

DOI 10.52368/2078-0109-2023-95-99
УДК 619:[577.175.14:616.34]:636.4

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА «ФЕРОНАМИН» НА УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ПРО- И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ ПРИ ТЕРАПИИ КОЛИБАКТЕРИОЗА У ПОРОСЯТ

Стребкова В.В. ORCID ID 0000-0002-1694-0166, Востроилова Г.А. ORCID ID 0000-0002-2960-038X, Хохлова Н.А. ORCID ID 0000-0001-6861-2554, Михайлов Е.В. ORCID ID 0000-0001-5457-1325
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии», г. Воронеж, Российская Федерация

*В статье впервые представлены данные об уровне экспрессии генов про- и противовоспалительных цитокинов у новорожденных поросят при колибактериозе на фоне применения комплексного препарата на основе видоспецифичных рекомбинантных интерферонов «Феронамин». Исследование относительного уровня экспрессии генов цитокинов показало, что антибактериальный препарат «Квинокол плюс» снижал уровень экспрессии IL-1 α в 13,8 раз, IL-1 β – в 11,9 раза, IL-8 – в 5,8 раза, IL-10 – в 2,1 раза, IFN- γ – в 11,3 раза, не влиял на IL-6, стимулировал экспрессию генов IFN- α в 3,8 раза, TGF- β – в 7 раз, тогда как сочетанное применение препаратов «Феронамин» и «Квинокол плюс» подавляло относительный уровень экспрессии IL-1 α в 23,0 раза, IL-1 β – в 31,1 раза, IL-6 – в 10 раз, IL-8 – в 3,5 раза, IL-10 – в 3,3 раза. IFN- γ – в 4,8 раз, стимулировало экспрессию генов IFN- α в 1,9 раз, TGF- β – в 3 раза. На основании проведенного исследования препарат «Феронамин» можно рекомендовать в качестве иммуномодулятора при антибактериальном лечении колибактериоза у новорожденных поросят для стимуляции иммунного ответа. **Ключевые слова:** новорожденные поросята, цитокины, феронамин, квинокол плюс, экспрессия генов, колибактериоз.*

EFFECT OF THE DRUG FERONAMIN ON THE LEVEL OF PRO- AND ANTI-INFLAMMATORY CYTOKINE GENES EXPRESSION IN THERAPY OF COLIBACTERIOSIS IN PIGLETS

Strebkova V.V., Vostroilova G.A., Khokhlova N.A., Mikhaylov E.V.
FSBSI "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy",
Voronezh, Russian Federation

*The article presents the data on the level of pro- and anti-inflammatory cytokines expression in the newborn piglets with colibacteriosis against the background of the application of the complex medicine product Feronamin based on species-specific recombinant interferons. The study of the relative expression level of cytokine genes showed that the antibacterial drug Quinocol Plus reduced the expression level of IL-1 α by 13.8 times, IL-1 β – by 11.9 times, IL-8 – by 5.8 times, IL-10 – by 2.1 times, IFN- γ – by 11.3 times, did not affect IL-6, stimulated the expression of IFN- α genes by 3.8 times, TGF- β – by 7 times, while the combined use of the drugs Feronamin and Quinocol Plus suppressed the relative expression level of IL-1 α by 23.0 times, IL-1 β – by 31.1 times, IL-6 – by 10 times, IL-8 – by 3.5 times, IL-10 – by 3.3 times, IFN- γ – by 4.8 times, stimulated the expression of IFN- α genes by 1.9 times, TGF- β – by 3 times. Based on the study, the medicine product Feronamin can be recommended as an immunomodulator in the antibacterial treatment of colibacteriosis in newborn piglets to reduce stimulation of the immune response. **Keywords:** newborn piglets, cytokines, Feronamin, Quinocol Plus, gene expression, colibacteriosis.*

Введение. Известно, что у новорожденных большинства видов млекопитающих иммунная система не развита в достаточной степени [0]. В свиноводстве преимущественное распространение имеют желудочно-кишечные болезни, которые наносят значительный экономический ущерб хозяйствам. Такие заболевания новорожденных поросят принято рассматривать как комплексную патологию организма, при этом их гибель от диареи, как правило, наступает на 3-7 день после рождения [2]. Для терапии желудочно-кишечных заболеваний бактериальной этиологии применяют антимикробные средства, активные в отношении выделенных возбудителей, или комплексные препараты с различным механизмом действия на микробную клетку [3]. Поэтому одним из актуальных направлений является разработка препаратов на основе рекомбинантных видоспецифичных интерферонов и биологически активных веществ природного происхождения для коррекции иммунного статуса, повышения эффективности антибактериальной терапии и снижения антибиотиконагрузки на животных.

Цель исследований – изучить влияние препарата «Феронамин» на уровень экспрессии генов про- и противовоспалительных цитокинов поросят при терапии колибактериоза.

Материалы и методы исследований. Экспериментальная работа была проведена на базе специализированного свиноводческого комплекса Воронежской области в 2021-2022 году. В исследовании использовали следующие препараты: «Квинокол плюс» («S.P. Veterinaria, S.A.», Испания), содержащий в своем составе в качестве действующих веществ энрофлоксацин и гентамицина сульфат; разработанный в ФГБНУ «ВНИВИПФиТ», препарат «Феронамин», содержащий в своем составе рекомбинантные видоспецифичные α - и γ -интерфероны и гидрофильную фракцию селенки. Дизайн эксперимента предварительно был одобрен комиссией института по биоэтике, в со-

ответствии с которым было сформировано 5 опытных групп по 5 поросят в возрасте 3-5 дней в каждой:

I группа (негативный контроль) – клинически здоровые животные;

II группа (фон) – поросята, больные колибактериозом, без лечения. Возбудитель колибактериоза - энтеропатогенная *Escherichia coli* - была выделена при бактериологическом исследовании кишечного содержимого вынужденно убитых больных животных;

III группа - поросята, больные колибактериозом, которым применяли внутримышечно антибактериальный препарат «Квинокол плюс» в дозе 0,05 мл/кг;

IV группа – поросята, больные колибактериозом, которым применяли внутримышечно Феронамин в дозе 0,1 мл/кг двукратно с интервалом 24 часа;

V группа - поросята, больные колибактериозом, которым применяли «Квинокол плюс» в комплексе с препаратом «Феронамин» по аналогичной схеме.

Исследуемые препараты вводили двукратно с интервалом 24 часа, через 48 часов исследования у опытных поросят отбирали кровь для изучения уровня экспрессии генов интерлейкинов 1 α , 1 β , 6, 8 и 10 (IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10), трансформирующего фактора роста β (TGF β), фактора некроза опухоли α (TNF α), интерферонов альфа и гамма (IFN α , IFN γ). Цельная кровь была отобрана в вакуумные пробирки с добавлением ЭДТАКЗ для предотвращения свертывания крови. РНК из крови выделяли с помощью набора «РНК-ЭКСТРАН» (Синтол, Москва). Обратную транскрипцию проводили с использованием набора MMLV RT (Евроген, Россия). ПЦР в режиме «реального» времени проводили на амплификаторе Rotor-GeneQ (QIAGEN, Germany) на базе лабораторий ФГБНУ «ВНИВИПФиТ».

Результаты исследований. Изучение экспрессии провоспалительных цитокинов семейства интерлейкина 1 показало, что экспрессия IL-1 α у поросят с колибактериозом выросла в 3,6 раз, IL-1 β – в 2,3 раза в сравнении с группой здоровых животных. Применение препарата «Квинокол плюс» приводило к снижению экспрессии IL-1 α в 13,8 раз, IL-1 β – в 12 раз, у поросят, которым применяли феронамин, уровень экспрессии IL-1 α снизился в 27,6 раза, IL-1 β - в 52 раза, относительно животных группы II. Сочетанное применение препаратов «Квинокол плюс» и «Феронамин» снижало экспрессию IL-1 α в 23 раза, IL-1 β – в 31,1 раза относительно аналогичных показателей у поросят без лечения (группа II) (рисунок 1).

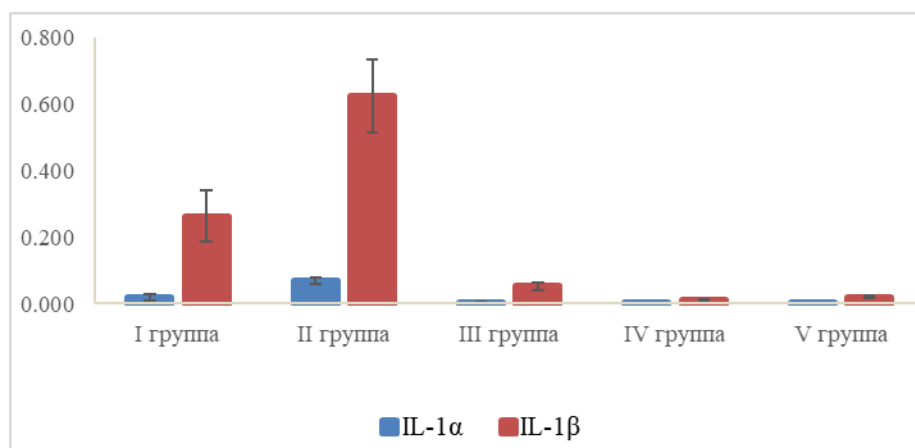


Рисунок 1 - Относительный уровень экспрессии генов IL-1 α и IL-1 β в эксперименте

Кроме того, применение препарата «Квинокол плюс» не оказало влияния на экспрессию IL-6, но при этом снижало экспрессию IL-8 в 5,8 раза, IL-10 – в 2,1 раза, феронамин снижал экспрессию IL-6 в 8 раза, IL-8 – в 10 раз, IL-10 – в 2,6 раза. Совместное применение квинокола плюс и феронамина снижало экспрессию IL-6 в 10 раз, IL-8 – в 3,5 раза, IL-10 – в 3,3 раза.

Таким образом, применение комплексного препарата на основе рекомбинантных видоспецифичных интерферонов несколько уменьшило негативное влияние антибиотика на экспрессию цитокинов IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 (рисунок 2).

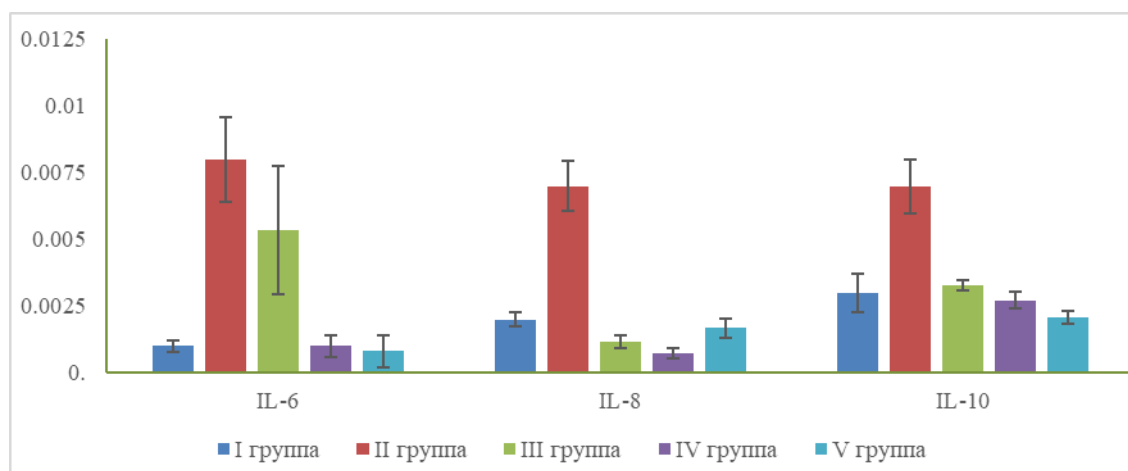


Рисунок 2 - Относительный уровень экспрессии генов IL-6, IL-8, IL-10 в эксперименте

Так как высокий уровень цитокинов, прежде всего провоспалительных, является неблагоприятным фактором, отражающим степень активности и тяжести патологического процесса [4], снижение экспрессии IL-1 с провоспалительными свойствами является благоприятной тенденцией для организма животного. Известно, что избыточная продукция IL-6 вызывает повреждение тканей, так как, являясь иммунным белком и пирогеном, он вызывает лихорадку при аутоиммунных, инфекционных или неинфекционных заболеваниях [5]. Таким образом, снижение избыточной продукции IL-6 позволяет снизить негативный эффект диареи и стимулировать нормализацию иммунного ответа. IL-8 привлекает и активирует нейтрофилы в очагах воспаления [6, 7], ингибирует секрецию базофилами гистамина, а В-клетками – IgE, снижение экспрессии этого цитокина антибактериальным препаратом может не только снизить хемотаксис нейтрофилов, но и активировать выработку гистамина и IgE, что приведет к нежелательным аллергическим реакциям, а применение феронамина снижает негативный эффект от применения антибиотика, т.е. оказывает благоприятное действие. Наблюдаемое снижение экспрессии IL-10, по нашему мнению, произошло из-за того, что интерфероны в составе препарата «Феронамин» частично взяли на себя функцию подавления воспалительного процесса.

Препарат «Квинокол плюс» стимулировал выработку IFN- α в 3,8 раза, но снижал экспрессию IFN- γ в 11,3 раза. При этом применение феронамина стимулировало экспрессию IFN- α в 1,5 раза, но снижало экспрессию IFN- γ в 8,5 раз. Комплексное применение данных препаратов стимулировало выработку IFN- α в 1,9 раза, но снижало экспрессию всего IFN- γ в 4,8 раза (рисунок 3).

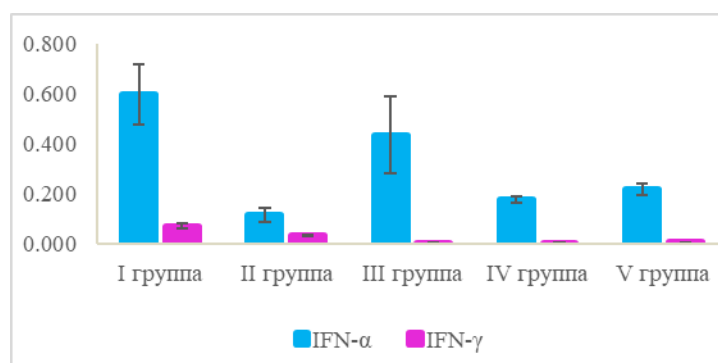


Рисунок 3 – Относительный уровень экспрессии генов IFN- α , IFN- γ в эксперименте

Совместное применение препаратов «Квинокол плюс» и «Феронамин» тормозило подавление относительного уровня экспрессии IFN- γ на 6,5%. Снижение активности IFN- α , вероятно, объясняется тем, что экзогенный интерферон способствует снижению выработки эндогенного интерферона.

Применение препаратов в эксперименте стимулировало экспрессию TNF α у поросят - многофункционального провоспалительного цитокина, который играет ключевую роль в патогенезе многих иммунно-воспалительных вирусных, бактериальных, аутоиммунных, метаболических заболеваний. TNF α является растворимым цитокином, который в основном вырабатывается клетками иммунной системы, главным образом моноцитами и макрофагами. TNF α обладает способностью взаимодействовать с другими цитокинами и стимулировать секрецию интерлейкинов (IL-1, -6, -8),

IFN- γ , хемокинов, при инфекциях активирует лейкоциты, усиливает продукцию других цитокинов. В одних случаях он играет провоспалительную роль, в других — защитную, противовоспалительную. Этот фактор участвует в патогенезе как острых, так и хронических воспалительных заболеваний [8].

В эксперименте препараты «Квинокол плюс» и «Феронамин» стимулировали выработку TGF- β в 7 раз, а комплекс «Квинокол плюс» и Феронамин — в 3 раза (рисунок 4).

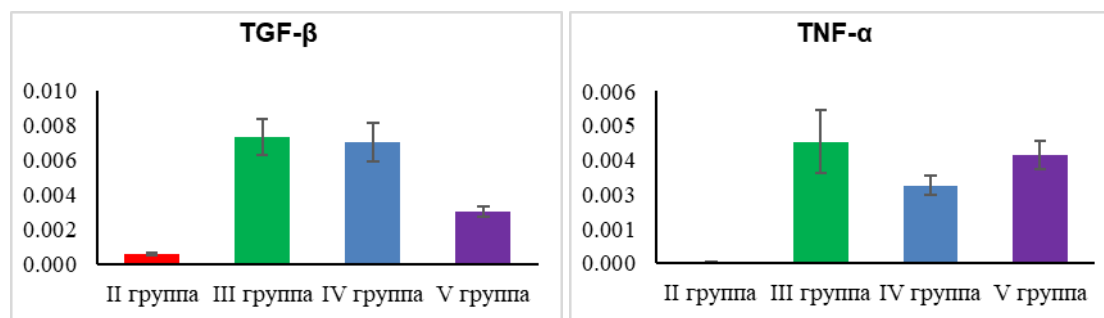


Рисунок 4 – Относительный уровень экспрессии генов TNF α и TGF β в эксперименте

TGF- β представляет собой сложный полипептид, который оказывает существенное влияние на регуляцию клеточного цикла, рост и развитие, дифференцировку, синтез внеклеточного матрикса (ВКМ), кроветворение, хемотаксис и иммунный ответ [9]. В настоящее время основным белковым фактором, стимулирующим процесс фиброза в органах и тканях человека, считаются белки суперсемейства TGF- β [10]. Известно, что гиперпродукция TGF может стимулировать образование рубцовой ткани слизистой и, как следствие, изменение функциональной активности ткани [7]. Применение феронамина при антибактериальном лечении привело к снижению его уровня, что является благоприятным прогнозом в восстановлении поврежденной слизистой органов ЖКТ.

Заключение. Таким образом, применение комплексного препарата «Феронамин» на основе рекомбинантных видоспецифичных интерферонов снижает нежелательные реакции при антибактериальном лечении колибактериоза. На основании проведенного исследования препарат «Феронамин» можно рекомендовать в качестве иммуномодулятора при антибактериальном лечении колибактериоза у новорожденных поросят для стимуляции иммунного ответа.

Conclusion. Thus, the application of the complex drug Feronamin based on recombinant species-specific interferons reduces adverse reactions in the antibacterial treatment of colibacteriosis. Based on the study, Feronamin can be recommended as an immunomodulator in the antibacterial treatment of colibacteriosis in newborn piglets to stimulate the immune response.

Список литературы. 1. Старостина, Н. С. Иммунный статус и сохранность поросят-сосунов при введении соединений селена в организм их матерей / Н. С. Старостина, А. В. Остапчук // *Нива Поволжья*. – 2013. – №2 (27). – Режим доступа: <https://cyberleninka.ru/article/n/immunnyy-status-i-sohrannost-porosyat-sosunov-pri-vvedenii-soedineniy-selena-v-organizm-ih-materey>. – Дата доступа : 19.08.2022. 2. Прудников, С. И. Факторные инфекционные болезни свиней и их профилактика / С. И. Прудников // *Сибирский вестник сельскохозяйственной науки*. – 2007. – № 6(174). – С. 74-80. 3. Савельева Л.Н., Куделко А.А., Бондарчук М.Л., Мальцев Т.С. К вопросу о желудочно-кишечных расстройствах у поросят и ущербе, наносимом свиноводству Забайкальского края / Л. Н. Савельева [и др.] // *МНИЖ*. – 2016. – №11-2(53). – Режим доступа : <https://cyberleninka.ru/article/n/k-voprosu-o-zheludochno-kishechnyh-rasstroystvah-u-porosyat-i-uscherbe-nanosimom-svinovodstvu-zabaykalskogo-kрая>. – Дата доступа : 29.07.2022. 4. Насонов, Е. Л. Роль интерлейкина 1 в развитии заболеваний человека / Е. Л. Насонов, М. С. Елусеев // *Научно-практическая ревматология*. – 2016. – № 1. – Режим доступа : <https://cyberleninka.ru/article/n/rol-interleykina-1-v-razvitiy-zabolevaniy-cheloveka>. – Дата доступа : 14.08.2022. 5. Сташкевич, Д. С. Актуальные вопросы иммунологии: система цитокинов, биологическое значение, генетический полиморфизм, методы определения : учебное пособие / Д. С. Сташкевич, Ю. Ю. Филиппова, А. Л. Бурмистрова. — Челябинск : Цицеро. 2016. - 82 с. 6. Поплавец, Е. В. Значение трансформирующего фактора роста при заболеваниях желудочно-кишечного тракта / Е. В. Поплавец, Л. М. Немцов // *Вестник ВГМУ*. – 2010. – № 1. – Режим доступа : <https://cyberleninka.ru/article/n/znacheniye-transformiruyushchego-faktora-rosta-pri-zabolevaniyah-zheludochno-kishechnogo-trakta>. – Дата доступа : 05.05.2022. 7. Bickel, M. The role of interleukin-8 in inflammation and mechanisms of regulation / M. Bickel // *J. Periodontol.* – 1993. – Vol. 64(5 Suppl). – P. 456-460. 8. Терещенко, И. В. Фактор некроза опухоли α и его роль в патологии / И. В. Терещенко, П. Е. Каюшев // *РМЖ. Медицинское обозрение*. – 2022. – № 6(9). – С. 523–527. – DOI: 10.32364/2587-6821-2022-6-9-523-527. 9. Роль трансформирующего фактора роста бета в опухолевом процессе / В. Г. Кукес [и др.] // *Человек и его здоровье*. – 2021. – № 24(3). – С. 61–69. – DOI: 10.21626/vestnik/2021-3/07. 10. Влияние цитокина TGF- β и других факторов на процесс регенерации / Е. Л. Атькова [и др.] // *Вестник офтальмологии*. – 2017. – № 133(4). – С. 89-96. – doi: 10.17116/ofalma2017133489-96.

References. 1. Starostina, N. S. *Immunnyj status i sohrannost' porosyat-sosunov pri vvedenii soedinenij selena v organizm ih materej* / N. S. Starostina, A. V. Ostapchuk // *Niva Povolzh'ya*. – 2013. – №2 (27). – *Rezhim dostupa:*

<https://cyberleninka.ru/article/n/immunnyy-status-i-sohrannost-porosyat-sosunov-pri-vvedenii-soedineniy-selena-v-organizm-ih-materey>. – Data dostupa : 19.08.2022. 2. Prudnikov, S. I. Faktornye infekcionnye bolezni svinej i ih profilaktika / S. I. Prudnikov // Sibirskij vestnik sel'skoxozyajstvennoj nauki. – 2007. – № 6(174). – S. 74-80. 3. Savel'eva L.N., Kudelko A.A., Bondarchuk M.L., Mal'cev T.S. K voprosu o zheludochno-kishechnyh rasstrojstvah u porosyat i usherbe, nanosimom svinovodstvu Zabajkal'skogo kraja / L. N. Savel'eva [i dr.] // MNIZH. – 2016. – №11-2(53). – Rezhim dostupa : <https://cyberleninka.ru/article/n/k-voprosu-o-zheludochno-kishechnyh-rasstrojstvah-u-porosyat-i-uscherbe-nanosimom-svinovodstvu-zabaykalskogo-kraja>. – Data dostupa : 29.07.2022. 4. Nasonov, E. L. Rol' interlejkina 1 v razvitii zabolevanij cheloveka / E. L. Nasonov, M. S. Eliseev // Nauchno-prakticheskaya revmatologiya. – 2016. – № 1. – Rezhim ostupa : <https://cyberleninka.ru/article/n/rol-interlejkina-1-v-razvitii-zabolevanij-cheloveka>. – Data dostupa : 14.08.2022. 5. Stashkevich, D. S. Aktual'nye voprosy immunologii: sistema citokinov, biologicheskoe znachenie, geneticheskij polimorfizm, metody opredeleniya : uchebnoe posobie / D. S. Stashkevich, YU. YU. Filippova, A. L. Burmistrova. — CHelyabinsk : Cicero. 2016. - 82 s. 6. Poplavec, E. V. Znachenie transformiruyushchego faktora rosta pri zabolevaniyah zheludochno-kishechnogo trakta / E. V. Poplavec, L. M. Nemcov // Vestnik VGMU. – 2010. – № 1. – Rezhim dostupa : <https://cyberleninka.ru/article/n/znachenie-transformiruyushchego-faktora-rosta-pri-zabolevaniyah-zheludochno-kishechnogo-trakta>. – Data dostupa : 05.05.2022. 7. Bickel, M. The role of interleukin-8 in inflammation and mechanisms of regulation / M. Bickel // J. Periodontol. – 1993. – Vol. 64(5 Suppl). – P. 456-460. 8. Tereshchenko, I. V. Faktor nekroza opuholi α i ego rol' v patologii / I. V. Tereshchenko, P. E. Kayushev // RMZH. Medicinskoe obozrenie. – 2022. – № 6(9). – S. 523–527. – DOI: 10.32364/2587-6821-2022-6-9-523-527. 9. Rol' transformiruyushchego faktora rosta beta v opuholevom processe / V. G. Kukes [i dr.] // CHelovek i ego zdorov'e. – 2021. – № 24(3). – S. 61–69. – DOI: 10.21626/vestnik/2021-3/07. 10. Vliyanie citokina TGF- β i drugih faktorov na process regeneracii / E. L. At'kova [i dr.] // Vestnik oftal'mologii. – 2017. – № 133(4). – S. 89-96. – doi: 10.17116/oftalma2017133489-96.

Поступила в редакцию 20.07.2023.

DOI 10.52368/2078-0109-2023-99-103

УДК 619:[576.3:618.56]:636.4

СОСТОЯНИЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ КЛЕТОЧНОЙ ЗАЩИТЫ У ПОРОСЯТ, ВЫРАЩИВАЕМЫХ ПОД ПЕРЕБОЛЕВШИМИ ПОСЛЕРОДОВЫМИ БОЛЕЗНЯМИ СВИНОМАТКАМИ

Шахов А.Г. ORCID ID 0000-0002-6177-8858, Сашнина Л.Ю. ORCID ID 000-0001-6477-6156, Владимирова Ю.Ю. ORCID ID 0000-0001-8888-7264, Чусова Г.Г. ORCID ID 0000-0003-1494-880
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии», г. Воронеж, Российская Федерация

*В статье представлены результаты изучения состояния неспецифической клеточной защиты у поросят в ранний постнатальный период в промышленном хозяйстве. Установлено, что поросята, выращенные под переболевшими послеродовыми болезнями свиноматками, отличались от животных, родившихся под клинически здоровыми свиноматками, пониженным уровнем палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов (5-е сутки), лимфоцитов (20-е сутки), моноцитов, поглощательной и индуцированной метаболической активности нейтрофилов и повышенным содержанием эозинофилов во все сроки исследований. Полученные данные свидетельствуют об ослаблении клеточного звена естественной неспецифической резистентности поросят, выращенных под переболевшими свиноматками, и предрасположенности к развитию воспалительных процессов. **Ключевые слова:** поросята, свиноматки, послеродовые болезни, морфологические показатели крови, лейкограмма, фагоцитоз.*

STATE OF NON-SPECIFIC CELLULAR PROTECTION IN PIGLETS REARED UNDER THE SOWS WHO RECOVERED FROM POSTPARTUM DISEASES

Shakhov A.G., Sashnina L.Yu., Vladimirova Yu.Yu., Chusova G.G.
FSBSI "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy",
Voronezh, Russian Federation

*The paper presents the results of studying the state of non-specific cellular protection in piglets in the early postnatal period under conditions of an industrial farming. It has been established that the piglets reared under the sows who had recovered from postpartum diseases differed from the animals reared by clinically healthy sows by a reduced level of stab and segmented neutrophils (day 5), lymphocytes (day 20), monocytes, absorption and induced metabolic activity of neutrophils and increased content of eosinophils in all research periods. The data obtained indicate a weakening of the cellular link of the natural non-specific resistance of piglets reared by the sows who had recovered from postpartum diseases, and a predisposition to the development of inflammatory processes. **Keywords:** piglets, sows, postpartum diseases, blood morphological indicators, leukogram, phagocytosis.*