

DOI: 10.37925/0039-713X-2024-2-13-15

УДК 619:577.21:612.11:636.4

# Уровень экспрессии генов иммунного статуса в крови у поросят-гипотрофиков



*Е.В. МИХАЙЛОВ, кандидат вет. наук, вед. научный сотрудник, e-mail: voronezh81@rambler.ru, Б.В. ШАБУНИН, ст. лаборант, А.В. НЕКРАСОВ, ст. лаборант, Е.М. СТЕПАНОВ, мл. научный сотрудник, Н.А. СТРЕЛЬНИКОВ, мл. научный сотрудник, М.А. СЕЛЮТИНА, ст. лаборант, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии» (Воронеж)*

В статье представлены данные об уровне экспрессии генов иммунной защиты у поросят-нормотрофиков и гипотрофиков. В опыте были задействованы 20 свиноматок третьего-четвертого опороса и полученный от них приплод. Поросята проходили клинический осмотр и взвешивание. Не достигшие 800 г животные были учтены как поросята-гипотрофики, животные больше 800 г – соответственно, нормотрофики. В крови поросят-нормотрофиков и гипотрофиков уровни экспрессии генов IL-1 $\beta$ , TGF- $\beta$  и TNF- $\alpha$  имеют незначительные изменения: повышение у поросят-гипотрофиков в 1,2 и 1,1 раза. Однако уровень экспрессии гена IFN- $\alpha$  у поросят-гипотрофиков был выше в 4,2 раза по сравнению с нормотрофиками, что может быть связано с реакцией иммунитета на фоне гипотрофии, а именно возможной пирогенностью.

**Ключевые слова:** экспрессия генов, поросята-нормотрофики, поросята-гипотрофики, уровень экспрессии.

## The level of expression of immune status genes in the blood of hypotrophic piglets

*E. V. MIKHAILOV, candidate of veterinary sciences, leading researcher, e-mail: voronezh81@rambler.ru, B. V. SHABUNIN, senior laboratory assistant, A. V. NEKRASOV, senior laboratory assistant, E. M. STEPANOV, junior researcher, N. A. STRELNIKOV, junior researcher, M. A. SELYUTINA, senior laboratory assistant, All-Russian Scientific Research Veterinary Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy (Voronezh)*

The article presents data on the level of expression of immune defense genes in normotrophic and hypotrophic piglets. 20 sows of 3–4 farrows and the offspring obtained from them were selected for the experiment. The piglets underwent clinical examination and weighing. Not reaching 800 g animals were counted as piglets-hypotrophic, animals over 800 g – respectively normotrophic. In the blood of normotrophic and hypotrophic piglets, the gene expression levels of IL-1 $\beta$ , TGF- $\beta$  and TNF- $\alpha$  have minor changes: an increase in hypotrophic piglets by 1.2 and 1.1 times. However, the level of expression of the IFN- $\alpha$  gene in hypotrophic piglets was 4.2 times higher than in normotrophic piglets, which may be due to the immune response against the background of malnutrition, namely possible pyrogenicity.

**Key words:** gene expression, normotrophic piglets, hypotrophic piglets, malnutrition, expression level.

## ■ Введение

Гипотрофия поросят представляет собой состояние, при котором молодняк рождается с недостаточной живой массой, часто менее 1 кг. Это серьезная проблема, поскольку большая часть таких поросят либо погибает в первые дни и недели жизни, либо не может догнать по развитию своих сверстников, рожденных с нормальной массой тела.

Поросята с гипотрофией также более подвержены болезням и имеют повышенный риск заболевания диспепсией, колибактериозом и другими патологиями. Гипотрофия поросят остается одной из главных причин низкой сохранности и падения продуктивности молодняка [1, 2].

Для выявления гипотрофии у поросят можно использовать различные биомаркеры, включая цитокины.

Исследования уровней цитокинов, таких как IL-1 $\beta$  (интерлейкин-1 $\beta$ ), TNF- $\alpha$  (фактор некроза опухоли- $\alpha$ ), TGF- $\beta$  (трансформирующий ростовой фактор бета) и IFN- $\alpha$  (интерферон альфа), в организме молодых свиней могут предоставить информацию о состоянии их иммунной системы и общем здоровье [3]. Дальнейшие исследования уровней экспрессии генов, кодирующих указанные цитокины,

могут расширить наши знания о молекулярных механизмах, лежащих в основе гипотрофии у поросят.

Гены, кодирующие цитокины IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$  и IFN- $\alpha$ , играют важную роль в иммунной регуляции и воспалительных процессах [4]. IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$  являются провоспалительными цитокинами, участвующими в защите организма от инфекций и тканевых повреждений. Однако их избыточное производство может привести к воспалительным заболеваниям. TGF- $\beta$ , с другой стороны, является цитокином, способствующим регенерации тканей и имеющим большое значение для контроля иммунного ответа. Изучение экспрессии этих генов позволяет лучше понять, как изменения в их активности могут влиять на состояние здоровья поросят, особенно на фоне гипотрофии [5, 6].

Исследование экспрессии генов IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$  и IFN- $\alpha$  у поросят имеет большое значение для понимания молекулярных аспектов гипотрофии и ее влияния на иммунную систему и общее здоровье животных. Эти исследования могут предоставить новые данные, которые помогут разработать более эффективные методы диагностики и лечения гипотрофии у поросят, а также улучшить программы разведения и ухода за молодыми свиньями.

**Таблица. Праймеры, используемые при постановке ПЦР в реальном времени**

Название праймера	Последовательность нуклеотидов
IL-1 $\beta$ f IL-1 $\beta$ r	GGACATGGAGAAGCGATT TTATATCTTGGCGGCCTTTG
TNF- $\alpha$ f TNF- $\alpha$ r	ACTGCACTTCGAGGTTATCGG GGCGACGGGCTTATCTGA
TGF- $\beta$ f TGF- $\beta$ r	CGCATCGAGGCCATTGCGGCCAGATTC TCAGCCACTGCCGCAACTCCGGTGAC
IFN- $\alpha$ f IFN- $\alpha$ r	ACTTCCACAGACTCACCTCTATC ATGACTTCTGCCCTGATGATCT

трофии у поросят, а также улучшить программы разведения и ухода за молодыми свиньями.

В данной статье мы представим результаты исследований уровней экспрессии указанных генов и их связь с гипотрофией у поросят, что способствует пониманию этой проблемы и поиску путей ее решения.

**Цель исследования** – оценить уровень экспрессии генов иммунного статуса в крови у поросят-гипотрофиков.

**Материалы и методы исследований**

В опыт были подобраны 20 свиноматок третьего-четвертого опороса и полученный от них приплод. Поросята проходили клинический осмотр и

взвешивание. Не достигшие 800 г животные были учтены как поросята-гипотрофики, животные свыше 800 г – соответственно, нормотрофики.

Первая группа (n=10) – поросята-гипотрофики, а вторая (n=10) – поросята-нормотрофики. Поросята были подвергнуты диагностическому убою согласно директиве. Цельная кровь была отобрана в вакуумные пробирки с добавлением ЭДТА КЗ для предотвращения свертывания крови. РНК из крови выделяли с помощью набора «РНК-Экстран» («Синтол», Россия). Обратную транскрипцию проводили с использованием набора MMLV RT («Евроген», Россия). ПЦР в режиме реального времени производили на амплификаторе DTLite 4S1 («ДНК-Технология», Россия). Реакционная смесь содержала

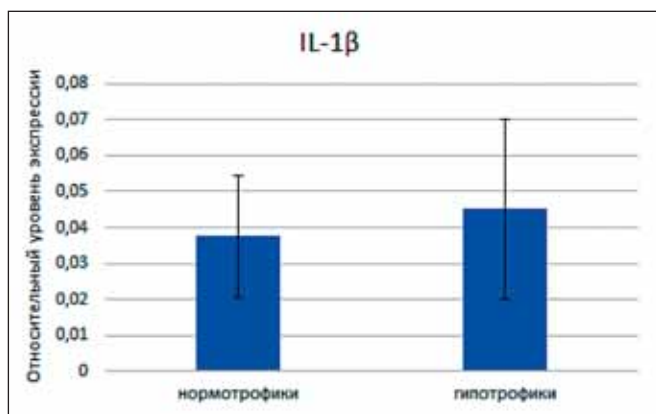


Рис. 1. Уровни экспрессии гена IL-1 $\beta$

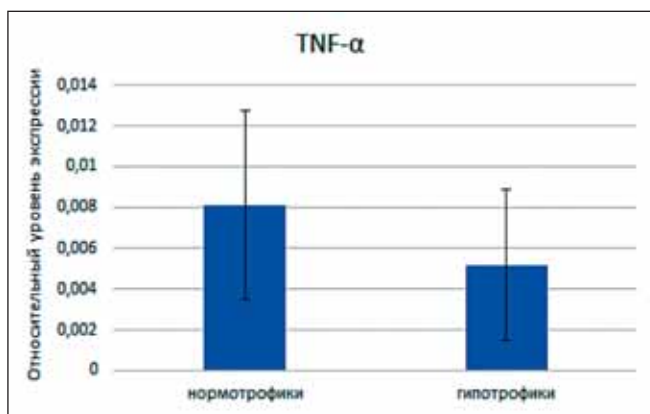


Рис. 2. Уровни экспрессии гена TNF- $\alpha$

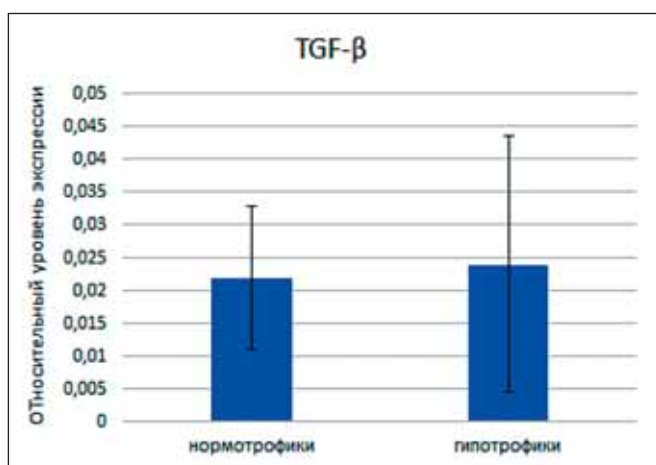


Рис. 3. Уровни экспрессии гена TGF- $\beta$

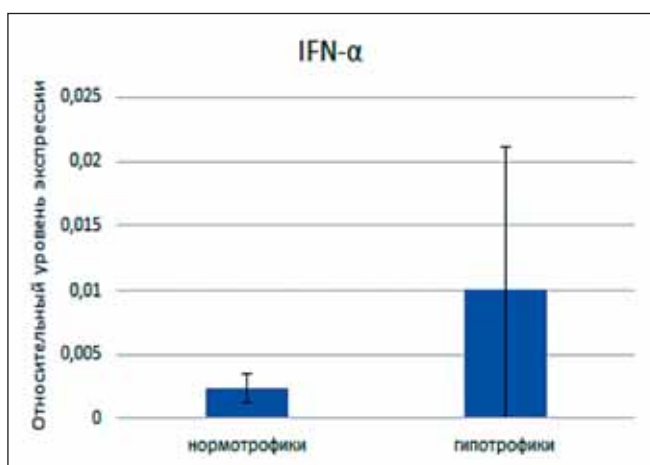


Рис. 4. Уровни экспрессии гена IFN- $\alpha$

специфические праймеры и интеркалирующий краситель SYBR Green I. Программа амплификации разработана опытным путем, исходя из свойств реагентов и стадий амплификации (табл.).

### ■ Результаты исследований

В крови поросят-нормотрофиков и гипотрофиков уровни экспрессии генов IL-1 $\beta$ , TGF- $\beta$  и TNF- $\alpha$  имеют незначительные изменения: повышение у поросят-гипотрофиков в 1,2 и 1,1 раза соответственно (рис 1, 2). Уровень экспрессии гена TNF- $\alpha$  у гипотрофиков, наоборот, снижался в 1,6 раза по сравнению с нормотрофиками (рис 3). Уровень экспрессии гена IFN- $\alpha$  у поросят-гипотрофиков был выше в 4,2 раза по сравнению с нормотрофиками, что может быть связано с реакцией иммунитета на фоне гипотрофии, а именно на возможные вирусные возбудители, так как организм поросят-гипотрофиков более подвержен различного рода вирусным заболеваниям, а IFN- $\alpha$  принимает участие в работе ранних противовирусных механизмов (рис. 4).

1. Шахов А.Г. и др. Морфофункциональное состояние тимуса у новорожденных гипотрофических поросят. Ветеринарный фармакологический вестник, 2020. №1. С. 127–139.

2. Трухачев В.И. Современные аспекты выращивания поросят раннего возраста. Ученые записки ВГАВМ, 2008. Т. 40. Ч. 1. С. 47–48.

### ■ Обсуждение

Интерлейкин-1 $\beta$  – основной провоспалительный цитокин. Одна из главных функций – индуцирование генов иммунной системы, в том числе интерферона альфа (IFN- $\alpha$ ). Это может косвенно объяснять незначительный рост уровня экспрессии IL-1 $\beta$  инициацией повышенной продукции IFN- $\alpha$ . Связано это с гипотрофией, когда иммунная система ослабленного организма реагирует подобным образом на воспалительные процессы. Также поросята-гипотрофики более подвержены внешним факторам, в том числе различным возбудителям, на фоне чего стрессовое состояние организма становится хроническим, а ген IFN- $\alpha$  отвечает как за гомеостатический контроль стресса иммунитета, который ответственен за поддержание баланса всех видов характерных стрессоров, так и участвует в работе механизмов противовирусной защиты.

Продукты гена трансформирующего фактора роста (TGF- $\beta$ ) отвечают за рост и дифференциацию клеток, а также за модуляцию работы других факторов роста, в частности фактора некроза опухоли альфа (TNF- $\alpha$ ),

который регулирует воспалительные ответы организма. Сниженный по сравнению с нормотрофиками уровень экспрессии TNF- $\alpha$  у гипотрофиков может свидетельствовать об угнетении иммунной защиты и нарушенной регуляции воспалительного процесса из-за гипотрофии.

### ■ Заключение

Экспрессия генов иммунного статуса у поросят-гипотрофиков отличается более высоким уровнем работы гена IFN- $\alpha$  за счет наличия стрессового состояния иммунной системы, а также чуть повышенным уровнем экспрессии IL-1 $\beta$ , который предположительно и иницирует в данном случае активность IFN- $\alpha$ . В то же время у поросят-гипотрофиков сниженная экспрессия гена TGF- $\beta$  по сравнению с нормотрофиками. Это может указывать на сокращение эффективности иммунной защиты и контроля воспалительного процесса на фоне гипотрофии.

*Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда №23-26-00020, <https://rscf.ru/project/23-26-00020/>*

### Литература

3. Шабунин С.В. Патент RU2748979C1 Российская Федерация. Способ диагностики гипотрофии телят (*Bos taurus*) на основе анализа экспрессии гена провоспалительного цитокина интерлейкина IL-1 $\alpha$ . №2020110166, заявлено 10.03.2020, опубликовано 02.06.2021/Шабунин С.В. и др. 11 с. с илл.

4. Серебренникова С.Н. и др. Интерлейкин-1, интерлейкин-10 в регуляции воспалительного процесса. Иркутск: Сибирский медицинский журнал, 2012. Т. 115. №8. С. 5–7.

5. Cardoso T.F. et al. Differential expression of mRNA isoforms in the skeletal muscle of pigs with distinct growth and fatness profiles. BMC genomics, 2018. Vol. 19. P. 1–12. 📄

## ЛЕНТА НОВОСТЕЙ



### Свердловское правительство утвердило план профилактики АЧС

Правительство Свердловской области приняло решение разработать план мероприятий по предотвращению возникновения и распространения этой болезни на территории региона, сообщается на портале Piginfo.

Согласно утвержденному плану, ветеринары будут регулярно брать образцы крови у домашних свиней и диких кабанов, включая павших животных, для выявления вируса АЧС. Это позволит своевременно обнаруживать и контролировать возможные

вспышки болезни. Кроме того, участникам отрасли запрещено скармливать животным пищевые отходы без предварительной термической обработки. Такие меры помогут предотвратить возможное заражение свиней.

Особая ответственность за выполнение плана возложена на заместителя губернатора Свердловской области Алексея Шмыкова. Его роль заключается в координации работы ветеринарных служб и других участников отрасли, а также в принятии оперативных решений при необходимости.

Вспышки АЧС уже происходили на территории региона, в частности в 2021 и 2022 годах. В связи с этим был объявлен режим чрезвычайной ситуации. Чтобы избежать повторения подобных ситуаций, важно

строго соблюдать все меры профилактики, предусмотренные планом.

Помимо уже описанных мер, возможно, стоит рассмотреть и другие инновационные подходы для борьбы с африканской чумой свиней. Например, использование современных методов диагностики, разработка вакцин или применение биологических средств защиты. Это позволит повысить эффективность борьбы с болезнью и снизить ее негативное воздействие на свиноводство региона.

В целом план мероприятий по профилактике африканской чумы свиней, утвержденный Правительством Свердловской области, является важным шагом в обеспечении безопасности животноводства и сохранении здоровья свиней. 📄