

УДК: 577.175.14:618.19-002-02:636.2
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2025.1.77

ИНТЕРЛЕЙКИНЫ IL-1 β и IL-10 КАК БИОМАРКЕРЫ ОЦЕНКИ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА ПРИ ИНФЕКЦИОННЫХ МАСТИТАХ КОРОВ

Павлова В.С. – студ. 5 курса факультета ветеринарной медицины;
Комаров М.В. – асп. каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии;
Макавчик С.А.* – д-р ветеринар. наук, доц., доц. каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии (ORCID 0000-0001-5435-8321); Авдеенко В.С. – д-р ветеринар. наук, проф. каф. генетических и репродуктивных биотехнологий (ORCID 0000-0001-6154-275X)

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет
ветеринарной медицины»

*groza81@mail.ru

Ключевые слова: интерлейкин 1 β , интерлейкин 10, инфекционных мастит, воспаление, биомаркеры.

Key words: interleukin 1 β , interleukin 10, infectious mastitis, inflammation, biomarkers.

Финансирование: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-26-00284, <https://rsct.ru/project/23-25-00284/>

Поступила: 25.01.2025

Принята к публикации: 06.03.2025

Опубликована онлайн: 26.03.2025



РЕФЕРАТ

Инфекционный мастит у лактирующих коров является распространенным заболеванием, наносящим значительный экономический ущерб. При изучении проблемы инфекционного мастита наибольший интерес представляет оценка изменения иммунологических показателей молока и крови коров при возникновении и развитии воспалительного процесса в вымени, что необходимо для прогнозирования дальнейшего течения болезни. Своевременная диагностика и прогнозирование течения воспалительного процесса при инфекционных маститах позволяет существенно снижать наносимый экономический ущерб. Целью исследования является изучение интерлейкина 1 β и интерлейкин 10 и их соотношения, как диагностических биомаркеров для оценки степени тяжести течения инфекционных маститов. Анализ литературных данных и данных, полученных нами в ходе исследования, выявил, что концентрация интерлейкина 1 β и интерлейкина 10 в молоке коров может служить биомаркером для оценки степени тяжести инфекционного мастита. Для проведения исследований было сформировано три группы лактирующих коров. В каждую группу входило по 4 животного, группы были сформированы в зависимости от формы инфекционного мастита – группа здоровых коров, коров с субклиническим и коров с клиническим гнойным маститом. Полученные нами средние значения концентрации IL-1 β в молоке коров с клиниче-

ским маститом превышают концентрацию IL-1 β в молоке здоровых коров в 3,3 раза, коров с субклиническим маститом – в 3,7 раза. Показатель концентрации IL-10 в молоке у коров с субклиническим маститом превышает показатель здоровых животных в 1,2 раза, а показатель коров с клиническим маститом превышает показатель коров с субклиническим маститом в 2,7 раза. Впервые получены данные о возможности использования соотношения IL-1 β /IL-10 для прогнозирования течения инфекционных маститов. Согласно полученным данным, при соотношении IL-1 β /IL-10 в молоке 1,8 и более инфекционные маститы приобретают хроническое рецидивирующее течение.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Инфекционный мастит у лактирующих коров является наиболее распространенным заболеванием, которое наносит огромный экономический ущерб животноводческим хозяйствам. По мнению ведущих ученых, при изучении проблемы мастита наибольший интерес представляет оценка динамики изменений иммунологических показателей крови коров при возникновении и развитии воспалительного процесса в вымени [3, 8, 9].

Существует ряд исследований, посвященных изучению динамики провоспалительных и противовоспалительных цитокинов при разных формах мастита. Так, было отмечено повышение уровня IL-1 β при субклиническом мастите, что предполагает его роль на ранней стадии развития. Также в исследовании было отмечено резкое повышение уровня провоспалительных цитокинов IL-2, IL-6, TNF- α и IL-1 β у дойных коров, страдающих клиническим маститом [1, 4].

Интерлейкины – сигнальные белки, относящиеся к группе цитокинов. Все интерлейкины подразделяются на группы по их основному действию: провоспалительные и противовоспалительные. К провоспалительным интерлейкинам относятся интерлейкины IL-1, IL-6, IL-8, к противовоспалительным – IL-4, IL-10. Концентрация цитокинов той или иной группы оказывает существенное влияние на течение и исход воспалительного процесса [3].

Интерлейкин 1 – провоспалительный цитокин, подразделяющийся на две фракции: IL-1 α и IL-1 β . Обуславливает развитие преимущественно местной воспалительной реакции [2]. IL-1 β является основной формой секреторного IL-1. Его действие обусловлено связыванием со

специфическими рецепторами клеток. Наиболее важной функцией IL-1 является активация Т-хелперов [7].

IL-1 индуцирует местное расширение сосудов, что обуславливает повышение местной температуры в очаге воспаления. На системном уровне IL-1 влияет на гипоталамус посредством простагландина E, и вызывает общую гипертермию [5].

IL-10 является одним из наиболее важных противовоспалительных цитокинов. Основными клетками-мишенями IL-10 являются антигенпрезентирующие клетки, в меньшей степени он влияет на тучные клетки, В-лимфоциты, нейтрофилы, NK-клетки и др. IL-10 ингибирует синтез цитокинов Т-хелперов, подавляет синтез провоспалительных интерлейкинов [7, 10, 11].

Таким образом, IL-1 и IL-10 оказывают противоположное влияние на воспалительный процесс, следовательно, концентрация провоспалительных и противовоспалительных интерлейкинов в крови может служить маркером для оценки степени тяжести и стадии протекания воспалительного процесса [1, 6]. **Цель работы** – изучить интерлейкин 1 β и интерлейкин 10 и их соотношение как диагностические биомаркеры оценки степени тяжести течения воспалительного процесса при маститах коров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Для проведения исследований было сформировано три группы лактирующих коров, принадлежащих одному из хозяйств Новгородской области.

В первую группу (n=4) вошли клинически здоровые животные, во вторую (n=4) – коровы, больные субклиническим маститом (диагноз установлен с применением теста на мастит Kenotest), в третью

(n=4) – коровы, больные клиническим гнойным маститом (диагноз установлен на основании клинических признаков и подтвержден с применением теста на мастит Kenotest производства Сид Лайнс (CID Lines)). Субклинический мастит по тесту Kenotest (производство Сид Лайнс (CID Lines) отрицательный из непораженных долей вымени.

От всех животных были отобраны пробы молока и крови для определения концентрации интерлейкинов методом иммуноферментного анализа. Отбор проб молока проводился в стерильную посуду. Отбор проб крови осуществляли вакуумной системой для отбора крови из хвостовой артерии.

Первичные посевы проб делали на простые питательные среды – мясопептонный бульон (МПБ), мясопептонный агар (МПА) – и инкубировали в течение суток в термостате. После инкубации делали пересев на селективные и дифференциально-диагностические среды: среда желточно-солевой агар, молоч-

но-солевой агар, среды для выделения энтеробактерий, кровяной агар для определения гемолиза, и инкубировали в течение 24-48 часов в термостате. Идентификация чистых культур клинически значимых бактерий с изучением морфологических, культурально-биохимических и патогенных свойств.

Для определения концентрации интерлейкинов использовали набор реактивов для ИФА (Sandwich ELISA) производства Cloud-Clone Corp.

Иммуноферментный анализ проводился согласно инструкции производителя набора (Cloud-Clone Corp). Для определения концентрации интерлейкинов использовали набор реактивов для ИФА производства Cloud-Clone Corp. Результаты анализа считывали с помощью ридера Microplate reader Type 357 (производитель Thermo Fisher Scientific Instruments Co.), обработка полученных данных проводила в программе CurveExpert Basic (версия 2.2.2) (Рис. 1).

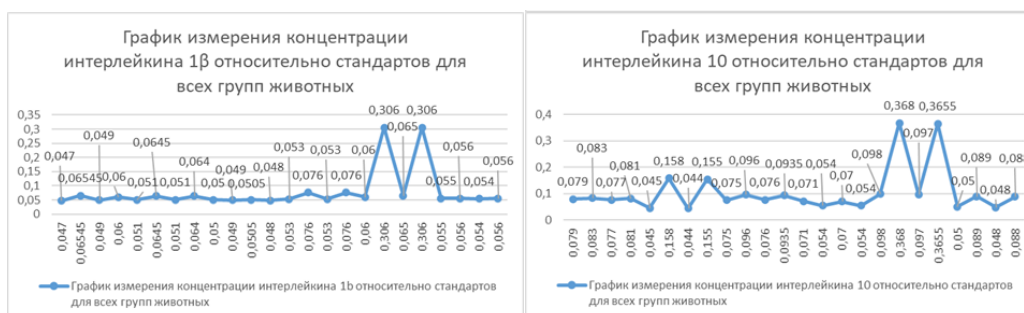


Рисунок 1 – График измерения концентрации интерлейкинов IL-1β и IL-10 относительно стандартов для всех исследуемых биологических проб.

РЕЗУЛЬТАТЫ/ RESULTS

В результате исследования установлены коформные маститы у коров в возрасте 6-7 лет, 5-6 лактации. Согласно предоставленным в хозяйстве данным, все коровы с клиническим и субклиническим маститом имеют хронический рецидивирующий мастит.

В исследуемых пробах были выделены и идентифицированы бактериологическим методом ассоциации бактерий семейства Enterobacteriaceae, видовое раз-

нообразие включало в себя Escherichia coli и Serratia marcescens.

Предлагаем впервые использовать соотношение IL-1β/IL-10 как биомаркер оценки степени тяжести течения воспалительного процесса при инфекционном мастите коров.

Согласно данным из таблицы 1, в группе здоровых животных концентрация IL-1β превышает концентрацию IL-10 в 2,6 раза в пробах молока и в 2,5 раза в пробах сыворотки крови. Разница в кон-

центрациях IL-1 β в пробах молока и сыворотки крови в группе здоровых животных не превышает разницу в 1,03 раза. Разница в концентрациях IL-10 в пробах молока и сыворотки крови в группе здоровых животных не превышает разницу в 1,06 раза.

В группе животных с субклиническим маститом концентрация IL-1 β превышает концентрацию IL-10 в 1,8 раза в пробах молока и в 3,2 раза в пробах сыворотки крови. Разница в концентрациях IL-1 β в пробах молока и сыворотки крови внутри группы животных с субклиническим маститом не превышает разницу в 1,3 раза. Разница в концентрациях IL-10 в пробах молока и сыворотки крови внутри группы здоровых животных не превышает разницу в 1,4 раз.

В группе животных с клиническим маститом концентрация IL-1 β превышает концентрацию IL-10 в 2,5 раза в пробах молока и в 2,6 раза в пробах сыворотки крови. Разница в концентрациях IL-1 β в пробах молока и сыворотки крови, полученных внутри группы животных с клиническим маститом, не превышает разницу в 3,3 раза. Разница в концентрациях IL-10 в пробах молока и сыворотки крови, полученных от одного животного, не превышает разницу в 3,5 раза.

Согласно данным таблицы 1 средние значения концентрации IL-1 β в молоке коров с клиническим маститом превышают концентрацию IL-1 β в молоке здоровых коров в 3,3 раза. Различия в концентрации IL-1 β в молоке здоровых коров и коров с субклиническим маститом составляет различие в 1,1 раза. При этом подобная динамика для IL-1 β в сыворотке крови – согласно полученным нами данным показатель у коров с субклиническим маститом превышает показатель у здоровых животных в 1,1 раз, а показатель коров с клиническим маститом в 1,2 раза.

Показатель концентрации IL-10 в молоке у коров с субклиническим маститом превышает показатель здоровых животных в 1,2 раза, а показатель коров с клиническим маститом превышает показате-

тель коров с субклиническим маститом в 2,7 раза. В сыворотке крови концентрация IL-10 у коров с субклиническим маститом меньше показателя у здоровых животных в 1,2 раза, а показатель коров с клиническим маститом превышает показатель коров с субклиническим маститом в 1,08 раза. Это позволило нам предположить, что IL-10 является возможным диагностическим биомаркером острой фазы воспаления при субклиническом и клиническом мастите.

Установлено, что *E. coli* обуславливает острую интрамаммарную инфекцию, хроническое течение характерно для реакции макроорганизма хозяина на *St. aureus*, *Mycoplasma bovis* [9, 10].

IL-1 β опосредованно влияет на выработку хемокинов и провоспалительных цитокинов, запускаемой липополисахаридами грамотрицательных бактерий. Его концентрация коррелирует с тяжестью воспаления и наличием патогенных микроорганизмов. Однако, IL-10 как противовоспалительный цитокин, который вырабатывается для подавления чрезмерной экспрессии провоспалительных цитокинов, в основном IL-1 β и FNO- α , которые могут повреждать ткани и клетки, вызывать лихорадку. Его концентрация может возрасти, как компенсаторный механизм при хроническом воспалении [11].

Необходимо учитывать влияние ряда факторов на динамику уровня цитокинов в молоке здоровых и больных коров маститом. Уровень концентрации интерлейкинов может отличаться из-за видов патогенных микроорганизмов или даже комбинации различных патогенов, а также может зависеть от других триггерных факторов, таких как факторы окружающей среды, возраста животных, их породы, кормления. Современные исследования концентрации цитокинов могут помочь в оценке эффективности терапии продуктивных животных.

Таблица 1 – Средние концентрации IL-1 β и IL-10 в молоке и сыворотке крови животных по группам

Интерлейкин	Молоко, пг/ мл	Соотношение IL- 1β/IL-10 в пробах молока	Сыворотка кро- ви, пг/мл	Соотношение IL- 1β/IL-10 в пробах сыворотки крови
Группа здоровых животных				
IL-1β	129,4±0,33*	2,6	133,4±0,31*	2,5
IL-10	50,0±0,12*		53,0±0,14*	
Группа животных с субклиническим маститом				
IL-1β	115,4±0,12*	1,8	149,7±0,4*	3,2
IL-10	62,7±0,25*		45,6±0,13*	
Группа животных с клиническим маститом				
IL-1β	424,6±0,45*	2,5	128,2±0,21*	2,6
IL-10	171,5±0,23*		49,1±0,18*	

Примечание: * $p < 0,05$ – степень достоверности.

ВЫВОДЫ/ CONCLUSION

В исследуемых пробах были выделены и идентифицированы бактериологическим методом ассоциации бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, видовое разнообразие включало в себя *Escherichia coli* и *Serratia marcescens*. Концентрации IL-1 β и IL-10 можно рассматривать как информативный биомаркер при оценке тяжести течения процесса. Согласно полученным данным, при соотношении IL-1 β / IL-10 в молоке 1,8 и более раз инфекционные маститы у лактирующих коров приобретают хронические рецидивирующие течения.

В ходе исследования было установлено, что концентрация IL-1 β в молоке здоровых животных превышает концентрацию IL-1 β в молоке животных с субклиническим маститом в 1,1 раза. Данное превышение может объясняться наличием местных воспалительных процессов молочной железы исследуемых коров неинфекционной этиологии. В сыворотке крови здоровых коров, концентрация IL-1 β незначительно превышает концентрацию IL-1 β в сыворотке крови коров с клиническим маститом в 1,04 раз, что может быть связано с погрешностью проводимых измерений.

Таким образом, наши данные могут

отличаться от данных других авторов из-за вышеупомянутой комбинации факторов. Ограничения нашего исследования связаны с относительно небольшим количеством образцов, однако, наши результаты подтверждают участие всей иммунной системы коров для защиты от бактерий локально в вымени, а также системно в макроорганизме. Определение концентрации цитокинов и их соотношений IL-1 β / IL-10 в молоке является перспективным диагностическим инструментом, что сигнализирует о необходимости улучшения контроля за здоровьем животных и качеством молочной продукции.

INTERLEUKINS IL-1 β AND IL-10 AS BIOMARKERS FOR ASSESSING THE SEVERITY OF THE INFLAMMATORY PROCESS IN INFECTIOUS MASTITIS OF COWS

Pavlova V.S. – 5th year student, 13th group, Faculty of Veterinary Medicine; **Komarov M.V.** – graduate student. Department of Microbiology, Virology and Immunology; **Makavchik S.A.** – Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Microbiology, Virology and Immunology; **Avdeenko V.S.** – Doctor of Veterinary Sciences, Professor of the Department of Department of

Genetic and Reproductive Biotechnologies
St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

*groza81@mail.ru

Funding. The study was supported by the grant of the Russian Science Foundation No. 23-26-00284, <https://rsct.ru/project/23-25-00284/>

ABSTRACT.

Infectious mastitis in lactating cows is a common disease causing significant economic damage. When studying the problem of infectious mastitis, the greatest interest is in assessing changes in the immunological parameters of milk and blood of cows during the occurrence and development of the inflammatory process in the udder, which is necessary to predict the further course of the disease. Timely diagnosis and prediction of the course of the inflammatory process during infectious mastitis can significantly reduce the economic damage caused. The purpose of the study is to study interleukin 1 β and interleukin 10 and their ratio as diagnostic biomarkers for assessing the severity of infectious mastitis. Analysis of the literature data and the data we obtained during the study revealed that the concentration of interleukin 1 β and interleukin 10 in cow's milk can serve as a biomarker for assessing the severity of infectious mastitis. To conduct the research, three groups of lactating cows were formed. Each group included 4 animals, the groups were formed depending on the form of infectious mastitis - a group of healthy cows, cows with subclinical and cows with clinical purulent mastitis. The average concentrations of IL-1 β in the milk of cows with clinical mastitis that we obtained exceed the concentration of IL-1 β in the milk of healthy cows by 3.3 times, and those of cows with subclinical mastitis by 3.7 times. The concentration of IL-10 in milk of cows with subclinical mastitis is 1.2 times higher than that of healthy animals, and the level of cows with clinical mastitis is 2.7 times higher than that of cows with subclinical mastitis. For the first time, data have

been obtained on the possibility of using the IL-1 β /IL-10 ratio to predict the course of infectious mastitis. According to the data obtained, when the IL-1 β /IL-10 ratio in milk is 1.8 or more, infectious mastitis acquires a chronic relapsing course.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Волчегорский, В. И. Оценка клинической тяжести обострений хронических воспалительных заболеваний матки и придатков с использованием порядковой шкалы / В. И. Волчегорский, Е. В. Правдин, Т. В. Узлова // Акушерство и гинекология. – 2012. – № 8-1. – С. 32-39.
2. Гришина, Е. А. Изменение цитокинового статуса лабораторных животных при развитии гельминтозного процесса/ Е.А. Гришина// Актуальные вопросы ветеринарной биологии. - 2017. - №1 (33). – С. 8-12.
3. Зимников, В. И. Иммунологический статус крови клинически здоровых и больных маститом лактирующих коров/ В.И. Зимников, Л.Ю. Сашина, Н.В. Пасько// Генетика и разведение животных. – 2023. - №4. – С. 59-63.
4. Макавчик, С.А. Инфекционные болезни и иммунология животных: учебное пособие /Макавчик С.А., Сухинин А.А., Кузьмин В.А.// Санкт-Петербург, 2024.- 83с.
5. Макавчик, С.А. Лабораторные методы оценки функционирования цитокинов в ветеринарной практике/ Макавчик С.А., Авдеенко В.С., Моисеева К.А., Сафронов Д.И. //Ветеринария, зоотехния и биотехнология. - 2024. - № 4. - С. 34-40.
6. Митрейкин, В. Ф. Цитокины и их роль в развитии типовых патологических процессов /В. Ф. Митрейкин, Н. М. Калинина, С. В. Фабричников, Н. И. Фабричникова/ Изд. СПбГМУ. - 2000. - №2. - 64 с.
7. Серебренникова, С. Н. Интерлейкин-1, интерлейкин-10 в регуляции воспалительного процесса/ С.Н. Серебренникова, И.Ж. Семинский, Н.В. Семенов, Е.В. Гузовская// Сибирский медицинский журнал. - 2012. - №8. – С. 5-6.
8. Смирнова, Л.И. Диагностика ассоциированных колиформных маститов коров в

условиях промышленного комплекса/ Л.И. Смирнова// Интеграция образования, науки и практики, а АПК: Сборник материалов III международной научно-практической конференции, Луганск. - 2023. - №1. - С. 25-44.

9. Abegewi, U.A. Prevalence and risk factors of coliform-associated mastitis and antibiotic resistance of coliforms from lactating dairy cows in North West Cameroon/ U.A. Abegewi, S.N. Esemu, R.N. Ndip, L.M. Ndip// PLoS One. - 2022. - №26. - P. 27-32.

10. Giagu, A. Milk proteins as mastitis markers in dairy ruminants - a systematic review/ M. Penati, S. Traini, S. Dore, M.F. Addis// Vet Res Commun. - 2022. - №46(2). - P. 329-351.

11. Chaisri, W. Variation in Interleukin-4, -6, and -10 in Mastitis Milk: Associations with Infections, Pathogens, Somatic Cell Counts, and Oxidative Stress/ Chaisri W, Intanon M, Saipinta D, Srithanasuwan A, Pangprasit N, Jaraja W, Chuasakhonwilai A, Suriyasathaporn W.// Vet Sci. - 2024 №11 (8) - P.350- 358. doi: 10.3390/vetsci11080350.

REFERENCES

1. Volchegorsky, V.I. Assessment of the clinical severity of exacerbations of chronic inflammatory diseases of the uterus and appendages using an ordinal scale / V.I. Volchegorsky, E.V. Pravdin, T.V. Uzlova // Obstetrics and Gynecology. - 2012. - No. 8-1. - pp. 32-39.

2. Grishina, E.A. Changes in the cytokine status of laboratory animals during the development of the helminthic process / E.A. Grishina // Current issues in veterinary biology. - 2017. - No. 1 (33). - P. 8-12.

3. Zimnikov, V.I. Immunological status of the blood of clinically healthy and lactating cows with mastitis/ V.I. Zimnikov, L.Yu. Sashina, N.V. Pasko // Genetics and animal breeding. - 2023. - No. 4. - pp. 59-63.

4. Makavchik, S.A. Infectious diseases and immunology of animals: textbook /

Makavchik S.A., Sukhinin A.A., Kuzmin V.A.// St. Petersburg, 2024.- 83p.

5. Makavchik, S.A. Laboratory methods for assessing the functioning of cytokines in veterinary practice / Makavchik S.A., Avdeenko V.S., Moiseeva K.A., Safronov D.I. //Veterinary, animal science and biotechnology. - 2024. - No. 4. - P. 34-40.

6. Mitreykin, V.F. Cytokines and their role in the development of typical pathological processes /B. F. Mitreikin, N. M. Kalinina, S. V. Fabrichnikov, N. I. Fabrichnikova / Ed. SPbSMU. - 2000. - No. 2. - 64 s.

7. Serebrennikova, S.N. Interleukin-1, interleukin-10 in the regulation of the inflammatory process/ S.N. Serebrennikova, I.Zh. Seminsky, N.V. Semenov, E.V. Guzovskaya // Siberian Medical Journal. - 2012. - No. 8. - P. 5-6.

8. Smirnova, L.I. Diagnosis of associated coliform mastitis of cows in an industrial complex / L.I. Smirnova // Integration of education, science and practice in the agro-industrial complex: Collection of materials of the III international scientific and practical conference, Lugansk. - 2023. - No. 1. - P. 25-44.

9. Abegewi, U.A. Prevalence and risk factors of coliform-associated mastitis and antibiotic resistance of coliforms from lactating dairy cows in North West Cameroon/ U.A. Abegewi, S.N. Esemu, R.N. Ndip, L.M. Ndip// PLoS One. - 2022. - №26. - P. 27-32.

10. Giagu, A. Milk proteins as mastitis markers in dairy ruminants - a systematic review/ M. Penati, S. Traini, S. Dore, M.F. Addis// Vet Res Commun. - 2022. - №46(2). - P. 329-351.

11. Chaisri, W. Variation in Interleukin-4, -6, and -10 in Mastitis Milk: Associations with Infections, Pathogens, Somatic Cell Counts, and Oxidative Stress/ Chaisri W, Intanon M, Saipinta D, Srithanasuwan A, Pangprasit N, Jaraja W, Chuasakhonwilai A, Suriyasathaporn W.// Vet Sci. - 2024 №11(8) - P.350-358. doi: 10.3390/vetsci11080350.