


## ХІРУРГІЯ ТА АНЕСТЕЗІОЛОГІЯ

УДК 636.2.09:617.57/58-002.3:612.017

## Цитокинові профілі у здорових тварин і у корів з гнійно-некротичними процесами кінцівок

Мельніков В.В., Рубленко М.В. , Ільницький М.Г. 

Білоцерківський національний аграрний університет

 E-mail: anatomii@ukr.net

Мельніков В.В., Рубленко М.В., Ільницький М.Г. Цитокинові профілі у здорових тварин і у корів з гнійно-некротичними процесами кінцівок. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2022. № 2. С. 111–119.

Melnikov V., Rublenko M., Ilnitskyi M. Cytokine profiles in healthy animals and in cows with purulent-necrotic limb processes. *Nauk. visn. vet. med.*, 2022. № 2. PP. 111–119.

Рукопис отримано: 06.10.2022 р.

Прийнято: 19.10.2022 р.

Затверджено до друку: 27.12.2022 р.

Doi: 10.33245/2310-4902-2022-176-2-111-119

Однією із типових реакцій організму на травму чи інфекційні агенти за пошкодження будь-яких тканин і органів є реакція гострої фази, яка являє собою індуковане посилення синтезу з наступним збільшенням у крові і тканинах низки білків з імунологічними, бактеріцидними, антиоксидантними та інгібіторними властивостями.

Мета дослідження – встановлення рівнів цитокинів у клінічно здорових корів, свиней і собак, а також у корів з гнійно-некротичними процесами кінцівок.

Рівні прозапальних цитокинів та протизапального ІЛ-10 визначали у сироватці крові корів, свиней та собак. Корів з гнійно-некротичними ураженнями кінцівок (n=26) розділили: 1 група (n=8) – гостра форма гнійно-некротичних уражень дистальних кінцівок; 2 група (n=8) – генералізовані ураження; 3 група (n=10) – рецидивуючі вогнища у ділянці пальців. Імуноферментним методом визначали вміст у сироватці крові інтерлейкінів ФНП-α, ІЛ-1β та ІЛ-10 відповідно до стандартного протоколу.

Встановлено, що рівні у крові прозапальних ФНП-α та ІЛ-1β у клінічно здорових корів значно менші, ніж протизапального ІЛ-10, за співвідношення ІЛ-10:ФНП-α – 3,3:1, та ІЛ-10: ІЛ-1β – 9,5:1, тому для великої рогатої худоби за фізіологічної норми притаманний протизапальний цитокиновий профіль.

У клінічно здорових свиней протизапальний цитокиновий профіль виявився найбільш вираженим, оскільки цитокинові індекси в них були значно більші: ІЛ-10: ФНП-α – 19,4:1; ІЛ-10:ІЛ-1β – 13,9:1.

У крові клінічно здорових собак цитокинові індекси між ІЛ-10:ІЛ-1β надзвичайно низькі – 1,5:1, ще меншим ФНП-α: ІЛ-1β – 0,2:1, а між ІЛ-10:ФНП-α – 8,8:1, а тому за сукупністю цитокинових індексів протизапальний цитокиновий профіль значно нижчий.

У корів з гострою формою некробактеріозу рівень у крові ФНП-α, порівнюючи з клінічно здоровими тваринами, більший у 5,6 раза (P<0,001), а ІЛ-1β – в 3,4 раза (P<0,001), за зростання їх індекса в 1,7 раза, до 4,9:1. За таких умов рівень ІЛ-10 збільшується лише в 1,8 раза (p<0,05).

Для тварин з генералізованою формою характерним є критичне збільшення рівня в крові ФНП-α у 16,8 раза, та в 17,8 раза (p<0,001) ІЛ-1β, тимчасом рівень ІЛ-10 залишається незмінним порівняно з гострою формою. Цитокиновий індекс ІЛ-10:ФНП-α набуває критичного значення – 0,4:1, а ІЛ-10 до ІЛ-1β – 1:1. У тварин з рецидивуючими ураженнями характерними є низькі рівні ІЛ-1β, особливо ІЛ-10. Однак концентрація ФНП-α залишається досить великою і переважає показник норми в 12,6 раза (p<0,001).

Отже, різні клінічні форми некробактеріозних уражень кінцівок у корів мають компенсаторний чи некомпенсаторний прояв цитокинемії, з дисбалансом функціональності гострофазних білків унаслідок недостатньої ємності інгібіторного потенціалу хворих корів.

**Ключові слова:** корови, свині, собаки, цитокіни, сироватка, клінічно здорові тварини, запалення.

**Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень і публікацій.** Однією із типових реакцій організму на травму чи інфекційні агенти за пошкодження будь-яких тканин і органів є реакція гострої фази, яка являє собою індуковане посилення синтезу з наступним збільшенням у крові і тканинах низки білків з імунологічними, бактерицидними, антиоксидантними та інгібіторними властивостями [1].

Важливе значення в процесі розвитку запальної та імунної реактивності мають цитокіни. Вони є розчинними молекулами, що слугують медіаторами міжклітинних взаємодій у процесі імунної відповіді. Цитокіни регулюють проліферацію, диференціацію і функції клітин крові [2]. До основних продуцентів цитокінів належать Т-клітини і „запальні” макрофаги, а також інші види лейкоцитів, ендотеліоцити, тромбоцити та стромальні клітини [2, 3]. Ці білки діють переважно у вогнищі запалення і в зоні реагуючих лімфоїдних органів. Однак за вираженої запальної реакції деякі види цитокінів – ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1, ІЛ-10 можуть концентруватися в крові в достатній кількості для реалізації своїх довгодистантних ефектів. Вони разом з іншими ендокринними факторами сприяють розвитку запальної реактивності системного рівня [4].

Перша стадія системної запальної реакції характеризується продукцією прозапальних медіаторів, які обмежують вогнище пошкодження, руйнують уражені тканини та мікроорганізми, що потрапили в зону запалення. До них відносять – ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-15 та інші. Компенсаторний механізм викиду антизапальних субстанцій (ІЛ-4, ІЛ-10, ІЛ-11, ІЛ-13 тощо), спрямований на обмеження можливої пошкоджуючої дії прозапальних медіаторів [5, 6].

На другій стадії відбувається викид незначної кількості медіаторів у системний кровоток, які здатні активізувати макрофаги, тромбоцити і продукцію гормону росту. Подальший розвиток гострофазної реакції контролюється прозапальними медіаторами і їх ендогенними антагоністами, такими як антагоністи ІЛ-1, ІЛ-10, ІЛ-13, ФНП- $\alpha$ . Завдяки балансу між цитокінами створюються передумови для загоєння ран, знищення патогенних мікроорганізмів, підтримки гомеостазу [7].

Третя стадія характеризується генералізацією запальної реакції. Вона проявляється в домінуванні деструктивних ефектів прозапальних цитокінів і інших медіаторів над гуморальними і нейрогуморальними агентами прозапальної фази. Ці процеси запускаються лише у випадку неспроможності регулюючих систем підтримувати гомеостаз, що призво-

дить до формування віддалених осередків запалення і розвитку моно- і поліорганної дисфункції [7, 8].

За четвертої стадії розвитку компенсаторної протизапальної реакції виникає викид у системний кровоток каскадів протизапальних цитокінів ІЛ-10 і ІЛ-4. Завдяки їм пригнічується секреція макрофагами медіаторів прозапальної фази. Надлишкова, внаслідок грубої дисрегуляції продукція медіаторів антизапальної фази отримала назву „синдром компенсаторної антизапальної відповіді” (CARS–КАЗВ). Основною ознакою якого є зниження (менше 30 % активності) поверхневого комплексу рецепторів моноцитів здатності продукувати ФНП- $\alpha$  і ІЛ-6 у відповідь на пошкодження. Цей синдром є причиною розвитку імунодефіцитного стану, що супроводжується високою вірогідністю прогресування інфекційного процесу або виникнення тяжкої суперінфекції [8, 9].

П’ята стадія – поліорганного пошкодження. Характерна вона розвитком синдрому імунного дисонансу, який проявляється абсолютним дисбалансом в усіх ланках імунної відповіді організму, суттєво збільшуючи ризики несприятливого наслідку [8].

Загалом у гуманній медицині наявна значна кількість робіт [10–15], у яких розглядають значення цитокінів з позицій клініко-патогенетичних критеріїв конкретних нозологічних груп і форм хірургічної патології та інфекції. Водночас як у вітчизняній [16–18], так і зарубіжній [19–24] ветеринарній медицині вони поки що поодинокі.

**Мета дослідження** – встановлення рівнів цитокінів у клінічно здорових корів, свиней і собак, а також у корів з гнійно-некротичними процесами кінцівок.

**Матеріал та методи дослідження. Дизайн дослідження.** Рівні прозапальних цитокінів та протизапального ІЛ-10 визначали у сироватці крові різних видів клінічно здорових тварин, які мають певні клініко-патоморфологічні відмінності у перебігу запальної реакції – корови, свині та собаки. Кожну із цих груп утримували в типових умовах, що здебільшого характерно для північно-центрального регіону країни. Корів 1–1,5 міс. після отелення (n=12) утримували за безприв’язною технологією на молочно-товарній фермі навчально-наукового виробничого центру Білоцерківського НАУ. Корів із цієї ж ферми з гнійно-некротичними ураженнями кінцівок (n=26) розділили на групи з різними клінічними формами: 1 група (n=8) – гостра форма гнійно-некротичних уражень дистальних кінцівок; 2 група (n=8) – генералізовані ураження з локалізацією гній-

но-некротичних вогнищ у міжпальцевому склепінні, латеральній поверхні заплесневого суглоба і ділянки стегна; 3 група (n=10) – рецидивуючі вогнища у ділянці пальців. Кров для дослідження у корів відбирали із яремної вени у серпні.

У клінічно здорових свиней віком 6–7 міс. (n=10), кров відбирали із венозного очного синуса в жовтні. Цих тварин утримували в типових приміщеннях на свинофермі НВЦ БНАУ.

Кров у собак (n=15), які надходили в клініку дрібних домашніх тварин факультету ветмедицини БНАУ для проведення планової вакцинації, віком 1–2 роки середніх і крупних порід відбирали в період вересня – жовтня.

Дослідження проводили відповідно до вимог IV Європейської конвенції [25] „Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей” (Страсбург, 1986) та Закону України «Про захист тварин від жорсткого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006 р.).

**Визначення цитокінових профілів.** Імуноферментним методом визначали вміст у сироватці крові інтерлейкінів ФНП-α, ІЛ-1β та ІЛ-10 відповідно до стандартного протоколу з певними модифікаціями [Crowther J. R. The ELISA

Guidebook. Humana Press Inc. 2001. 446 p.]. Заразом вираховували цитокінові індекси – співвідношення протизапального ІЛ-10 до прозапальних та ФНП-α до ІЛ-1β.

**Статистична обробка результатів.** Результати досліджень подані у вигляді таблиць та оброблені за допомогою загальноприйнятих методів варіаційної статистики на персональному комп’ютері з використанням програми MS Excel.

**Результати дослідження.** Встановлено (табл. 1), що рівень у крові прозапального ФНП-α у клінічно здорових корів становив 2,8±0,27 пг/мл, а протизапального ІЛ-10 був значно вищим – 9,2±0,51 пг/мл, (p<0,001) за співвідношення ІЛ-10:ФНП-α– 3,3:1. Водночас рівень іншого прозапального цитокіна ІЛ-1β виявився в 2,9 рази (p<0,001) меншим, ніж ФНП-α, а співвідношення ІЛ-10:ІЛ-1β склало 9,5:1 (табл. 2).

Водночас співвідношення між рівнями прозапальних цитокінів ФНП-α і ІЛ-1β становило лише 2,9:1. Тобто для великої рогатої худоби за фізіологічної норми притаманний протизапальний цитокіновий профіль, а співвідношення прозапальних цитокінів свідчить про головне значення ФНП-α.

Таблиця 1 – Цитокіновий профіль у клінічно здорових великої рогатої худоби, свиней і собак

Статистичний показник	ФНП-α, пг/мл	ІЛ-1β, пг/мл	ІЛ-10, пг/мл
Клінічно здорові корови (1–1,5 міс. після отелення) n=12			
Min–Max	1,9–4,87	0,52–1,4	7,11–11,75
M±m	2,8±0,27	0,97±0,09	9,2±0,51
Клінічно здорові свині n=10, вік 6–7 міс.			
Min–Max	0,89–1,3	0,91–1,9	18,2–20,57
M±m	1,0±0,04	1,4±0,12	19,4±0,28
Клінічно здорові собаки n=15, вік 1–2 роки			
Min–Max	1,50–2,20	7,84–15,79	11,09–23,75
M±m	1,9±0,05	11,0±0,64	16,8±0,89

Таблиця 2 – Цитокінові індекси у клінічно здорових тварин

ІЛ-10: ФНП-α	ІЛ-10:ІЛ-1β	ФНП-α:ІЛ-1β
Клінічно здорові корови (1–1,5 міс. після отелення) n=12		
3,3:1	9,5:1	2,9:1
Клінічно здорові свині n=10, вік 6–7 міс.		
19,4:1	13,9:1	0,7:1
Клінічно здорові собаки n=12, вік 1–2 роки		
8,8:1	1,5:1	0,2:1

У клінічно здорових свиней (n=10) ситуація подібна. Зокрема, рівень ІЛ-10 у них виявився у 2,1 раза (p<0,001) вищим, ніж у корів, а ФНП-α навпаки, у 2,8 раза (p<0,001) меншим. Також вищим, ніж у корів, був рівень ІЛ-1β – в 1,4 раза (p<0,001). Причому в свиней протизапальний профіль цитокінів виявився найбільш вираженим, оскільки цитокінові індекси в них досягали значно більших значень: ІЛ-10:ФНП-α – 19,4:1; ІЛ-10:ІЛ-1β – 13,9:1. Однак у свиней за прозапальним цитокіновим індексом 0,7:1 (у корів – 2,9:1) головним серед прозапальних цитокінів є ІЛ-1β.

Концентрація у крові клінічно здорових собак прозапального цитокіну ФНП-α становила 1,9±0,05 пг/мл, одночасно рівень протизапального ІЛ-10 як і у корів та свиней був значно вищим – 16,8±0,89 пг/мл. Цитокіновий індекс між ІЛ-10 і ІЛ-1β в них мав невелике значення – 1,5:1. Ще меншим у собак виявився індекс між ФНП-α і ІЛ-1β, який становив 0,2:1, між ІЛ-10 і ФНП-α – найвищим, 8,8:1. Тобто у собак за фізіологічної норми за сукупністю цитокінових індексів протизапальний цитокіновий

профіль значно нижчий, а серед прозапальних цитокінів превалюючим є значення ІЛ-1β.

У корів з гострим перебігом гнійно-некротичного запального процесу в ділянці пальців (n=8) різко збільшуються концентрації ФНП-α (табл. 3), порівняно з клінічно здоровими тваринами, в 5,6 раза (P<0,001), а ІЛ-1β – в 3,4 раза (P<0,001), за зростання їх індекса в 1,7 раза, до 4,9:1. Водночас рівень протизапального цитокіна ІЛ-10 збільшується лише в 1,8 раза (p<0,05). Відповідно цитокінові індекси, які відображають співвідношення ІЛ-10 з прозапальними цитокінами, зменшуються в 1,8–3 рази (табл. 4).

Розвиток генералізованої форми некробактеріозних уражень у тварин 2-ї групи (n=8) характеризувався критичним збільшенням рівня в крові ФНП-α у 16,8 раза, та в 17,8 раза (p<0,001) ІЛ-1β, тимчасом рівень ІЛ-10 залишався незмінним, порівняно з гострою формою. При цьому цитокіновий індекс ІЛ-10:ФНП-α набув критичного значення – 0,4:1, а ІЛ-10 до ІЛ-1β – 1:1. Водночас співвідношення між прозапальними цитокінами було подібним до клінічно здорових тварин.

Таблиця 3 – Цитокіновий профіль сироватки крові у корів з гнійно-некротичними ураженнями кінцівок

Статистичний показник	ФНП-α, пг/мл	ІЛ-1β, пг/мл	ІЛ-10, пг/мл
Клінічно здорові корови (1–1,5 міс. після отелення) n=12			
M±m	1,9–4,87 2,8±0,27	0,52–1,4 0,97±0,09	7,11–11,75 9,2±0,51
Корови з ураженнями кінцівок (1–1,5 міс. після отелення)			
1 група (гостра) n=8			
M±m	12,8–19,7 15,7±0,82***	1,5–5,68 3,2±0,51 ***	7,9–27,9 16,6±2,78*
2 група (генералізована) n=8			
M±m	21,04–64,8 47,1±5,10***	13,6–22,7 17,3±1,18***	8,4–21,64 16,8±1,85***
3 група (рецидивуючі) n=10			
M±m	11,09–54,28 35,3±5,42***	0,52–6,22 2,3±0,60*	2,7–13,6 9,1±1,19

**Примітка.** Значення p: \* – <0,05; \*\* – <0,01; \*\*\* – <0,001, порівнюючи з клінічно здоровими коровами.

Таблиця 4 – Цитокінові індекси у корів з гнійно-некротичними ураженнями кінцівок

ІЛ-10: ФНП-α	ІЛ-10:ІЛ-1β	ФНП-α:ІЛ-1β
Клінічно здорові корови (1–1,5 міс. після отелення), n=12		
3,3:1	9,5:1	2,9:1
Корови з ураженнями кінцівок (1–1,5 міс. після отелення)		
1 група (гостра), n=8		
1,1:1	5,2:1	4,9:1
2 група (генералізована), n=8		
0,4:1	1,0:1	2,7:1
3 група (рецидивуючі), n=10		
0,3:1	4,0:1	15,6:1

Рецидивуючий тип гнійно-некротичних уражень кінцівок у корів 3-ї групи (n=10) характеризувався досить низькими рівнями ІЛ-1 $\beta$  та особливо ІЛ-10. Якщо останній фактично не відрізнявся від показника клінічно здорових корів, то вміст ІЛ-1 $\beta$  був більшим у 2,4 раза (p<0,05). Проте концентрація ФНП- $\alpha$  залишалася досить великою і переважала показник норми в 12,6 раза (p<0,001), що відобразилося на надзвичайно низькому відповідному індексі 0,3:1.

Спрямованих досліджень щодо визначення нормативних показників вмісту різних сімейств цитокінів у сироватці крові обмаль, оскільки їх проводять тест-системами різних виробників, а тому їх зіставлення не завжди може бути коректним. Водночас співвідношення між концентраціями про- і протизапальними цитокінами дозволяє встановити цитокінові профілі у тварин різних видів.

Ймовірно, потужний протизапальний цитокіновий профіль у жуйних і особливо у свиней є однією із визначальних видових особливостей запальної реакції – масивної фібринозної ексудації.

**Обговорення.** Для встановлення рівнів цитокінів в сироватці крові клінічно здорових корів, свиней і собак було обрано низку головних представників трьох сімейств цитокінів: фактора некрозу пухлин- $\alpha$ ; інтерлейкіна-1 $\beta$  та інтерлейкіна-10. Зокрема, фактор некрозу пухлин- $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ ) належить до групи прозапальних цитокінів, які продукуються макрофагами і моноцитами. Він забезпечує антиінфекційний та протипухлинний захист, регулювання імунних процесів і бере участь у процесах запальної альтерації та індукції проліферації тканин. ІЛ-1 $\beta$ , який належить до головних прозапальних цитокінів, зумовлює посилення продукції печінкою гострофазних білків і простогландинів. Водночас ІЛ-10, як протизапальний цитокін, виконує функцію гальмування продукції зазначених вище цитокінів [26–30].

Згідно з результатами аналізу отриманих даних встановлено, що для клінічно здорової великої рогатої худоби притаманний протизапальний цитокіновий профіль, а провідне значення належить прозапальному цитокіну ФНП- $\alpha$ . Паралельно вдалося встановити майже аналогічну картину у здорових свиней, у яких значення прозапального цитокінового індексу становило 0,7:1 (у корів – 2,9:1) і перевага належить прозапальному цитокіну ІЛ-1 $\beta$ . У собак за фізіологічної норми протизапальний цитокіновий профіль є значно нижчим, а серед активності прозапальних цитокінів головне значення належить ІЛ-1 $\beta$ . У корів рівень запального цитокіна ІЛ-1 $\beta$  виявився в 2,9 раза

(p<0,001) меншим, ніж ФНП- $\alpha$ , а співвідношення ІЛ-10:ІЛ-1 $\beta$  склало 9,5:1. Водночас співвідношення між рівнями прозапальних цитокінів ФНП- $\alpha$  і ІЛ-1 $\beta$  становило лише 2,9:1. В клінічно здорових свиней, рівень ІЛ-10 виявився у 2,1 раза (p<0,001) вищим, ніж у корів, а ФНП- $\alpha$  навпаки, у 2,8 раза (p<0,001) меншим. Також вищим, ніж у корів виявився рівень ІЛ-1 $\beta$  – в 1,4 раза (p<0,001). Цитокіновий індекс між ІЛ-10 і ІЛ-1 $\beta$  у крові здорових собак не досяг великого значення – 1,5:1. Ще меншим у собак виявився індекс між ФНП- $\alpha$  і ІЛ-1 $\beta$ , який становив 0,2:1, між ІЛ-10 і ФНП- $\alpha$  – найвищим, 8,8:1. Загалом співвідношення між концентраціями про- і протизапальними цитокінами дозволяє встановити цитокінові профілі у тварин різних видів.

Щодо корів з гострим перебігом гнійно-некротичного запального процесу в ділянці пальців (n=8), то у них різко збільшуються концентрації ФНП- $\alpha$  у порівнянні з клінічно здоровими тваринами, в 5,6 раза (P<0,001), а ІЛ-1 $\beta$  – в 3,4 раза (P <0,001), за зростання їх індекса в 1,7 раза, до 4,9:1. При цьому рівень протизапального цитокіна ІЛ-10 збільшується лише в 1,8 раза (p<0,05). Цитокінові індекси, які відображають співвідношення ІЛ-10 з прозапальними цитокінами, зменшуються в 1,8–3 рази. Тобто в умовах гострих гнійно-некротичних процесів у ділянці пальців у корів набуває розвитку потужна прозапальна цитокінемія, яка недостатньою мірою компенсується протизапальними цитокінами, що створює умови до пошкодження місцевих біологічних бар'єрів.

За генералізованої форми некробактеріозних уражень у тварин 2-ї групи (n=8) відмічалося критичне збільшення рівня в крові ФНП- $\alpha$  у 16,8 раза, та в 17,8 раза (p<0,001) ІЛ-1 $\beta$ , тимчасом рівень ІЛ-10 залишався незмінним, порівняно з гострою формою. При цьому цитокіновий індекс ІЛ-10:ФНП- $\alpha$  набув критичного значення – 0,4:1, а ІЛ-10 до ІЛ-1 $\beta$  – 1:1. Отже, за генералізованої форми гнійно-некротичних уражень кінцівок некробактеріозного походження розвивається неконтрольована флогенна цитокінемія, що патогенетично відображає синдром системної запальної відповіді.

За рецидивуючого типу гнійно-некротичних уражень кінцівок у корів 3-ї групи (n=10) відмічалося зростання у 2,4 раза (p<0,05) вмісту ІЛ-1 $\beta$ . Проте концентрація ФНП- $\alpha$  залишалася досить великою і переважала показник норми в 12,6 раза (p<0,001), що відобразилося на надзвичайно низькому відповідному індексі 0,3:1. Тобто в цьому випадку за хронічного перебігу некробактеріозних уражень кінцівок у корів формується некомпенсована перманент-

на цитокинемія через ФНП-а, що зумовлює рецидивуючий прояв гнійно-некротичного процесу.

**Висновки.** 1. У клінічно здорових великої рогатої худоби, свиней і собак цитокиновий статус характеризується різним типом співвідношення протизапальних і прозапальних цитокинів з виразним протизапальним цитокиновим профілем у жуйних і особливо у свиней, що, ймовірно, є однією із визначальних видових особливостей запальної реакції – масивної фібринозної ексудації.

2. У корів з гострими гнійно-некротичними процесами кінцівок переважає потужна прозапальна цитокинемія, для генералізованої форми властива неконтрольована флогогенна цитокинемія, а у тварин з рецидивуючим типом формується некомпенсована перманентна цитокинемія.

**Відомості про конфлікт інтересів.** Автори засвідчують відсутність конфлікту інтересів між собою.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Фомин В.В., Козловская Л.В. С-реактивный белок и его значение в кардиологической практике. Журн. доказательной медицины для практикующих врачей. 2003. Т. 5. № 5. С. 237–242.
2. Balkwill F. Cytokine amplification and inhibition on immune and inflammatory responses. J. Vira Hepatitis. 1997. no. 4. Suppl. 2.
3. Mainous M., Ertel W., Chaudary I. The gut: a cytokine-generating organ in systemic inflammation. Shock. 1995. no. 3.
4. Нікітін Є.В., Чабан Т.В., Сервецький С.К. Сучасні уявлення про систему цитокинів. Інфекційні хвороби. 2007. 21(2). С. 64–69. DOI:10.11603/1681-2727.2007.2.1038
5. Basso F.G., Pansani T.N., Turrioni A.P.S., Soares D. G. Tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin (IL)-1 $\beta$ , IL-6, and IL-8 impair in vitro migration and induce apoptosis of gingival fibroblasts and epithelial cells, delaying wound healing. J. Periodontol. 2016. 87. P. 990–996. DOI:10.1902/jop.2016.150713.
6. Blockade of the kallikrein-kinin system reduces endothelial complement activation in vascular inflammation E Bio Medicine September 2019/L. Ingrid et al. P. 319–328.
7. Cellular Biology of Fracture Healing. Published by Wiley Periodicals, Inc/S.B. Chelsea et al. J Orthop Res. 2019. 37(2). P. 35–50. DOI:10.1002/jor.24170
8. Chan K.F., Siegel M.R., Lenardo J.M. Signaling by the TNF receptor superfamily and T cell homeostasis. Immunity. 2000.13. P. 419–422.
9. Moore K.W., de Waal Malefyt R., Coffman R.L., O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. Annu. Rev. Immunol. 2001.19. P. 683–765.
10. Wang R., Zhang T., Ma Z., Wang Y. The interaction of coagulation factor XII and monocyte/macrophages mediating peritoneal metastasis of epithelial ovarian cancer. Gynecol Oncol. 2010. 117. P. 460–466. DOI:10.1016/j.ygyno.2010.02.015.
11. Vorlova S., Koch M., Manthey H.D, Cochain C. Coagulation factor XII induces pro-inflammatory cytokine responses in macrophages and promotes atherosclerosis in mice. Thromb Haemost. 2017. 117. P. 176–187. DOI:10.1160/TH16-06-0466.
12. Mahdi F., Madar Z.S., Figueroa C.D., Schmaier A.H. Factor XII interacts with the multiprotein assembly of urokinase plasminogen activator receptor, gC1qR, and cytokeratin 1 on endothelial cell membranes. Blood. 2002. 99. P. 3585–3596. DOI:10.1182/blood.V99.10.3585.
13. Lyashenko A.A., Uvarov V.Yu. About systematization of cytokines. Успехи совр. биологии. 2001. Vol. 121. no. 6. P. 589–603.
14. Лобанов С.Л., Цыбиков Н.Н., Ханина Ю.С. Динамика провоспалительных цитокинов при ферментативном панкреатогенном перитоните. Забайкальский медицинский вестник. 2012. № 1. С. 81–85.
15. Кнорринг Г.Ю. Цитокиновая сеть как мишень системной энзимотерапии. Цитокины и воспаление. 2005. Том 4. № 4. С. 45–49.
16. Рубленко М.В. Патогенетичні особливості запальної реакції у свиней при хірургічних хворобах та методи їх лікування: автореф. дис. ... докт. вет. наук: спец. 16.00.05. Біла Церква, 2000. 36 с.
17. Рубленко М.В., Мельников В.В. Цитокиновий статус свиней з хірургічною патологією. X міжнародний конгрес спеціалістів ветеринарної медицини: матеріали конгресу. 2012. С. 153–154.
18. Рубленко М.В., Мельников В.В. Цитокиновий профіль у корів з некробактеріозними ураженнями пальців. Науковий вісник ветеринарної медицини. Біла Церква, 2020. Вип. 1 (154). С. 121–128.
19. Novel Natural Bovine Bone Graft with Integrated Atelo-Collagen Type I: Atelocollagen Bovine Bone Mineral (ABBM) Characterization *In-vivo*/ M. Abd El Raouf et al. Periodontics and Prosthodontics. 2017. 3(1). DOI:10.21767/2471-3082.100029
20. Kołodziejska-Sawerska A., Rychlik A., Depsta A., Wdowiak M. Cytokines in canine inflammatory bowel disease. Pol J Vet Sci. 2013. 16. P. 165–171.
21. Haaland P.J., Sjostorm L., Devor M., Haug A. Appendicular fracture repair in dogs using the locking compression plate system: 47 cases. Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology. 2009. 22(4). P. 309–315. DOI:10.3415/VCO08-05-0044
22. Appendicular fractures of traumatic etiology in dogs: 955 cases (2004–2013)/ R.N. Libardoni et al. Ciência Rural. 2016. 46(3). P. 542–546. DOI:10.1590/0103-8478cr20150219
23. Balaji S., King A., Marsh E., Le Saint. The role of interleukin-10 and hyaluronan in murine fetal fibroblast function *in Vitro*: implications for recapitulating fetal regenerative wound healing. 2015.
24. Cytokines as immunological markers for systemic inflammation in dogs with pyometra/I. Karlsson et al. Reprod Domest Anim. 2012. 47. P. 337–341. DOI: 10.1111/rda.12034.

25. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes: council of Europe. Strasbourg. 1986. no. 123. 52 p.

26. Власенко В.М., Козий В.И. Роль этологических, морфометрических и воспалительных факторов в патогенезе подошвенных язв у высокопродуктивных коров: материалы международной научно-практической конференции „Современные проблемы ветеринарной хирургии” 2004 г.: тезисы докл. Санкт-Петербург, 2004. С. 16–17.

27. Чернозуб М.П., Тихонюк Л.А., Нагорний В.В. Малоинвазивный оперативный метод лікування корів при зміщенні сичуга вліво. Вет. медицина України. 2008. № 6. С. 29–32.

28. Морозов М. Епізоотологія кератокон'юнктивітів великої рогатої худоби в господарствах півдня України. Ветеринарна медицина України. 1999. № 5. С. 12–13.

29. Елисеєв А.Н. Травматизм свиней, профилактика, лечение. Ветеринария. 2011. № 7. С. 43–46.

30. Рубленко М.В., Ільницький М.Г. Розповсюдження хірургічної патології у свиней при утриманні на різних підлогах. Неінфекційна патологія тварин: наук.-практ. конф., 7–8 червня 1995 р.: тези доп. Біла Церква, 1995. С. 188–190.

#### REFERENCES

1. Fomin, V.V., Kozlovskaja, L.V. (2003). S-reaktivnyj belok i ego znachenie v kardiologicheskoy praktike [C-reactive protein and its importance in cardiology practice]. Zhurn. dokazatel'noj medicyny dlja praktikujushhih vrachej [Journal. evidence-based medicine for practitioners], Vol. 5, no. 5, pp. 237–242.

2. Balkwill, F. (1997). Cytokine amplification and inhibition on immune and inflammatory responses. J. Vira Hepatitis, no. 4, Suppl. 2.

3. Mainous, M., Ertel, W., Chaudary, I. (1995). The gut: a cytokine-generating organ in systemic inflammation. Shock. no. 3.

4. Nikitin, E.V., Chaban, T.V., Servetskiy, S.K. (2007). Suchasni ujavlennja pro systemu cytokiniv [Modern ideas about the cytokine system]. Infekciji hvoroby [Infectious diseases]. 21(2), pp. 64–69. DOI:10.11603/1681-2727.2007.2.1038

5. Basso, F.G., Pansani, T.N., Turrioni, A.P.S., Soares, D.G. (2016). Tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin (IL)-1 $\beta$ , IL-6, and IL-8 impair in vitro migration and induce apoptosis of gingival fibroblasts and epithelial cells, delaying wound healing. J. Periodontol, 87, pp. 990–996. DOI:10.1902/jop.2016.150713.

6. Ingrid, L., Fagerströma, Anne-lie., Ståhla Maria, M., Ramesh, T., Ann-Charlotte, K., Kahnab, R., Jean-Loup, B., Kleinde, J., Joost, P.S., Segelmarkfg, M., Karpmana, D. (2019). Blockade of the kallikrein-kinin system reduces endothelial complement activation in vascular inflammation E Bio Medicine. pp. 319–328.

7. Chelsea, S.B., Robert, L.Z., Patrick, A., Alekos, T., Jason, W.A., Jaimo, A., Theodore, M., Ralph, S.M., Kurt, D.H. (2019). Cellular Biology of Fracture Healing. Published by Wiley Periodicals, Inc. J Orthop Res., 37(2), pp. 35–50. DOI:10.1002/jor.24170

8. Chan, K.F., Siegel, M.R., Lenardo, J.M. (2000). Signaling by the TNF receptor superfamily and T cell homeostasis. Immunity. 13, pp. 419–422.

9. Moore, K.W., de Waal Malefyt, R., Coffman, R. L., O'Garra, A. (2001). Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. Annu. Rev. Immunol. 19, pp. 683–765.

10. Wang, R., Zhang, T., Ma, Z., Wang, Y. (2010). The interaction of coagulation factor XII and monocyte/macrophages mediating peritoneal metastasis of epithelial ovarian cancer. Gynecol Oncol. 117, pp. 460–466. DOI:10.1016/j.ygyno.2010.02.015.

11. Vorlova, S., Koch, M., Manthey, H.D., Cochain, C. (2017). Coagulation factor XII induces pro-inflammatory cytokine responses in macrophages and promotes atherosclerosis in mice. Thromb Haemost. 117, pp. 176–187. DOI:10.1160/TH16-06-0466.

12. Mahdi, F., Madar, Z.S., Figueroa, C.D., Schmaier, A.H. (2002). Factor XII interacts with the multiprotein assembly of urokinase plasminogen activator receptor, gC1qR, and cytokeratin 1 on endothelial cell membranes. Blood. 99, pp. 3585–3596. DOI:10.1182/blood.V99.10.3585.

13. Lyashenko, A.A., Uvarov, V.Yu. (2001). About systematization of cytokines. Uspehi sovr. Biologii [The successes of modern biology]. Vol. 121, no. 6, pp. 589–603.

14. Lobanov, S.L., Tsybikov, N.N., Khanina, Yu.S. (2012). Dinamika provospalitel'nyh citokinov pri fermentativnom pankreatogennom peritonite [Proinflammatory cytokines dynamics in enzyme pancreatogenic peritonitis]. Zabaikalskiy medicinskiy vestnik [Transbaikal Medical Bulletin]. no. 1, pp. 81–85.

15. Knorring, G.Yu. (2005). Citokinovaja set' kak mishaen' sistemnoj jenzimoterapii [Cytokine network as a target of systemic enzyme therapy]. Cytokini i vospalenie [Cytokines and inflammation]. Vol. 4, no. 4, pp. 45–49.

16. Rublenko, M.V. (2000). Patohenetychni osoblyvosti zapalnoi reaktsii u svynei pry khirurhichnykh khvorobakh ta metody yikh likuvannia: avtoref. dys. ... dokt. vet. nauk: spets. 16.00.05. [Pathogenetic features of the inflammatory reaction in pigs with surgical diseases and methods of their treatment: autoref. thesis ... Dr. Vet. Sciences: specialist 16.00.05.]. Bila Tserkva, 36 p.

17. Rublenko, M.V., Melnikov, V.V. (2012). Cytokinovyj status svynej z hirurgichnoju patologijeju. [Cytokine status of pigs with surgical pathology]. X mizhnarodnyj kongres specialistiv veterynarnoi' medycyny: materialy kongresu [X International Congress of Veterinary Medicine Specialists: Proceedings of the Congress]. pp. 153–154.

18. Rublenko, M.V., Melnikov, V.V. (2020). Cytokinovyj profil' u koriv z nekrobakteriozyny urazhenjamy pal'civ [Cytokine profile in cows with necrobacterial toe lesions]. Naukovyj visnyk veterynarnoi' medycyny [Scientific Bulletin of Veterinary Medicine]. Bila Tserkva, Issue 1 (154), pp.121–128.

19. Abd El Raouf, M., Zhang, Y., Serrano, J.C., Miron, R.J. (2017). Novel Natural Bovine Bone Graft with Integrated Atelo-Collagen Type I: Atelocollagen Bovine Bone Mineral (ABBM) Characterization In-vivo. *Periodontics and Prosthodontics*. 3(1). DOI:10.21767/2471-3082.100029
20. Kołodziejaska-Sawerska, A., Rychlik, A., Depta, A., Wdowiak, M. (2013). Cytokines in canine inflammatory bowel disease. *Pol J Vet Sci*. 16, pp. 165–171.
21. Haaland, P.J., Sjostorm, L., Devor, M., Haug, A. (2009). Appendicular fracture repair in dogs using the locking compression plate system: 47 cases. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*. 22(4), pp. 309–315. DOI:10.3415/VCOTO8-05-0044
22. Libardoni, R.N., Serafini, G.M.C., Oliveira, C., Schimites, P.I., Chaves, R. O., Feranti, J.P.S., Costa, C.A.S., Amaral, A.S., Raiser, A.G., Soares, A.V. (2016). Appendicular fractures of traumatic etiology in dogs: 955 cases (2004-2013). *Ciência Rural*. 46(3), pp. 542–546. DOI:10.1590/0103-8478cr20150219
23. Balaji, S., King, A., Marsh, E., Le, S. (2015). The role of interleukin-10 and hyaluronan in murine fetal fibroblast function *in Vitro*: implications for recapitulating fetal regenerative wound healing.
24. Karlsson, I., Hagman, R., Johannisson, A., Wang, L., Karlstam, E. (2012). Cytokines as immunological markers for systemic inflammation in dogs with pyometra. *Reprod Domest Anim*. 47, pp. 337–341. DOI:10.1111/rda.12034.
25. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes: council of Europe. Strasbourg. 1986, no. 123, 52 p.
26. Vlasenko, V.M., Koziy, V.I. (2004). Rol' je-tologicheskikh, morfometricheskikh i vospalitel'nykh faktorov v patogeneze podoshvennykh jazv u vysoko-produktivnykh korov: materialy mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii „Sovremennye problemy veterinarnoy hirurgii” 2004 g.: tezisy dokl. [The role of ethological, morphometric and inflammatory factors in the pathogenesis of plantar ulcers in highly productive cows: materials of the international scientific-practical conference "Modern problems of veterinary surgery" 2004: abstracts]. St. Petersburg, pp.16–17.
27. Chornozub, M.P., Tikhonyuk, L.A., Nagor'nyi, V.V. (2008). Maloinvazyvnyj operatyvnyj metod likuvannja koriv pry zmishhenni sychuga vliivo [A minimally invasive operative method of treating cows with a shift of the rennet to the left]. *Vet. medycyna Ukraïny [Vet. medicine of Ukraine]*. no. 6, pp. 29–32.
28. Morozov, M. (1999). Epizootologija keratokon'junktyvitiv velykoi' rogatoi' hudoby v gospodarstvah pivdnja Ukraïny [Epizootology of cattle keratoconjunctivitis in the farms of southern Ukraine]. *Veterynarna medycyna ukraïny [Veterinary medicine of Ukraine]*. no. 5, pp. 12–13.
29. Eliseev, A.N. (2011). Travmatizm svinej, profilaktika, lechenie [Pig injuries, prevention, treatment]. *Veterinarija [Veterinary]*. no. 7, pp. 43–46.
30. Rublenko, M.V., Ilnitskyi, M.G. (1995). Rozpovsjudzhenja hirurgichnoi' patologii' u svynej pry utrymanni na riznyh pidlogah [Distribution of surgical pathology in pigs kept on different floors]. *Neinfekci-jna patologija tvaryn: nauk.-prakt. konf., 7–8 chervnja 1995 r.: tezy dop. [Non-infectious pathology of animals: science and practice. conference, June 7-8, 1995: abstracts]*. Bila Tserkva, pp. 188–190.

### Cytokine profiles in healthy animals and in cows with purulent-necrotic limb processes

Melnikov V., Rublenko M., Ilnitskyi M.

One of the typical and mandatory reactions of the body to trauma or infectious agents for damage to any tissues and organs is the acute phase reaction, which is an induced increase in the synthesis followed by an increase in the blood and tissues of a number of proteins with immunological, bactericidal, antioxidant and inhibitory functions.

The purpose of the study is to determine the levels of cytokines in clinically healthy cows, pigs and dogs, as well as in cows with purulent-necrotic processes of the limbs.

The levels of pro-inflammatory cytokines and anti-inflammatory IL-10 were determined in blood serum of cows, pigs and dogs. Cows with purulent-necrotic lesions of the limbs (n=26) were divided into: 1st group (n=8) – acute form of purulent-necrotic lesions of the distal limbs; 2nd group (n=8) – generalized lesions; group 3 (n=10) – recurrent foci in the area of the fingers. The content of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-10 interleukins in blood serum was determined by the immunoenzymatic method according to the standard protocol.

It was established that the blood levels of pro-inflammatory TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  in clinically healthy cows are significantly lower than anti-inflammatory IL-10, for the ratio of IL-10:TNF- $\alpha$  – 3.3:1, and IL-10: IL-1 $\beta$  – 9.5:1, therefore, for cattle under physiological norms, an inherent anti-inflammatory cytokine profile.

In clinically healthy pigs, the anti-inflammatory cytokine profile turned out to be the most pronounced, as the cytokine indices in them were significantly higher: IL-10:TNF- $\alpha$  – 19.4:1; IL-10:IL-1 $\beta$  – 13.9:1.

In the blood of clinically healthy dogs, the cytokine indices between IL-10:IL-1 $\beta$  are extremely low – 1.5:1, TNF- $\alpha$  : IL-1 $\beta$  – 0.2:1, even lower, and between IL-10:TNF- $\alpha$  – 8.8:1, and therefore the anti-inflammatory cytokine profile is much lower according to the totality of cytokine indices.

In cows with an acute form of necrobacteriosis, compared with clinically healthy animals, the level of TNF- $\alpha$  in the blood is 5.6 times higher (P<0.001), and IL-1 $\beta$  is 3.4 times higher (P<0.001), due to their increase index by 1.7 times, up to 4.9:1. Under such



conditions, the level of IL-10 increases only 1.8 times ( $p < 0.05$ ).

Animals with the generalized form are characterized by a critical increase in the blood level of TNF- $\alpha$  by 16.8 times and IL-1 $\beta$  by 17.8 times ( $p < 0.001$ ), while the level of IL-10 remains unchanged compared to the acute form. Cytokine index IL-10:TNF- $\alpha$  acquires a critical value - 0.4:1, and IL-10 to IL-1 $\beta$  - 1:1. In animals with recurrent lesions, low levels of IL-1 $\beta$ , especially IL-10, are characteristic. However, the con-

centration of TNF- $\alpha$  remains quite high and exceeds the normal value by 12.6 times ( $p < 0.001$ ).

Therefore, various clinical forms of necrobacterial lesions of the limbs in cows have a compensatory or non-compensatory nature of cytokinemia, with an imbalance of the functionality of acute-phase proteins due to the insufficient capacity of the inhibitory potential of sick cows.

**Key words:** cows, pigs, dogs, cytokines, serum, clinically healthy animals, inflammation.



Copyright: Мельніков В.В., Рубленко М.В., Ільницький М.Г. © This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



ORCID iD:

Рубленко М.В.

Ільницький М.Г.

<https://orcid.org/0000-0001-9690-9531>

<https://orcid.org/0000-0001-6130-6001>