

ДИНАМИКА ЦИТОКИНОВОЙ АКТИВНОСТИ ЛИКВОРА И СЫВОРОТКИ КРОВИ ПЛОТОЯДНЫХ С БОЛЕВЫМ СИНДРОМОМ

КЛЮКИН Сергей Дмитриевич, Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова

САЛАУТИН Владимир Васильевич, Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова

КОЗЛОВ Сергей Васильевич, Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова

ПУДОВКИН Николай Александрович, Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова

ФРОЛОВ Даниил Сергеевич, Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова

52

Получены новые данные о механизмах развития болевого синдрома у собак и кошек, в частности определена роль в формировании и проявлении данной патологии противовоспалительных цитокинов: интерлейкин-4 (IL-4), интерлейкин-6 (IL-6), интерферон-гамма (IFN-гамма), фактор некроза опухоли-альфа (TNF-alfa). Полученные результаты позволяют оценить динамику иммунного статуса животных с болевым синдромом. Высокую значимость при диагностике болевого синдрома показали цитокины IL-4, IL-6, IFN-гамма. Показатели IL-4 в ликворе и сыворотке крови у собак 1-й и 2-й опытных групп были в 3,5 и 3,4 раза выше контроля, у кошек 1-й и 2-й опытных групп в 4,3 и 4,6 раза. Также высокую активность показали IL-6 и IFN-гамма в отличие от TNF-alfa, который оказался менее чувствительным к изменениям при болевом синдроме.



Введение. Практически каждое повреждение клеток и тканей организма сопровождается болевой реакцией. Международная ассоциация по изучению боли IASP (International Association for the Study of Pain) определяет боль как «неприятное сенсорное и эмоциональное переживание, связанное с истинным или потенциальным повреждением ткани или описываемое в терминах такого повреждения» [4, 6, 9, 13]. Это сложное субъективное явление, при котором каждый живой организм обладает восприятием: на него влияют биологические, психологические и социальные факторы. В здоровом организме боль является предупреждающим фактором, каждый раз служит сигналом нарушений, возникающих в организме: боль от прикосновения к горячему предмету, травма тканей и т.д. В таких случаях она играет защитную роль, сигнализируя об угрозе и необходимости ее избежать или предотвратить. Когда неблагоприятные факторы действуют на организм продолжительное время и с большей силой, то предупреждающая боль заканчивается и переходит в хроническую стадию [3, 5, 7, 8, 10, 11].

Результаты исследований отечественных и зарубежных ученых указывают на активацию

факторов врожденного иммунитета в ответ на болевое воздействие [1, 2, 3, 12].

Цель настоящей работы – изучить цитокиновую активность интерлейкина-4, интерлейкина-6, фактора некроза опухоли и интерферона в ликворе и сыворотке крови у животных с неврологическими патологиями, сопровождающимися болевым синдромом разной степени тяжести.

Методика исследований. Научные исследования проводились 2017 по 2020 г. на базе кафедр «Морфология, патология животных и биология» и «Болезни животных и ветеринарно-санитарная экспертиза» ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова», ООО «Энгельсская ветеринарная клиника», часть исследований выполняли в УНТЦ «Ветеринарный госпиталь» (г. Саратов).

Исследовали клинически больных животных (собак и кошек) с болевым синдромом, а также клинически здоровых (интактных) животных. Для исследования были сформированы контрольная и две опытные группы по принципу пар-аналогов по 34 животных (17 собак и 17 кошек). Возраст исследуемых животных от 1 года до 12 лет, живая масса – от 1 до 25 кг. Содержание животных – домашне-выгульное; кормление – смешанное.



При ортопедическом обследовании обращали внимание на постановку конечностей, размер, форму и объем движений в суставах. Проводили пробную проводку животных, определяя характер и интенсивность поражений. Пальпаторно определяли наличие/отсутствие крепитации и болевую реакцию.

Неврологическое обследование животных осуществляли с целью выявления неврологической патологии, места локализации и оценки тяжести повреждений. Осмотр проводили в направлении спереди назад; делили на обследование головы, шеи и грудных конечностей, делали оценку походки, спины и тазовых конечностей, ануса и хвоста, для чего использовали усовершенствованную нами схему неврологического осмотра.

Для определения степени болевого синдрома использовали визуальную шкалу оценки боли, рекомендованную Международной ветеринарной ассоциацией мелких животных WSAVA (градация острой боли по Колорадо, 2015).

Ликвор получали при помощи атланта-окципитальной или люмбальной пункции субарахноидального пространства спинного мозга. Сыворотку получали из крови, аспирированной из подкожной вены предплечья или голени у собак и кошек. Исследования проводили с использованием иммуноферментных тест-систем для определения TNF-alfa, IL-4, IL-6, IFN-gamma (ОО «Цитокин», Россия) на планшетном фотометре Multiskan FC (Thermo Scientific, Финляндия) со встроенным шейкером на 96 лунок со спектральным диапазоном 450 нм.

Результаты исследований. Результаты проведенных нами исследований показали, что при первой степени острого болевого синдрома на приеме трудно выявить видимые изменения. При сборе анамнестических данных о животных выяснилось, что у одних пациентов есть изменения привычного поведения (избегали контакта с людьми), у других – необоснованное беспокойство. У части животных владельцы не замечали никаких изменений в поведении. При пальпации пораженных участков тела они не реагировали на воздействие. В то же время отмечали разной степени напряжение скелетных мышц.

Вторая степень болевого синдрома характеризовалась снижением подвижности и стремлением животных спрятаться от окружающих. Владельцы кошек отмечали, что у животного потухший взгляд, лежит, свернувшись калачиком. Волосистой покров матовый, взъерошенный. Отмечали снижение аппетита, а в некоторых случаях полный отказ от корма. На пальпацию, при попытке прикосновения к болезненному участку, животные реагировали агрессивно.

При третьей степени болевого синдрома наблюдали характерные признаки, проявлявшиеся постоянной вокализацией, рыком и шипением. Данную клиническую картину отмечали особенно в моменты, когда животные оставались без внимания. Кошки и собаки отказывались прыгать, с трудом поднимались по ступенькам, у них отмечали неадекватную реакцию на привычные раздражители. Некоторые животные вылизывали или грызли пораженную область, при этом практически не перемещаясь в пространстве. При осмотре, даже на неболезненную пальпацию, животные чаще всего реагировали резко негативно, некоторые испытывали признаки аллодинии, избегали любого контакта.

Четвертая степень болевого синдрома чаще всего проявлялась тем, что животные лежали обессиленные, не реагировали на происходящее вокруг, их невозможно было отвлечь от боли. В отличие от третьей степени собаки и кошки спокойно принимали уход. Не реагировали на пальпацию, были ригидными во избежание болезненных движений.

Содержание IL-4 в ликворе в контрольной группе составляло у собак и кошек $49,7 \pm 2,1$ и $39,7 \pm 1,9$ пкг/мл; в сыворотке крови – $159,5 \pm 2,7$ и $148,4 \pm 2,5$ пкг/мл соответственно. У животных опытных групп с болевым синдромом данные показатели были значительно выше. Так, у собак 1-й и 2-й опытных групп содержание IL-4 в ликворе составило $174,1 \pm 4,2$ и $169,7 \pm 2,9$ пкг/мл, у кошек – $172,9 \pm 3,4$ и $184,2 \pm 2,7$ пкг/мл соответственно. Содержание IL-4 в сыворотке крови у собак 1-й и 2-й опытных групп составило $1021,2 \pm 4,5$ и $622,1 \pm 2,8$ пкг/мл, у кошек – $638,1 \pm 3,6$ и $623,3 \pm 1,9$ пкг/мл соответственно (табл. 1, 2; рис. 1, 2).

Таблица 1

Цитокиновый профиль ликвора собак и кошек с болевым синдромом, пкг/мл ($n = 102$; $M \pm m$)

| Показатель | Группа | | | | | |
|------------|-----------------|-----------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | контрольная | | 1-я опытная | | 2-я опытная | |
| | собаки | кошки | собаки | кошки | собаки | кошки |
| IL-4 | $49,7 \pm 2,1$ | $39,7 \pm 1,9$ | $174,1 \pm 4,2^*$ | $172,9 \pm 3,4^*$ | $169,7 \pm 2,9^*$ | $184,2 \pm 2,7^*$ |
| IL-6 | $219,8 \pm 6,4$ | $241,6 \pm 3,2$ | $1649,2 \pm 5,7^*$ | $1249,6 \pm 4,8^*$ | $1541,9 \pm 4,1^*$ | $1317,5 \pm 5,2^*$ |
| IFN-gamma | $128,8 \pm 2,9$ | $153,8 \pm 4,5$ | $438,1 \pm 3,9^*$ | $397,4 \pm 2,9^*$ | $392,8 \pm 2,5^*$ | $381,6 \pm 1,9^*$ |
| TNF- alfa | $4,2 \pm 0,8$ | $5,9 \pm 0,7$ | $5,5 \pm 0,6^*$ | $6,7 \pm 1,1^*$ | $5,3 \pm 0,7^*$ | $4,9 \pm 0,8^*$ |

* $p < 0,05$ – достоверность различий относительно контроля (здесь и далее).

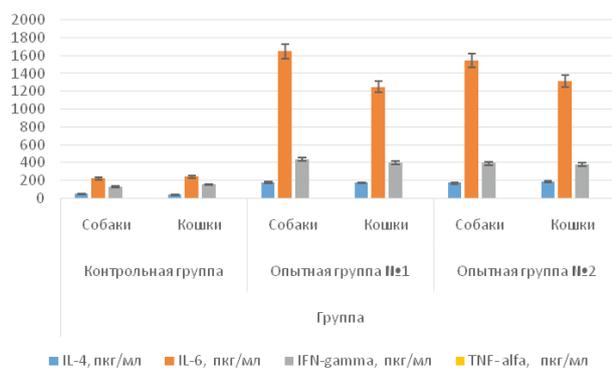


Рис. 1. Цитокиновый профиль ликвора собак и кошек с болевым синдромом

Содержание IL-6 в ликворе контрольной группы составило у собак и кошек $219,8 \pm 6,4$ и $241,6 \pm 3,2$ пкг/мл; в сыворотке крови – $159,5 \pm 2,7$ и $148,4 \pm 2,5$ пкг/мл соответственно. У животных опытных групп с болевым синдромом показатели цитокинового профиля значительно выше. Так, у собак 1-й и 2-й опытных групп содержание IL-6 в ликворе составило $1649,2 \pm 5,7$ и $1541,9 \pm 4,1$ пкг/мл соответственно. У кошек 1-й опытной группы содержание IL-6 в ликворе – $1249,6 \pm 4,8$ пкг/мл; во 2-й опытной группе – $1317,5 \pm 5,2$ пкг/мл. Содержание IL-6 в сыворотке крови собак 1-й и 2-й опытных групп составило $2143,6 \pm 5,3$ и $2168,1 \pm 3,6$ пкг/мл соответственно; кошек – $1524,9 \pm 4,1$ и $1673,2 \pm 4,6$ пкг/мл (см. табл. 1, 2; рис. 1, 2).

В контрольной группе содержание IFN-gamma в ликворе у собак – $128,8 \pm 2,9$ пкг/мл, у кошек – $153,8 \pm 4,5$ пкг/мл; в сыворотке крови – $63,6 \pm 1,9$ и $57,2 \pm 2,1$ пкг/мл соответственно. У животных опытных групп с болевым синдромом данные показатели значительно выше. Так, у собак 1-й и 2-й опытных групп содержание IFN-gamma в ликворе составило $438,1 \pm 3,9$ и $392,8 \pm 2,5$ пкг/мл соответственно. У кошек 1-й опытной группы содержание IFN-gamma в ликворе – $397,4 \pm 2,9$ пкг/мл, во 2-й опытной группе – $381,6 \pm 1,9$ пкг/мл. Содержание IFN-gamma в сыворотке крови составило у собак 1-й и 2-й опытных групп $305,7 \pm 2,8$ и $235,7 \pm 2,0$ пкг/мл, у кошек – $217,4 \pm 1,9$ и $354,6 \pm 2,5$ пкг/мл соответственно (см. табл. 1, 2; рис. 1, 2).

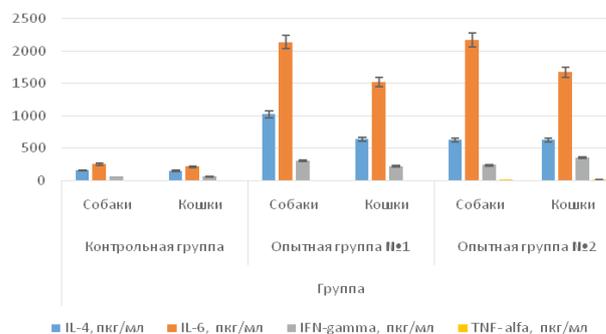


Рис. 2. Цитокиновый профиль сыворотки крови собак и кошек с болевым синдромом

При анализе содержания TNF-alfa в ликворе и сыворотке крови была отмечена динамика его увеличения у животных опытных групп (см. табл. 1, 2; рис. 1, 2).

Заключение. Нами получены новые данные, позволяющие проводить оценку иммунного статуса при остром и хроническом течении болевого синдрома у собак и кошек.

Наиболее информативными при диагностике неврологических расстройств, сопровождающихся болевым синдромом, являются IL-4, IL-6, IFN-gamma. Фактор некроза опухоли (TNF-alfa) малоинформативен.

Полученные данные создают предпосылки для дальнейшего изучения гуморальных факторов иммунитета при болевом синдроме у плотоядных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ковалева О.Н., Ащеулова Т.В. Фактор некроза опухоли альфа и апоптоз при патологии сердечно-сосудистой системы. – Харьков: Оригинал, 2003. – 170 с.
- Руденко А.А. Цитокиновый профиль сыворотки крови у собак с эндокардиозом митрального клапана // Ветеринария. – 2017. – №10. – С. 49–55.
- С-реактивный белок при острой соматической боли у новорождённых и прозревших крыс / В.Г. Овсянников [и др.] // Цитокины и воспаление. – 2015. – Т. 14. – № 1. – С. 24–26.
- BSAVA Manual of canine and feline analgesia. Second edition, 2010, P. 17–25.
- Bujak-Gizycka B. et al. Beneficial effect of amantadine on postoperative pain reduction and consumption of morphine in patients subjected to elective spine surgery. Pain Med., 2012 Mar; 13(3), P. 459–465.

Таблица 2

Цитокиновый профиль сыворотки крови собак и кошек с болевым синдромом, пкг/мл ($n = 102$; $M \pm m$)

| Показатель | Группа | | | | | |
|------------|-----------------|-----------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | контрольная | | 1-я опытная | | 2-я опытная | |
| | собаки | кошки | собаки | кошки | собаки | кошки |
| IL-4 | $159,5 \pm 2,7$ | $148,4 \pm 2,5$ | $1021,2 \pm 4,5^*$ | $638,1 \pm 3,6^*$ | $622,1 \pm 2,8^*$ | $623,3 \pm 1,9^*$ |
| IL-6 | $252,1 \pm 3,2$ | $211,8 \pm 2,9$ | $2143,6 \pm 5,3^*$ | $1524,9 \pm 4,1^*$ | $2168,1 \pm 3,6^*$ | $1673,2 \pm 4,6^*$ |
| IFN-gamma | $63,6 \pm 1,9$ | $57,2 \pm 2,1$ | $305,7 \pm 2,8^*$ | $217,4 \pm 1,9^*$ | $235,7 \pm 2,0^*$ | $354,6 \pm 2,5^*$ |
| TNF-alfa | $6,1 \pm 0,7$ | $4,8 \pm 0,9$ | $8,8 \pm 0,8^*$ | $9,6 \pm 0,9^*$ | $15,2 \pm 1,1^*$ | $11,1 \pm 0,7^*$ |



6. De Vito V. et al. Pharmacokinetic profiles of the analgesic flupirtine in dogs after the administration of four pharmaceutical formulations // *Vet AnaesthAnalg.*, 2014, P. 10–18.

7. *Feline Cardiology*. 4th Ed. Philadelphia: Saunders -Elsevier Inc. 2008, P. 443.

8. Fox S. *Chronic pain small animal medicine*, 2010, P. 8–13.

9. Kroin J.S. Multimodal analgesia for controlling acute postoperative pain. Asokumar Buvanendran, 2009, P. 12–16.

10. Theodore J. *Molecular and Cell Biology of Pain*. Price, Gregory Dussor, 2015, P. 9–8.

11. Tilley L.P., Smith F.W.K., Oyama M.A., Sleeper M.M. *Manual of Canine and Felint Cardiology*. 4th edn. St. Louis: Saunders, 2008, P. 49–76.

12. Zois N.E., Moesgaard S.G., Kjelgaard-Hansen M. et al. Circulating cytokine concentrations in dogs with different degrees of myxomatous mitral valve disease // *Vet. J.*, 2012, 192(1), P. 106–111.

13. WSAVA guidelines for recognition, assessment and treatment of pain. K. Mathews and others, 2014, P. 5–9.

Клюкин Сергей Дмитриевич, ассистент кафедры «Морфология, патология животных и биология»,

Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова. Россия.

Салутин Владимир Васильевич, д-р вет. наук, проф., зав. кафедрой «Морфология, патология животных и биология», Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова. Россия.

Козлов Сергей Васильевич, д-р вет. наук, проф. кафедры «Болезни животных и ветеринарно-санитарная экспертиза», Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова. Россия.

Пудовкин Николай Александрович, д-р биол. наук, проф. кафедры «Морфология, патология животных и биология», Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова. Россия.

Фролов Даниил Сергеевич, студент, Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова. Россия.

410005, г. Саратов, ул. Соколова, 335.

Тел.: (8452) 69-25-32.

Ключевые слова: болевой синдром; цитокины; кошки; собаки; оценка боли; ликвор; сыворотка; иммуноферментный анализ.

DYNAMICS OF CYTOKINE ACTIVITY OF CEREBROSPINAL FLUID AND BLOOD SERUM OF CARNIVORES WITH PAIN SYNDROME

Klyukin Sergey Dmitrievich, Assistant of the chair “Morphology, Pathology of Animals and Biology”, Saratov State Agrarian University named after N. I. Vavilov, Russia.

Salautin Vladimir Vasilyevich, Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Head of the chair “Morphology, Pathology of Animals and Biology”, Saratov State Agrarian University named after N. I. Vavilov, Russia.

Kozlov Sergey Vasilyevich, Doctor of Veterinary Sciences, Professor of the chair “Animal Diseases and Veterinary and Sanitary Expertise”, Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov, Russia.

Pudovkin Nikolai Alexandrovich, Doctor of Biological Sciences, Professor of the chair “Morphology, Pathology of Animals and Biology”, Saratov State Agrarian University named after N. I. Vavilov, Russia.

Frolov Daniil Sergeevich, Student, State Agrarian University named after N. I. Vavilov, Russia.

Keywords: pain syndrome; cytokines; cats; dogs; pain assessment; cerebrospinal fluid; serum; enzyme-linked immunosorbent assay

New data on the mechanisms of pain syndrome development in dogs and cats were obtained, in particular, the role of anti-inflammatory cytokines: interleukin-4 (IL-4), interleukin-6 (IL-6), interferon-gamma (IFN-gamma), tumor necrosis factor-alpha (TNF-alfa) in the formation and manifestation of this pathology was determined. The results obtained allow us to assess the dynamics of the immune status of animals with pain syndrome. Cytokines: IL-4, IL-6, and IFN-gamma showed high significance in the diagnosis of pain syndrome. Thus, the values of IL-4 in the cerebrospinal fluid and blood serum in dogs in the first experimental group were 3.5 times and 3.4 times higher in the second experimental group than in the control, in cats of the first experimental group-4.3 and 4.6 times in the second experimental group. As well as IL-4, both IL-6 and IFN-gamma showed their high activity, in contrast to TNF-alfa, which was less sensitive to changes in pain syndrome.

