Харшлын загвар үүсгэсэн C57BL/6 хулганы ийлдсэнд IL-4, IFN-γ цитокины агууламжийг in-house ФХЭБУ-ын аргаар тодорхойлсон судалгаа

М.Дөлгөөнөө[1], Г.Ням-Очир[1,2], Ч.Оюун-Эрдэнэ[1], Б.Ариунзаяа[1], С.Цогтсайхан[1], Г.Энхтүшиг[1], Т.Хүсэлт-Од[1], С.Энхтуяа[1], Л.Сарантуяа[1], О.Сувд[1], Д.Нямдорж[4], Г.Батбаатар[1], Ч.Гансүх[1], Л.Энхсайхан[1,3], Б.Энх-Амар[1]

[1]АШУҮИС, Био-АС, Дархлаа судлалын тэнхим
[2]АШУҮИС, СС, Анагаахын суурь шинжлэх ухааны тэнхим
[3]АШУҮИС, Био-Анагаахын хүрээлэн
[4]АШУҮИС, Био-АС, Анатомийн тэнхим
Цахим шуудан: enkhamar@mnums.edu.mn, Утас: 99144687

Түлхүүр үг:

I хэв шинжийн хэт мэдрэгшил
Овальбумин
Иммуноглобулин Е

Товч утга:

Үндэслэл: Бие махбодод антиген буюу гадны уураг нэвтрэх үед дархлаа тогтолцоо IgE хамааралтай хэт мэдрэг хариу урвал өрнүүлэхийг I хэв шинжийн хэт мэдрэгших урвал буюу харшлын урвал гэнэ. Харшлын үед Th2 эсээс ялгарах IL-4, IL-5, IL-9, IL-13 зэрэг цитокин нь эозинофил, шигүү мөхлөгт эс зэрэг дархлааны эффектор эсийг идэвхжүүлж, амьсгалын замын үрэвсэл, бөглөрөл зэрэгт гол үүрэгтэй оролцдог. Th1 эсээс ялгарах интерферон-гамма (IFN-γ) цитокин нь Th2 эсийг дарангуйлж харшлын урвалыг зохицуулахад чухал үүрэг гүйцэтгэдэг. Иймээс Th1 болон Th2 эсээс ялгарах цитокины тэнцвэрийг тодорхойлох, харшлын урвалын механизмыг гүнзгийрүүлэн судлахад чухал ач холбогдолтой зэрэг нь энэхүү судалгааны үндэслэл боллоо. **Зорилго:** Овальбуминаар харшил үүсгэсэн туршилтын амьтны ийлдсэнд in-house фермент холбоот эсрэгбиеийн урвал (ФХЭБУ)-ын шинжилгээний аргаар IL-4, IFN-γ цитокины агууламжийг тодорхойлох. **Арга, аргачлал:** Туршилтад 6-8 долоо хоногтой 20 эмэгчин C57BL/6 хулганыг сонгон авч хяналтын болон туршилтын бүлэг болгон хуваах, хулганы ийлдэст in-house ФХЭБУ-ын аргаар IL-4, IFN-γ цитокины агууламжийг тодорхойлсон. **Үр дүн:** Хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад харшлын загвар үүсгэсэн C57BL/6 туршилтын бүлгийн хулганад IL-4 цитокины агууламж 513.7 пг/мл, IFN-γ цитокины агууламж 193.2 пг/мл тодорхойлогдсон. Хулганы ийлдэс дэх IL-4 цитокины агууламжийг 2 бүлгийн хооронд харьцуулахад статистик ач холбогдол бүхий ялгаа ажиглагдсан ($p<0.001$). **Дүгнэлт:** Харшил үүсгэсэн бүлгийн ийлдсэн дэх IL-4 цитокины агууламж нэмэгдэж, IFN-γ цитокины агууламж буурсан нь Th2 чиглэлийн дархлааны хариу урвал давамгай өрнөж буйг илтгэж байна.

Үндэслэл: Харшил нь иммуноглобулин Е (IgE)-ээр нөхцөлддөг 1-р хэв шинжийн хэт мэдрэгших урвал юм. Харшлын өвчний тархалт сүүлийн жилүүдэд нэмэгдэж байгаа ба одоогоор дэлхийн хүн амын 30-40% нь харшлын өвчнөөр шаналж байгаа бөгөөд сүүлийн 60 жилд эрс нэмэгдэж, 2050 онд 4 тэрбум хүрнэ гэсэн тооцоолол гарсан байна.[1]

Харшлын өвчин нь Th2 эсийн дархлааны хариу урвалтай холбоотой байдаг ба Th2 эс нь IL-4, IL-5, IL-9, IL-13 зэрэг цитокиныг ялгаруулагч гол эс юм. Эдгээр цитокин нь эозинофил, шигүү мөхлөгт эс зэрэг дархлааны эффектор эсийг идэвхжүүлж, амьсгалын замын үрэвсэл, бөглөрөл зэрэг харшлын урвалд гол үүрэг гүйцэтгэдэг.[2]

Th1 эсийг өдөөж Th2 эсийг дарангуйлснаар астма, харшил гэх мэт Th2 эс хамааралт өвчнөөс хамгаалдаг болохыг олон судалгаагаар нотолсон байдаг.[3-6] Гамма интерферон (IFN-γ) нь Th1 эсээс ялгарах гол цитокин бөгөөд харшилтай холбоотой дархлааны хариу урвалыг зохицуулахад чухал үүрэг гүйцэтгэдэг ба хүнд хэлбэрийн астма нь IFN-γ-ийн түвшин буурсантай холбоотой байдаг.[7]

Хулганад амьсгалын замын харшил үүсэхэд интерлейкин IL-4, IL-5, IL-13 түвшин нэмэгдэх, IFN-γ, IL-2 буурах, амьсгалын замд эозинофилээр нөхцөлдсөн үрэвслийн хариу урвал үүсдэг. Хулганад өрнөж буй харшлын урвал хүний биед ажиглагдсан өөрчлөлттэй олон талаараа ижил төстэй байдаг ба харшлын эрт болон хожуу үеийн хариу урвалыг өрнүүлэх байдал адил тул харшлын эсрэг эм, био бэлдмэл, вакциныг туршихад хулганыг голлон ашигладаг байна.[8-10] Тиймээс туршилтын загвар дээр Th1 болон Th2 эсээс ялгарах цитокины тэнцвэрт байдлыг тодорхойлох нь харшлын урвалын механизмыг гүнзгийрүүлэн судлах, эмчилгээний шинэ арга замыг хөгжүүлэхэд онолын болон практикийн өндөр ач холбогдолтой нь энэхүү судалгааны үндэслэл боллоо.

Зорилго: Овальбуминаар харшил үүсгэсэн C57BL/6 хулганы ийлдсэнд IL-4, IFN-γ цитокины агууламжийг тодорхойлох

Арга, аргачлал: Энэхүү судалгааг туршилт судалгааны загварыг ашиглан АШУҮИС-ийн Био-Анагаахын сургуулийн Дархлаа судлалын тэнхимийн дэргэдэх "Эмнэлзүйн эмгэг судлалын лаборатори", АШУҮИС-ийн Био-Анагаахын хүрээлэнгийн Иммуно-биологийн лаборатори, Тархи судлалын лабораторийг түшиглэн хийж гүйцэтгэсэн.

АШУҮИС-ийн Био-Анагаахын хүрээлэнгийн "Туршилтын амьтны төв"-д үржүүлсэн 6-8 долоо хоногтой, 20 эмэгчин C57BL/6 хулганыг туршилтад ашигласан. Судалгааг туршилтын хулганад харшил үүсгэх, хулганы ийлдэст цитокины агууламжийг тодорхойлох гэсэн 2 үе шатаар хийж гүйцэтгэв.

C57BL/6 хулганыг тогтмол (22±3°C) температуртай өрөөнд байрлуулж, ус болон тэжээлээр ханган хоногийн 12 цаг гэрэлтэй, 12 цаг харанхуй мөчлөгт дасгасан. Туршилтын амьтдыг хяналтын болон туршилтын (OVA) гэсэн 2 бүлэг болгон хуваасан. Хулганы аллергенээр мэдрэгшүүлсэн болон хамрын хөндийд аллергенээр үйлчилсэн туршилтыг Ким нарын судлаачдын протоколыг ашиглан хийж гүйцэтгэсэн.[11,12] Хулганыг судалгаанд ашиглахдаа лабораторийн амьтныг туршилтад ашиглах ёс зүйн хэм хэмжээг чанд баримталсан.

А. Аллергенээр мэдрэгшүүлсэн аргачлал: Туршилтын 1; 7 болон 14 дахь өдөрт био-аюулгүй ажиллагааны дүрмийг баримтлан аллергенийг хулганы хэвлийн хөндийд тарилт хийж мэдрэгшүүлэв.

1. Хяналтын бүлгийн хулганад 0.9%-ийн NaCl 200 мкл уусмал хэвлийн хөндийд тарив.
2. Туршилтын бүлгийн хулганад овальбумин болон хөнгөнцагааны гидроксидын холимгийг агуулсан 200 мкл уусмал хэвлийн хөндийд тарьж мэдрэгшүүлсэн.

В. Хамрын хөндийд аллергенээр үйлчилсэн аргачлал: Хяналтын болон туршилтын бүлгийн хулганад туршилтын 21, 28 болон 35-43 дахь өдрүүдэд уг туршилтыг аюулгүй ажиллагааны дүрмийг баримтлан хийж гүйцэтгэв.

1. Хяналтын бүлгийн хулганад 0.9%-ийн NaCl 50 мкл хэмжээтэй уусмалыг хамарт дусаав.
2. Туршилтын бүлгийн хулганад 50 мкг овальбумин агуулсан 50 мкл хэмжээтэй уусмалыг хамарт дусаав.

С. Туршилтын дараах хяналт: Хулганы биеийн жинг 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42 дахь өдөрт хэмжив. Туршилтын 44 дахь өдөр буюу төгсгөлийн туршилтаас 24 цагийн дараа изофлюраныг ашиглаж хулганыг унтуулж, шинжилгээнд зориулан сорьц цуглуулсан.

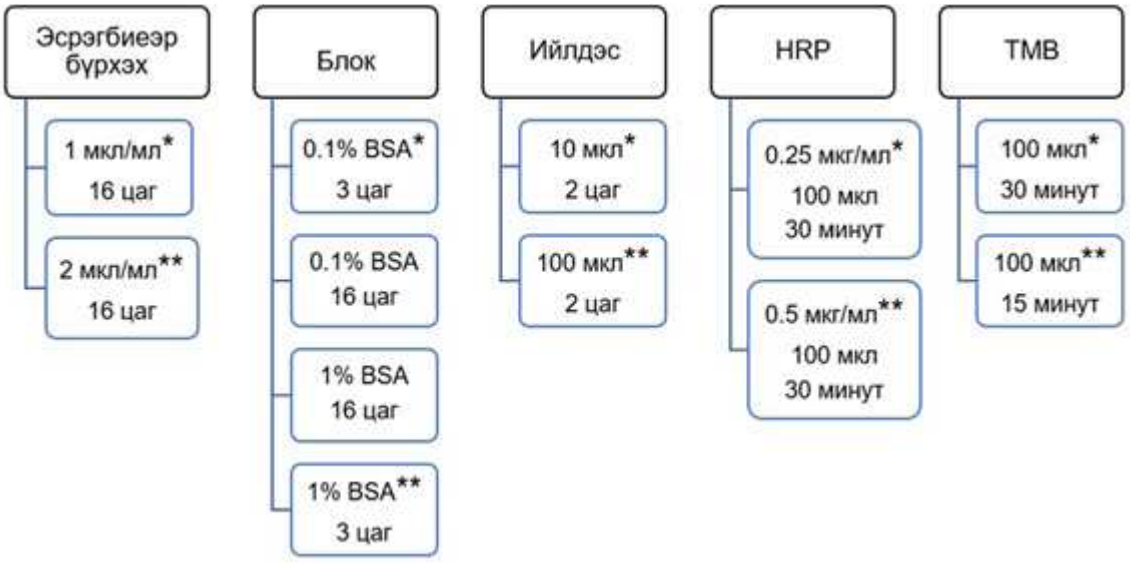
D. Хулганаас сорьц цуглуулсан аргачлал: Хулганы хэвлийн арьсанд хавирга хүртэл V хэлбэрийн зүсэлт хийж хулганы хэвлийн хөндийг нээж дотор эрхтнийг холдуулж доод хөндийн венийн судсыг ил гаргасан. Уг венийн судасны хамгийн өргөн хэсгийг тогтоон 23-25G хэмжээтэй, 1 мл тариур ашиглан 0.5-1 мл цус соруулж авсан. Цуглуулсан цусыг 3000 эрг/мин хурдаар 20 минут центрифугт эргүүлэн ийлдсийг ялган авч -20 градуст хадгалав.

E. In-house ФХЭБУ-ын аргаар хулганы ийлдэст цитокины агууламж тодорхойлсон аргачлал: Хулганы ийлдэст PeproTech "Murine IL-4 Mini ABTS ELISA Development Kit" болон PeproTech "Murin IFN-γ Mini ABTS ELISA Development Kit" АНУ-ын цомог ашиглан in-house ФХЭБУ-ын аргаар цитокины агууламжийг тодорхойлсон. Тус цомогт дагалдах протоколын дагуу шинжилгээг хийж гүйцэтгэхэд мэдрэг чанар сул байсан тул эсрэгбиеэр бүрхэх, блоклох, ийлдэс нэмэх, TMB субстрат нэмэх зэрэг 5 үе шатад, концентрац, инкубацийн хугацаа, температур зэрэг нөхцлийг өөрчлөн нийт 7 удаагийн туршилт хийн in-house ФХЭБУ-ын протоколыг боловсруулсан. Туршилтын болон хяналтын бүлгийн тус бүр 10, 10 хулганы ийлдсийг 3, 3, 4-р нийлүүлэн хольж нийт 6 шинжлэгдэхүүнд боловсруулсан протоколын дагуу 3 удаа шинжилгээг хийсэн.

Судалгааны үр дүнг IBM SPSS Statistic 27.0 программыг ашиглан үзүүлэлтүүдийн арифметик дундаж, р утга, стандарт алдааны дундаж, бүлэг хоорондын ялгааг Т тестийн аргаар тооцсон.

Үр дүн:

In-house ФХЭБУ-ын протокол боловсруулсан үр дүн: Бид IL-4, IFN-γ цитокиныг тодорхойлохдоо өндөр мэдрэг байдлыг нэмэгдүүлэх зорилгоор нийт 7 удаагийн туршилтыг хийж in-house ФХЭБУ-ын протоколыг боловсруулсан.



Зураг 1. In-house Фермент холбоот эсрэгбиеийн урвалын протокол
Тайлбар: *анхны нөхцөл, **сонгосон нөхцөл, BSA-Bovine serum albumin, HRP-Horseradish peroxidase, TMB-tetramethylbenzidine substrate

In-house ФХЭБУ-ын боловсруулсан протоколын дагуу цитокины агууламжийг тодорхойлохдоо туршилтын болон хяналтын бүлгийн тус бүр 10, 10 хулганы ийлдсийг 3, 3, 4-р нийлүүлэн хольж нийт 6 шинжлэгдэхүүнд 3 удаагийн туршилт хийв.

Хулганы цусны ийлдэст ФХЭБУ ашиглан цитокины агууламжийг тодорхойлсон үр дүн: 1-р туршилтын үр дүнд хулганы ийлдэс дэх IL-4 цитокины агууламж туршилтын бүлэгт 425 пг/мл, хяналтын бүлэгт 167 пг/мл; IFN-γ цитокины агууламж туршилтын бүлэгт 74.9 пг/мл, хяналтын бүлэгт 75 пг/мл тодорхойлогдов.

2-р туршилтын үр дүнд хулганы ийлдэс дэх IL-4 цитокины агууламж туршилтын бүлэгт 589.6 пг/мл, хяналтын бүлэгт 256.5 пг/мл; IFN-γ цитокины агууламж туршилтын бүлэгт 308 пг/мл, хяналтын бүлэгт 528 пг/мл агууламжтай байлаа.

3-р туршилтын үр дүнд хулганы ийлдэс дэх IL-4 цитокины агууламж туршилтын бүлэгт 526.8 пг/мл, хяналтын бүлэгт 163.5 пг/мл; IFN-γ цитокины агууламж туршилтын бүлэгт 196.7 пг/мл, хяналтын бүлэгт 248.1 пг/мл тодорхойлогдов (Хүснэгт 1).

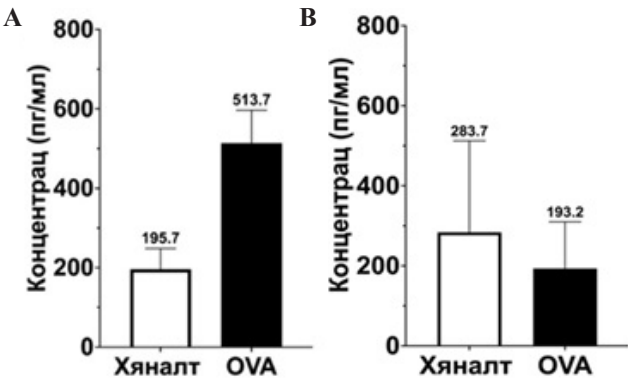
Хүснэгт 1. Хулганы ийлдэс дэх цитокины агууламжыг тодорхойлсон дүн

Туршилт	Бүлэг	IL-4		IFN- γ	
		OD	Конц: пг/мл	OD	Конц: пг/мл
1-р туршилт	OVA	0.364	425	0.162	74.9
	хяналт	0.235	167	0.144	75
2-р туршилт	OVA	0.558	589.6	0.145	308
	хяналт	0.278	256.5	0.167	528
3-р туршилт	OVA	0.435	526.8	0.16	196.7
	Хяналт	0.217	163.5	0.196	248.1

Тайлбар: *OD-Optical Density, Конц-Концентрац, OVA-овальбуминаар үйлчилсэн бүлэг, хяналт-хяналтын бүлэг*

Хяналтын бүлэгт IL-4 цитокины агууламж 195.7 пг/мл, туршилтын бүлэгт 513.7 пг/мл, IFN-γ цитокины агууламж хяналтын бүлэгт 283.7 пг/мл, туршилтын бүлэгт 193.2 пг/мл тодорхойлогдсон (Зураг 2).

Хулганы ийлдэс дэх IL-4 цитокины агууламжаар 2 бүлгийг хооронд нь харьцуулахад статистик ач холбогдол бүхий ялгаа ажиглагдав ($p<0.001$).



Зураг 2. Хулганы ийлдэс дэх IL-4 (А), IFN-γ (Б) цитокины агууламж

Хэлцэмж: Харшлын өвчний тархалт сүүлийн жилүүдэд нэмэгдсээр байгаа ч өдгөө зөвхөн шинж тэмдгийг намдаах эмчилгээ ихэвчлэн хийгдэж байна. Бид "Харшлын эмчилгээнд CpG ДНХ хэрэглэн үр дүнг тооцох судалгаа" сэдэвт төслийн хүрээнд Дон Ин Ким (2019) нарын аргачлалыг үндэс болгон, туршилтын амьтанд харшлын загвар үүсгэж, зарим цитокины агууламжийг тодорхойлох зорилго дэвшүүлэн судалгааны ажлыг хийж гүйцэтгэлээ. Харшлын загварыг туршилтын амьтанд үүсгэснээр эмгэг жам, дархлааны механизм, шинэ эмчилгээний стратеги болон эмийн нөлөөг турших боломжийг олгодог.

Туршилтын амьтанд харшлын загвар үүсгэж цитокины агууламжийг тодорхойлоход ФХЭБУ, УТ-ПГУ, урсгал эс тоолуурын арга, ELISpot зэрэг иммунологийн болон молекул биологийн аргыг ашигладаг.[13-15] Бид судалгаандаа in-house ФХЭБУ-ын аргыг ашигласан нь арилжааны цомогтой харьцуулахад эдийн засгийн хувьд хэмнэлттэй төдийгүй, урвалын нөхцөлийг өөрсдийн лабораторийн нөөц бололцоонд тохируулан нарийвчлан хянах боломжийг олгосон. Бид туршилтын болон хяналтын бүлгийн хулганы ийлдэс тус бүрийг 3:3:4 харьцаагаар нэгтгэн, нийт 6 дээжинд 3 давталттайгаар шинжилгээг гүйцэтгэв. Лаурин Кохн (Laurin Kohn) нарын судалгаагаар IL-4 ялгаруулагч Th2 эсийн дутагдалтай (knockout) хулганад IFN-gamma-ийн агууламж ихсэж, эозинофил эсийн тоо цөөрч байсан нь IL-4 цитокин нь IFN-gamma-г дарангуйлах замаар харшлын урвалыг өдөөдөг болохыг баталсан байдаг.[16] Бидний судалгааны үр дүнд туршилтын бүлэгт IL-4 агууламж 513.7 пг/мл ($p<0.001$) болж нэмэгдэн, IFN-gamma агууламж 193.2 пг/мл болж буурсан нь дээрх судалгаатай дүйж байгаа бөгөөд Th2 чиглэлийн хариу урвал давамгайлсныг илтгэж байна.

Харшлын өвчний эмгэг жамыг нарийвчлан судалж, оношилгоо, эмчилгээний шинэ арга замыг боловсруулах нь энэхүү өвчнөөс урьдчилан сэргийлэх болон эмчлэхэд чухал ач холбогдолтой юм.

Дүгнэлт: Харшлын загвар үүсгэсэн бүлгийн хулганы ийлдсэн дэх IL-4 цитокины агууламж нэмэгдэж, IFN-γ цитокины агууламж буурсан нь Th2 чиглэлийн дархлааны хариу урвал давамгай өрнөж буйг илтгэж байна.

Ном зүй:

1. *Singh AB, Kumar P. Climate change and allergic diseases: An overview. Frontiers in allergy. 2022;3:964987.*
2. *Vitte J, Vibhushan S, Bratti M, Montero-Hernandez JE, Blank U. Allergy, Anaphylaxis, and Nonallergic Hypersensitivity: IgE, Mast Cells, and Beyond. Medical principles and practice : international journal of the Kuwait University, Health Science Centre. 2022;31(6):501-515.*
3. *Kidd P. Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease. Altern Med Rev. 2003 Aug;8(3):223-46.*
4. *Okada H, Kuhn C, Feillet H, Bach JF. The 'hygiene hypothesis' for autoimmune and allergic diseases: an update. Clin Exp Immunol. 2010 Apr;160(1):1-9. doi: 10.1111/j.1365-2249.2010.04139.*
5. *Akdis CA, Akdis M. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy. J Allergy Clin Immunol. 2011 Jan;127(1):18-27; quiz 28-9. doi: 10.1016/j.jaci.2010.11.030.*
6. *Xiao C, Li H, Li H, Cheng Z, Qin J, Zhou W, He Q, Xu X. The effect of specific immunotherapy on the regulation of Th1/Th2 cell ratio of the patients with allergic rhinitis in serum. Lin Chuang Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi. 2010 Oct;24(20):924-7. Chinese. PMID: 21171297.*
7. *Nakajima H, Takatsu K. Role of cytokines in allergic airway inflammation. International archives of allergy and immunology. 2007;142(4):265-273.*
8. *Takeda K, Gelfand EW. Mouse models of allergic diseases. Current opinion in immunology. 2009;21(6):660-665.*
9. *Nials AT, Uddin S. Mouse models of allergic asthma: acute and chronic allergen challenge. Disease models & mechanisms. 2008;1(4-5):213-220.*
10. *Epstein MM. Do mouse models of allergic asthma mimic clinical disease? International archives of allergy and immunology. 2004;133(1):84-100.*
11. *Kim DI, Song M-K, Lee K. Comparison of asthma phenotypes in OVA-induced mice challenged via inhaled and intranasal routes. BMC pulmonary medicine. 2019;19:1-11.*
12. *Ч.Оюун-Эрдэнэ, Г.Ням-Очир нар. C57BL/6 хулганад үүсгэсэн харшлын загварын уушгины эд судлалын шинжилгээний үр дүн. Эрүүл мэндийн шинжлэх ухаан 2024;20(2).*
13. *Wild JS, Sigounas A, Sur N, et al. IFN-gamma-inducing factor (IL-18) increases allergic sensitization, serum IgE, Th2 cytokines, and airway eosinophilia in a mouse model of allergic asthma. Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950). 2000;164(5):2701-2710.*
14. *Haspeslagh E, Debeuf N, Hammad H, Lambrecht BN. Murine Models of Allergic Asthma. Methods in molecular biology (Clifton, NJ). 2017;1559:121-136.*
15. *Chen YL, Simons FE, Peng Z. A mouse model of mosquito allergy for study of antigen-specific IgE and IgG subclass responses, lymphocyte proliferation, and IL-4 and IFN-gamma production. International archives of allergy and immunology. 1998;116(4):269-277.*
16. *Cohn, Lauren, et al. "IL-4 promotes airway eosinophilia by suppressing IFN-γ production: defining a novel role for IFN-γ in the regulation of allergic airway inflammation." The Journal of Immunology 166.4 (2001): 2760-2767.*

Determination of serum IL-4 and IFN-γ levels in allergic model-induced C57BL/6 mice using in-house ELISA

Dulguunuu M[1], Nyam-Ochir G[1,2], Oyun-Erdene Ch[1], Ariunzaya B[1],Tsogtsaikhan S[1], Enkhtushig G[1], Khuselt-Od T[1], Enkhtuya S[1], Sarantuya L[1], Suvd O[1], Nyamdorj D[4], Batbaatar G[1], Gansukh Ch[1], Enkhsaikhan L[1,3], Enkh-Amar B[1]

[1]Department of Immunology, School of Bio-Medicine, MNUMS
[2]Department of Fundamental Medical Sciences, School of Nursing, MNUMS
[3]Institute of Bio-Medicine, MNUMS
[4]Department of Anatomy, School of Bio-Medicine, MNUMS
E-mail: enkhamar@mnums.edu.mn, Tel: +976-99144687

Abstract:
Background: Type I hypersensitivity, commonly known as an allergic reaction, is characterised by an IgE-mediated immune response triggered when foreign proteins enter the body. During allergic reactions, cytokines such as IL-4, IL-5, IL-9, and IL-13, secreted by T-helper 2 (Th2) cells, play a crucial role in activating immune effector cells like eosinophils and mast cells, which contribute significantly to airway inflammation and obstruction. Conversely, interferon-gamma (IFN-γ), produced by Th1 cells, suppresses Th2-mediated responses and plays an essential role in regulating allergic inflammation. Therefore, determining the balance of cytokines produced by Th1 and Th2 cells is crucial for understanding the mechanisms underlying allergic responses.
Aim: We aimed to induce an allergic response in experimental animals using ovalbumin and to determine the levels of IL-4 and IFN-γ cytokines using an in-house enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).
Materials and Methods: A total of 20 female C57BL/6 mice aged 6–8 weeks were selected for the experiment and randomly divided into two groups: control and experimental groups. The concentrations of IL-4 and IFN-γ cytokines in mouse serum were determined using an in-house enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).
Results: Compared to the control group, the levels of IL-4 and IFN-γ cytokines in the serum of allergic model-induced C57BL/6 mice were determined to be 513.7 pg/mL and 193.2 pg/mL, respectively. A statistically significant difference was observed in IL-4 cytokine levels between the two groups ($p < 0.001$).
Conclusion:In the allergic model group, serum levels of IL-4 cytokine were elevated, while IFN-γ cytokine levels were decreased, suggesting a predominant Th2-type immune response.

Keywords: Type I hypersensitivity, Ovalbumin, Immunoglobulin E