

УДК:619:[612.1:579.873:616.08:578.245]:636.4

DOI: 10.17238/issn2072-2419.2021.3.60

ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ У БОЛЬНЫХ АКТИНОБАЦИЛЛЕЗНОЙ ПЛЕВРОПНЕВМОНИЕЙ ПОРΟΣЯТ И ЕГО КОРРЕКЦИЯ ЦИПРОПИГОМ

Шахов А.Г.- д.вет.н., проф.(ORCID ID 0000-0002-6177-8858), Сашнина Л.Ю.- д.вет. н., гл. науч. сотр.(ORCID ID 000-0001-6477-6156) , Владимирова Ю.Ю.- мл. науч. сотр.(ORCID ID 0000-0001-8888-7264), Адолина М.И.- ст. науч. сотр. (ORCID ID 0000-0002-1791-0866).

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии»

Ключевые слова: поросята, актинобациллезная плевропневмония, ципропиг, энроксил 10%, цитокины. **Keywords:** piglets, actinobacillus pleuropneumonia, tsipropig, enroxil 10%, cytokines.



РЕФЕРАТ

В статье представлены результаты изучения цитокинового профиля у поросят при актинобациллезной плевропневмонии и его коррекция при лечении интерферонсодержащим препаратом. Актинобациллезная плевропневмония наносит значительный экономический ущерб, складывающийся из высокой заболеваемости и смертности поросят, снижения производственных показателей и качества продукции, а также затрат на профилактику и борьбу с инфекцией. Изучение цитокинового профиля, соотношения про- и противовоспалительных цитокинов позволяет получить информацию о тяжести патологического процесса, его переходе на системный уровень, прогнозе, исходе инфекции и оценки эффективности проводимой терапии. Применение иммуномодулирующей терапии оказывает неспецифическое защитное действие от широкого спектра патогенов, основанное на активации иммунной системы. Иммуномодуляторы, избирательно действующие на соответствующий компонент клеточного или гуморального неспецифического иммунитета в той или иной степени изменяют активность всех звеньев иммунной системы. К наиболее перспективным иммунотропным средствам относят иммуномодуляторы интерферонового ряда, применение которых повышает эффективность терапии бактериальных инфекций. Для опыта было сформировано 2 группы больных поросят. Животным первой группы применяли ципропиг в дозе 0,1 мл/кг, второй – энроксил 10% - 0,5 мл/кг. Терапия больных животных ципропигом, содержащим антибиотик ципрофлоксацин, смесь альфа и гамма-интерферонов свиней рекомбинантных, витамины А и Е, сопровождалась снижением концентрации провоспалительных цитокинов-1 β , интерлейкина-2, фактора некроза опухоли- α , γ -интерферона, и их отношения к противовоспалительным медиаторам - интерлейкина-4, интерлейкина-10, свидетельствующие об уменьшении острого воспалительного процесса. Отмеченное снижение соотношения цитокинов, продуцируемых Th-1 и Th-2- лимфоцитами, указывало на активацию гуморального звена иммунной системы за счёт иммуномодулирующего действия интерферонов и антиоксидантной активности витаминов.

ВВЕДЕНИЕ

Актинобациллезная плевропневмония свиней относится к наиболее значимым в экономическом и эпизоотическом отно-

шении бактериальным инфекциям для промышленных комплексов [15].

Ведущая роль в патогенезе бактериальных инфекций, сопровождающихся пора-

жением органов дыхания и пищеварения, принадлежит цитокинам, концентрация и соотношение которых в сыворотке крови являются отражением иммунных реакций и могут использоваться для проведения дифференциальной диагностики ряда инфекционных болезней, прогноза тяжести иммунопатологических процессов, исхода инфекции и оценки эффективности проводимой терапии [1, 2, 13, 16].

Ответ системы цитокинов при актинобациллезной плевропневмонии у поросят мало изучен, что делает актуальными его дальнейшие исследования

Известно, что развитие многих патологических процессов, в том числе инфекционно-воспалительных сопровождается нарушениями функционирования иммунной системы организма [9, 12], поэтому в лечении инфекционных болезней необходимо комплексное применение этиотропных и иммунокорректирующих средств [14].

Среди иммуномодулирующих препаратов наиболее перспективными являются интерфероны, которые обладают широким спектром биологической активности, включая иммуномодулирующий, противовирусный и антибактериальный эффекты, и являются важнейшими факторами врожденного и адаптивного иммунитета, регулирующими взаимодействие главных интегративных систем организма – нервной, иммунной и эндокринной [4, 11, 16].

Включение интерферонов в состав комплексных лекарственных средств наряду с антимикробными составляющими обеспечивает усиление антибактериального эффекта и нейтрализует негативное воздействие на иммунную систему [6].

Одним из таких препаратов является ципропиг (производитель ООО «Научно-производственный Центр» ПроБиоТех, республика Беларусь), содержащий в своём составе антибиотик группы фторхинолонов - цiproфлоксацин, обладающий широким спектром антимикробного действия; смесь альфа- и гамма- интерферонов свиных рекомбинантных, оказывающих иммуномодулирующее, противовоспалительное и противовирусное дей-

ствие; витамины А и Е, повышающие антиоксидантный статус организма.

Цель исследований - изучить цитокиновый профиль у больных актинобациллезной плевропневмонией поросят до и после лечения их ципропигом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведены в условиях промышленного свиноводческого комплекса Тамбовской области, неблагополучного по актинобациллезной плевропневмонии.

Для опыта по принципу аналогов были сформированы 2 группы больных поросят в возрасте 50-55 дней. Животных содержали в одной секции в условиях, общепринятых на свиноводческом комплексе.

Респираторную патологию у поросят диагностировали в соответствии с «Методическим пособием по диагностике, профилактике и терапии респираторных болезней поросят» [10].

Этиологию респираторных инфекций устанавливали на основании результатов бактериологических и молекулярно-биологических (ПЦР) исследований патологического материала (лёгкие, бронхиальные лимфатические узлы).

Животным первой опытной группы (n=16) применяли ципропиг в дозе 0,1мл/кг, второй (n=15) - энроксил 10% - 0,5 мл/10 кг. Препараты вводили один раз в сутки внутримышечно до клинического выздоровления. От 5 животных каждой группы до применения препаратов и спустя 15 дней после их выздоровления брали кровь для проведения иммунологических исследований.

Бактериологические исследования проводили общепринятыми методами [7], молекулярно-биологические - методом ПЦР с применением соответствующих утвержденных тест-систем.

В сыворотке крови поросят определяли содержание интерлейкина - 1 β (IL-1 β), интерлейкина – 2 (IL-2), интерлейкина – 4 (IL-4), интерлейкина – 10 (IL-10), фактора некроза опухоли- α (TFN- α), γ – интерферона (IFN- γ) методом иммуноферментного анализа (ИФА) с последующим учётом результатов на спектрофотометре «Униплан – ТМ» в соответствии с утвер-

Таблица

Цитокиновый профиль у поросят

Показатели	Фон	Группы животных	
		опытная	контрольная
IL-1 β (пг/мл)	8,2 $\pm$ 0,55	6,4 $\pm$ 0,39*	7,5 $\pm$ 0,48
IL-2 (пг/мл)	7,5 $\pm$ 0,24	5,5 $\pm$ 0,27***++	6,8 $\pm$ 0,04*
IL-4 (пг/мл)	12,6 $\pm$ 0,79	14,3 $\pm$ 1,09 ⁺	12,1 $\pm$ 0,39
IL-10 (пг/мл)	8,9 $\pm$ 0,25	7,7 $\pm$ 0,45*	8,0 $\pm$ 0,36*
TNF- α (пг/мл)	3,0 $\pm$ 0,08	2,8 $\pm$ 0,14	2,7 $\pm$ 0,07*
IFN- γ (пг/мл)	118,3 $\pm$ 1,09	95,9 $\pm$ 3,6***	99,9 $\pm$ 3,40***
IL-1 β / IL-4	0,65 $\pm$ 0,044	0,47 $\pm$ 0,040***+	0,62 $\pm$ 0,052
IL-1 β / IL-10	0,91 $\pm$ 0,039	0,85 $\pm$ 0,054	0,94 $\pm$ 0,083
IL-2/ IL-4	0,60 $\pm$ 0,024	0,38 $\pm$ 0,021***++	0,56 $\pm$ 0,032
IL-2/ IL-10	0,84 $\pm$ 0,034	0,71 $\pm$ 0,038*	0,85 $\pm$ 0,067
IFN- γ / IL-4	9,5 $\pm$ 0,69	6,95 $\pm$ 0,79*	8,29 $\pm$ 0,28
IFN- γ / IL-10	13,5 $\pm$ 0,75	12,6 $\pm$ 0,64	12,4 $\pm$ 0,58
TFN- α / IL-4	0,24 $\pm$ 0,013	0,20 $\pm$ 0,017	0,22 $\pm$ 0,009
TFN- α / IL-10	0,37 $\pm$ 0,015	0,35 $\pm$ 0,019	0,33 $\pm$ 0,012*
ОЦИ	3,18 $\pm$ 0,18	1,26 $\pm$ 0,05***+	1,45 $\pm$ 0,07***
ЦИ Th1/Th2	6,0 $\pm$ 0,2	4,7 $\pm$ 0,07***++	5,4 $\pm$ 0,09**

Примечание: * $P < 0,05$; ** $P < 0,001$; *** $P < 0,0001$ относительно показателей фона;
⁺ $P < 0,05$; ⁺⁺ $P < 0,001$; ⁺⁺⁺ $P < 0,0001$ относительно показателей контрольной группы

женными наставлениями к диагностическим наборам. Для оценки баланса про- и противовоспалительных цитокинов были подсчитаны цитокиновые индексы: отношения провоспалительных цитокинов к противовоспалительным медиаторам IL-1 β / IL-4, IL-1 β / IL-10, IL-2/ IL-4, IL-2/ IL-10, IFN- γ / IL-4, IFN- γ / IL-10, TFN- α / IL-4 и TFN- α / IL-10, общее соотношение про- и противовоспалительных цитокинов (ОЦИ), и отношение медиаторов, продуцируемых Th-1 и Th-2 клетками (ЦИ Th-1/Th-2) [2].

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы Statistica v6.1, оценку достоверности отличий по t-критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У поросят в острой фазе болезни регистрировали лихорадку, учащенное поверхностное дыхание, одышку, болезненный кашель, снижение аппетита, повышение температуры тела до 40,5-41,0 °С.

При бактериологическом исследовании патологического материала от убитых с диагностической целью больных

пневмонией поросят была выделена *Actinobacillus pleuropneumoniae*, а молекулярно-биологическом – обнаружен геном возбудителя инфекции.

При изучении цитокинового профиля у больных актинобациллезной плевропневмонией поросят установлено высокое содержание в крови провоспалительных цитокинов - IL-1 β , IL-2, TFN- α и IFN- γ , стимулирующих клеточный иммунитет, противовоспалительного интерлейкина IL-10, характерное для инфекционно-воспалительных заболеваний, а также относительно низкое количество IL-4, индуцирующего гуморальный иммунитет [2].

Отношения провоспалительных цитокинов к противовоспалительным медиаторам IL-1 β / IL-4, IL-1 β / IL-10, IL-2/ IL-4, IL-2/ IL-10, IFN- γ / IL-4, IFN- γ / IL-10, TFN- α / IL-4 и TFN- α / IL-10 были высокими. Общий цитокиновый индекс, как и отношение про- и противовоспалительных медиаторов, продуцируемых Th-1 и Th-2 клетками, также были высокими, что указывало на наличие у животных остро-

го воспалительного процесса (табл.). Терапия больных животных ципропигом сопровождалась достоверным повышением количества IL-4 на 13,5%, стимулирующего гуморальный иммунитет, снижением содержания провоспалительного цитокина IL-1 β на 22,0% и его отношения к противовоспалительным интерлейкинам IL-4 на 38,3% и IL-10 на 7,1%, уровень которого уменьшился на 15,6%. У них же регистрировали снижение концентрации IL-2 на 26,7% и отношения к указанному противовоспалительному цитокину на 57,9 и 18,3% соответственно.

Аналогичная динамика отмечена и в изменении уровня других провоспалительных цитокинов. Содержание TNF- α снизилось на 7,1% и его отношение к IL-4 и IL-10 на 20,0% и 5,4%, а количество IFN- γ на 23,4; 36,7% и 6,7% соответственно. Под влиянием препарата общее соотношение про- и противовоспалительных цитокинов у поросят достоверно снизилось в 2,5 раза, что свидетельствует об эффективном этиотропном и иммуномодулирующем действии ципропида.

Снижение у животных опытной группы отношения цитокинов, продуцируемых Th-1 и Th-2 лимфоцитами, на 27,7% связано с активацией гуморального звена иммунной системы.

Терапия поросят энроксил-10 также сказалась на их цитокиновом профиле. У животных после лечения регистрировали снижение уровня провоспалительного цитокина IL-1 β на 9,3% и его отношения к противовоспалительному медиатору IL-4 на 4,8%, которое к IL-10 имело тенденцию к повышению на 3,3%, при этом содержание противовоспалительных цитокинов у них уменьшилось на 4,1 и 11,3% соответственно.

Количество IL-2 и его отношение к противовоспалительному цитокину IL-4 снизились на 10,3 и 7,1%, а к IL-10 практически не изменилось.

Концентрации провоспалительных цитокинов TNF- α и IFN- γ уменьшились на 11,0 и 18,4%, как и их отношения к IL-4 и IL-10 на 9,1 и 12,1% и на 14,6 и 8,9% соответственно.

Под влиянием энроксил-10 общее соотношение про- и противовоспалительных цитокинов снизилось в 2,2 раза, что свидетельствует об этиотропном действии препарата и оптимизации иммунного статуса у животных вследствие их выздоровления.

Снижение у животных контрольной группы отношения цитокинов, продуцируемых Th-1 и Th-2 клетками на 11,1%, указывает на активацию гуморального звена иммунной системы.

Сравнивая цитокиновый профиль у поросят опытной и контрольной групп после лечения, следует отметить, что ципропиг оказал более выраженное корригирующее действие, чем энроксил-10.

Применение интерферонсодержащего препарата сопровождалось более существенным снижением количества провоспалительных цитокинов IL-1 β на 17,2%, IL-2 на 23,6, отношения их к противовоспалительным медиаторам IL-4 на 31,9 и 47,4% и к IL-10 на 10,6 и 19,7% соответственно, а также отношений IFN- γ и TNF- α к IL-4 на 16,2 и 10,0%. Снижение общего отношения провоспалительных цитокинов к противовоспалительным медиаторам у животных опытной группы было более существенным (на 15,1%), также как и отношения цитокинов, продуцируемых Th-1 и Th-2 лимфоцитами на 14,9%, свидетельствующего о выраженной активации у них гуморального звена иммунной системы.

Преимущественное положительное влияние ципропида на иммунный статус больных актинобациллёзной плевропневмонией поросят обусловлено наличием в его составе рекомбинантных альфа- и гамма интерферонов и витаминов А и Е.

Интерферон- α повышает активность естественных киллеров, Т-хелперов, фагоцитов, интенсивность дифференцировки В-лимфоцитов [8,14].

Интерферон- γ , являющийся регулятором иммунных реакций, активирует макрофаги, цитотоксические Т-лимфоциты, натуральные киллеры, простогландиновую и кортикостероидные системы [8, 12].

Витамины А и Е оказывают антиоксидантное действие на клетки иммунной системы, положительно влияют на неспецифические и специфические звенья иммунитета, регулируют экспрессию генов рецепторов плазматической мембраны и ядерных рецепторов, активацию лимфоцитов и прохождение клеточного цикла [3].

ВЫВОДЫ

Проведенными исследованиями у поросят при актинобациллезной плевропневмонии установлены высокие концентрации провоспалительных цитокинов и отношения их к противовоспалительным медиаторам, а также соотношение цитокинов, продуцируемых Th-1 и Th-2-лимфоцитами, свидетельствующие о развитии острого воспалительного процесса, которые снижаются под влиянием лечебных препаратов до уровня таковых у клинически здоровых животных, особенно после применения ципропига, обладающего выраженной антимикробной и иммуномодулирующей активностью и повышающего антиоксидантный статус организма.

CYTOKINE PROFILE IN PIGLETS WITH ACTINOBACILLUS PLEURO-PNEUMONIA AND ITS CORRECTION WITH TSIPROPIG

Shakhov A.G., Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Sashnina L.Yu., Doctor of Veterinary Sciences, Chief Scientific Associate, Vladimirova Yu.Yu., Junior Scientific Associate, Adodina M.I., Senior Scientific Associate.

FSBSI "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy"

ABSTRACT

The article presents the results of studying the cytokine profile in piglets with actinobacillus pleuropneumonia and its correction with an interferon-containing drug during treatment. Actinobacillus pleuropneumoniae causes significant economic damage, resulting from high morbidity and mortality of piglets, reduced production indicators and product quality, as well as the cost of prevention and control of infection. The study of the cytokine profile, the ratio of pro- and

anti-inflammatory cytokines provides information on the severity of the pathological process, its transition to the systemic level, prognosis, outcome of infection and assessment of the efficacy of therapy. The use of immunomodulatory therapy has a nonspecific protective effect against a wide range of pathogens, based on the activation of the immune system. Immunomodulators, selectively affecting the corresponding component of cellular or humoral nonspecific immunity, to varying degrees, change the activity of all links of the immune system. The most promising immunotropic drugs include interferon immunomodulators, the use of which increases the efficacy of therapy for bacterial infections. For the experiment, 2 groups of sick piglets were formed. The animals of the first group were administered tsipropig at a dose of 0.1 ml/kg, the animals of the second group were administered enroxil 10% at a dose of 0.5 ml/kg. Therapy of sick animals with tsipropig, containing the antibiotic ciprofloxacin, a mixture of recombinant porcine interferons -alpha and -gamma, vitamins A and E, was accompanied by a decrease in the concentration of pro-inflammatory cytokines- 1β , interleukin-2, tumor necrosis factor- α , interferon- γ , and their ratio to anti-inflammatory mediators - interleukin-4, interleukin-10, indicating a decrease in the acute inflammatory process. The registered decrease in the ratio of cytokines produced by Th-1 and Th-2 lymphocytes indicated the activation of the humoral link of the immune system due to the immunomodulatory effect of interferons and the antioxidant activity of vitamins.

ЛИТЕРАТУРА

1. Железникова Г.Ф. Цитокины как предикторы течения и исхода инфекций / Г.Ф. Железникова // Цитокины и воспаление.-2009.-Т.8.-№ 1.- С.10-17.
2. Маркелова Е.В. Патогенетическая роль нарушений в системе цитокинов при инфекционно-воспалительных заболеваниях/ Е.В. Маркелова, А. В. Костюшко, В.Е. Красников//Тихоокеанский медицинский журнал.- 2008.-№3.-С.24-29
3. Мартынова Е.А. Роль питания в поддержании функциональной активности им-

- мунной системы и развитии полноценного иммунного ответа/ Е.А. Мартынова, И.А. Морозов // Мат. XVI сессии академ. школы-семинара им. А. М. Уголева «Современные проблемы физиологии и патологии пищеварения».-2001.-Т. XI.-№4.-С.28-38.
- 4.Наровлянский А.Н. Интерфероны: Перспективные направления исследований/ А.Н. Наровлянский, Ф.И. Ершов, А.Л. Гинцбург// Иммунология.-2013.- №4.-С.168-172.
- 5.Притулина Ю.Г. Анализ цитокинового статуса при ряде инфекционных заболеваний/ Ю.Г. Притулина, И.В. Криворучко, В.В. Шенцова [и др.]// Успехи современного естествознания.-2014.-№2.-С.16-20.
- 6.Прокулевич В. А. Ветеринарные препараты на основе интерферона/В.А. Прокулевич, М. И. Потапович// Вестник БГУ сер. 2.- 2011.- №3.- с. 51-55.
- 7.Сидоров М. А. Определитель зоопатогенных микроорганизмов/М. А. Сидоров, Д.И. Скородумов, В.Б. Федотов//М.: Колос.- 1995.-318 с.
- 8.Сологуб Т.В. Интерферон гамма-цитокин с противовирусной, иммуномодулирующей и противоопухолевой активностью/ Т.В.Сологуб, В.В.Цветков, Э.Г.Деева//Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова.-2014.-Т. 22.-№ 3.-С.56-60.
- 9.Федоров Ю.Н. Стратегия и принципы иммунокоррекции и иммуномодулирующей терапии/ Ю.Н. Федоров, В.И. Клюкина, М.Н. Романенко [и др.]// Вестник Новгородского государственного университета.- 2015.-№86.-С. 84-87
- 10.Шахов А.Г. Методическое пособие по диагностике, профилактике и терапии респираторных болезней поросят/ А.Г. Шахов, Л.Ю. Сашнина, Д.В. Федосов [и др.]// Воронеж.-2010.-62 с.
- 11.Шахов А.Г. Применение цитокинов и их индукторов молодняку сельскохозяйственных животных/ А.Г. Шахов, Л.Ю. Сашнина, Ю.Ю. Владимирова [и др.]// Ветеринарная патология.-2019.-№2.-С.70-78.
- 12.Шахов А.Г. Цитокиновый профиль у поросят в норме и при респираторной вирусной инфекции / А. Г. Шахов, Л. Ю. Сашнина, Ю. Ю. Владимирова, М. И. Адодина // Ветеринарный фармакологический вестник. – 2021. – № 1(14). – С. 88-95. – DOI 10.17238/issn2541-8203.2021.1.88.
- 13.Abdulhafedh A. The role of streptococcus and cytokines in the diagnosis of inflammatory diseases of the upper respiratory tract/ A. Abdulhafedh., A. Kuzniatsou// «Актуальные научные исследования в современном мире» ISCIENCE.IN.UA.-2011-B.5(61).-Ч.9.-С.18-24
- 14.Harrison, G. Type I interferon genes from the egg-laying mammal, Tachyglossus aculeatus (short-beaked echidna)/ G. Harrison, K.A. McNicol, E.M. Deane//Immunology and Cell Biology.-2004.-Vol.82.-P.112-118.
- 15.Martelli P. Respiratory diseases of pigs/ P.Martelli, H.Segalis// Saragosa.Spain. SER-VET.-2019.-130 с.