах и аллергических болезнях // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. — 1997. — № 2. — С. 3-9.

10. Рябыкина Н.В. Исследование апоптоза клеток белой крови и изменение лейкоцитарной формулы у старых самцов мышей при действии гипогидратационного стресса и α– токоферолацетата. // Молодой ученый. — 2010. — № 12. Т. 1. — С. 57-59.

11. Сергиев В.П., Филатов Н.Н. Инфекционные болезни на рубеже веков. Осознание биологической угрозы. М.: Наука, 2006. 572 с.

12. Чудная Л.М., Оксиюк В.Г., Шехтер А.Г. и др. Уровень поствакцинального иммунитета к дифтерии, столбняку и полиомиелиту в зависимости от кратности прививок // Журнал микробиологии, эпидемиологии, иммунологии. — 1991. — № 1. — С. 46-49.

13. Wilson M.S., Taylor M.D., Balic A., Finney C.A.M., Lamb J.R., Maizels R.M., Suppression of allergic airway inflammation by helminth-induced regulatory T cells. JEM. 2005. V. 202. P. 1199-1212.

References

1. Bekish V.Ja., Konevalova N.Ju., Bekish O.-Ja.L. Metabolity gel'mintov kak induktory apoptozakletokhozjaina [Metabolites helminths as inducers of apoptosis of host cells] // *Vestnik VGMU. — Infekcionnyei Parazitarnye Bolezni. — 2005, — T. 4, № 2, — P. 80-85.*

2. Bekish V.Ja. Povrezhdenija DNK kletok kostnogo mozga i semennikov pri jeksperimental'nom gimenolepidoze [Damage to the DNA of bone marrow cells and the testes during experimental hymenolepiasis] // *Vestnik VGMU. — 2004. — T. 3, № 3. — P. 74-81.*

3. Bekish V.Ja., Durnev A.D. Genotoksicheskoe i citotoksicheskoe vozdejstvija metabolitov lichinok

© Самойловская Н.А. © Муравьева Л.А. © Samoylovskaya N. © Muravieva L.

toksokarnasomaticheskie i generativnye kletkihozjaina [Genotoxic and cytotoxic effects of metabolites toxocara larvae somatic and generative host cell] // *Vestnik VGMU. — 2004. — T. 3, № 4. — P. 85-89.*

4. Bekish V.Ja., Durnev A.D. Povrezhdenija DNK kletok kostnogo mozga i semennikov myshej pri jeksperimental'nom trihinelleze [DNA damage and bone marrow cells in experimental mice testes trichinosis] // *Bjulleten' Jeksperimental'noj Biologiii Mediciny. — 2004. — T. 138, № 9. — P. 320-323.*

5. Kopanev Ju.A. Kliniko-mikrobiologicheskie osobennosti sovremennogo techenija askaridozai jenterobioza u detej. [Clinical and microbiological features of the modern flow of ascariasis and enterobiosis children]. *Sinopsis. dis. ... PhD: 03.00.07, 14.00.09 / Rossijskaja Medicinskaja Akademija Poslediplomnogo Obrazovanija. — M., 2001. — 27 p.*

6. Moskalec O.V., Paleev F.N., Kotova A.A., Naumova T.E. I dr. Patogenez sindroma vtorichnoj immunnoj nedostatochnosti i podhody k ego lecheniju [Pathogenesis of secondary immune deficiency syndrome and the approaches to its treatment] // *Klinicheskaja Medicina. — 2002. — T. 80, № 11. — P. 18-23.*

7. Ozereckovskaja N.N. Organnaja patologija v ostrojstadiitkanevyh gel'mintozov: rol' jeozinofiliikrovii tkanej, immunoglobuline mii E, G4 i faktorov, induciruju shhihimmunnyj otvet [Organ pathology in the acute phase of tissue helminth infections: role of eosinophils in blood and tissues, immunoglobulinemii E, the G4 and the factors that induce an immune response] // *Medicinskaja Parazitologijai Parazitarnye Bolezni. — 2000. — № 3. — P. 3-8.*

8. Ozereckovskaja N.N. Organnaja patologija v hronicheskoj stadiitkanevyh gel'mintozov: rol' jeozinofiliikrovii tkanej, immunoglobuline mii E, G4 i faktorov, inducirujushhihimmunnyj otvet [Organ pathology in the chronic phase of tissue helminth infections: role of eosinophils in blood and tissues, immunoglobuline mii E, the G4 and the factors that induce an immune response] // *Medicinskaja Parazitologijai Parazitarnye Bolezni. — 2000. — № 4. — P. 9-14.*

9. Ozereckovskaja N.N. Jeozinofilijakrovii immunoglobulinemija E: osobennosti reguljacii pri gel'mintozahiallergicheskih boleznjah [Eosinophilia of blood and immunoglobulinemiya E: particularly helminths and regulation in allergic diseases] *// Medicinskaja Parazitologijai Parazitarnye Bolezni. — 1997. — № 2. — P. 3-9.*

10. Rjabykina N.V. Issledovanie apoptozakletokbeloj kroviiizmenenielej kocitarnoj formuly u staryh samcovmyshej pri dejstvii gipogidratacionnogo stressa i α– tokoferolacetata [The study of apoptosis of white blood cells and changes in leukocyte counts in older male mice under the influence of stress and gipogidratatsionnogo α- tocopherol] // *Molodoj Uchenyj. — 2010. — №12. T.1. — P. 57-59.*

11. Sergiev V.P., Filatov N.N. Infekcionnye bolezni na rubezhe vekov. Osoznanie biologicheskoj ugrozy. [*Infectious diseases at the turn of the century. Awareness of biological threats.*]. *M.: Nauka, 2006. 572 p.*

12. Chudnaja L.M., Oksijuk V.G., Shehter A.G. idr. Uroven' postvakcinal'nogo immuniteta k difterii, stolbnjaku i poliomielitu v zavisimosti ot kratnosti privivok [The level of post-vaccination immunity to diphtheria, tetanus and polio, depending on the multiplicity of vaccinations] // *Zhurnal Mikrobiologii, Jepidemiologii, Immunologii. — 1991. — № 1. — p. 46-49.*

13. Wilson M.S., Taylor M.D., Balic A., Finney C.A.M., Lamb J.R., Maizels R.M. Suppression of allergic airway inflammation by helminth-induced regulatory T cells. *JEM. 2005. V. 202. P. 1199-1212.*

© Самойловская Н.А. © Муравьева А.А. © Samoylovskaya N. © Muravieva L.

DOI: 10.12737/20063
Received: 07.02.2016
Accepted: 04.05.2016

CERTAIN MECHANISMS OF SECONDARY IMMUNOSUPPRESSION UNDER CHRONISATION OF GEOHELMINTHIASIS

Grishina E.A., Dovgalev A.S.
Research Center, Medical Academy of Postgraduate Education, Ministry of Healthcare, Moscow, Russia, 125993 Moscow, Barricadnaya street 2/1, building 1, e-mail: gelana2010@yandex.ru

Abstract

The exact mechanisms of secondary immunosuppression caused by parasite infection has not yet been clarified. Even less explored is the ability of helminths antigens to induce apoptosis in immuno-competent mammalian cells during the invasion. The aim of this study was to establish the possible relationship between the immuno-competent cells apoptosis, the dynamics of changes in the leucocyte count of peripheral blood and development of immunosuppression during chronization of helminthosis in mice infected with *Syphaciaobvelata*.

Materials and methods. Eighty five albino mice with a mean body weight of 18-20 g were used in the experiment. Animals were divided into the following experimental groups: 1) intact animals (control group); 2) animals infected *Syphaciaobvelata* (*Rudolphi*, 1802), Seurat, from 1916 n / a *Oxiurata*.

Mice were decapitated after 1, 2, 3, 6, 7, 8 weeks after infection by raush-anesthesia and blood was collected from the tail vein. Blood smears were stained with Giemsa-Romanovsky method. Light microscopy was used to determine leukocyte formula, and to count the number of neutrophils and lymphocytes with morphological signs of varying degrees of apoptosis.

Lymphocytes were isolated by Ficoll — verografin density gradient separation, their total concentration was counted in Goryaev camera and adjusted with medium to 2 x106/ml. The obtained data were statistically processed using STATISTICA software (version 8.0 for Windows) and the SPSS (version 11.0).

Results and discussion. Helminthiases in the acute stage (1, 2, 3 weeks) promoted eosinophilia formation and reduction of geterofilov and lymphocytes number, while did not change significantly the percentage of other forms of white blood cells. In blood smears morphological features of apoptosis were observed in a small amount in geterofily lymphocytes.

Thus, it was found that in the acute stage of infection the activation of cellular immunity occures, expressed mainly in the form of eosinophilia and indicating the development of hypersensitivity.

During the 8 weeks development of helmithasis (mice syphaciosis) and its conversion into chronic stage the activity of leukocytes apoptosis increased. This is apparently an essential link in the pathogenesis of helminthiasis in general and developing immunosuppression in particular. The most important role belong to the apoptosis of immuno- competent cells such as lymphocytes and geterophyls.

Keywords: helminthosis, immunosuppression, immune-competent cells, apoptosis.

© 2016 The Author(s). Published by All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin. This is an open access article under the Agreement of 02.07.2014 (Russian Science Citation Index (RSCI) http://elibrary.ru/projects/citation/cit_index.asp) and the Agreement of 12.06.2014 (CA-BI.org/Human Sciences section: http://www.cabi.org/Uploads/CABI/publishing/fulltext-products/cabi-fulltext-material-from-journals-by-subject-area.pdf)