

ИЗУЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ФУНКЦИОНАЛЬНО-ЗНАЧИМЫХ ГЕНОВ ПРИ ТЕРАПИИ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У ЦЫПЛЯТ

✉ ^{1,3}Бобикова А.С., Черепушкина В.С., ^{1,3}Миронова Т.Е., ^{1,2}Афонюшкин В.Н.,
^{1,3}Донченко Н.А., ^{1,3}Нефедова Е.В., ²Фуди Ян, ¹Коптев В.Ю., ⁴Фоменко В.В.

¹Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук
Новосибирская область, р.п. Краснообск, Россия

²Институт химической биологии и фундаментальной медицины Российской академии наук
Новосибирск, Россия

³Новосибирский государственный аграрный университет
Новосибирск, Россия

⁴Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения
Российской академии наук

Новосибирск, Россия

✉ e-mail: bobikova.anna97@gmail.com

Изучен уровень экспрессии противовоспалительных цитокинов NF-κB, IL-6, INF-γ, Caspasa-3, Fc у кур в легких и кишечнике при моделировании инфекционного бронхита. Для моделирования коронавирусной пневмонии вакцину вводили индивидуально, 10 доз на голову перорально. Цыплятам 1-й опытной группы скармливали препарат Люманце в расчете 3 кг/т корма, 2-й опытной – препарат Глицевир в расчете 200 мкг/0,3 мл на голову. Цыплята контрольной группы препараты не получали. Выявлено, что противовирусные препараты в опытных группах подавляли разрушение эпителиальных клеток в кишечнике. Это не всегда может свидетельствовать о позитивном характере, поскольку в случае апоптоза происходит разрушение не только пораженных вирусными частицами клеток кишечника, но и здоровых. Отмечено снижение количества активных макрофагов в кишечнике опытных групп относительно контрольной. Количество вырабатываемого интерферона также находилось ниже контроля, что свидетельствует о пониженной активности иммунной системы. Выявлена более высокая провоспалительная активность в респираторной системе цыплят при использовании Глицевира. Она заключается в повышенном уровне экспрессии генов IL-6, интерферона-гамма, рецептора макрофагов к Fc фрагментам антител, фактора регуляции воспаления NF-κB в сравнении с препаратом Люманце, обладающим противовоспалительной активностью, но и в сравнении с цыплятами контрольной группы, не подвергавшихся лечению. Сделан вывод о возможности прогнозирования риска развития обострения инфекционного процесса в легких на фоне локального снижения вирусной нагрузки в кишечнике. Необходим комплексный подход при терапии коронавирусных инфекций, включающий или противовирусные препараты системного действия, или противовоспалительные средства.

Ключевые слова: ген, интерлейкин, коронавирус, Люманце, Глицевир, цыплята

STUDY OF THE EXPRESSION OF FUNCTIONALLY RELEVANT GENES IN THE TREATMENT OF CORONAVIRUS INFECTION IN CHICKENS

✉ ^{1,3}Bobikova A.S., Cherepushkina V.S., ^{1,3}Mironova T.E., ^{1,2}Afonyushkin V.N.,
^{1,3}Donchenko N.A., ^{1,3}Nefedova E.V., ²Fudi Ya., ¹Koptev V.Yu., ⁴Fomenko V.V.

¹Siberian Federal Scientific Centre of Agro-BioTechnologies of the Russian Academy of Sciences
Krasnoobsk, Novosibirsk region, Russia

²Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, the Russian Academy of Sciences
Novosibirsk, Russia

³Novosibirsk State Agrarian University
Novosibirsk, Russia

⁴N.N. Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry, Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences

Novosibirsk, Russia

✉ e-mail: bobikova.anna97@gmail.com

The level of expression of anti-inflammatory cytokines NF-κB, IL-6, IFN-γ, Caspasa-3, FC in chickens in the lungs and intestines during the modeling of infectious bronchitis in chickens was

studied. To simulate coronavirus pneumonia, the vaccine was administered individually, 10 doses per head orally. The chickens of the 1st experimental group were fed with the Lyumantse preparation at the rate of 3 kg / t of feed, the 2nd experimental group received the Glitsevir drug at the rate of 200 µg / 0.3 ml per head. The chickens of the control group did not receive the preparations. It was revealed that antiviral drugs in the experimental groups suppressed the destruction of epithelial cells in the intestine. This may not always be an indication of a positive character, as in the case of apoptosis, not only the intestinal cells affected by the virus particles but also healthy cells are destroyed. There was a decrease in the number of active macrophages in the intestines of the experimental groups relative to the control. The amount of interferon produced was also below the control, which indicates a decreased activity of the immune system. A higher pro-inflammatory activity in the respiratory system of chickens was detected when Glicevir was used. It consists of increased expression of IL-6, interferon-gamma, macrophage receptor to Fc antibody fragments and inflammatory regulatory factor NF-kB genes compared to Lumantse with anti-inflammatory activity, but also compared to untreated control group chickens. It is concluded that it is possible to predict the risk of an exacerbation of an infectious process in the lungs against the background of a local decrease in the viral load in the intestine. An integrated approach is needed in the treatment of coronavirus infections, including either systemic antiviral drugs or anti-inflammatory drugs.

Key words: gene, interleukin, coronavirus, Lyumantse, Glitsevir, chickens

Для цитирования: Бобикова А.С., Черепушкина В.С., Миронова Т.Е., Афонюшкин В.Н., Донченко Н.А., Нефедова Е.В., Фуди Ян, Коптев В.Ю., Фоменко В.В. Изучение экспрессии функционально-значимых генов при терапии коронавирусной инфекции у цыплят // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2021. Т. 51. № 5. С. 68–76. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2021-5-8>

For citation: Bobikova A.S., Cherepushkina V.S., Mironova T.E., Afonyushkin V.N., Donchenko N.A., Nefedova E.V., Fudi Ya., Koptev V.Yu., Fomenko V.V. Study of the expression of functionally relative genes in the treatment of coronavirus infection in chickens // *Sibirskii vestnik sel'skokhozyaistvennoi nauki* = *Siberian Herald of Agricultural Science*, 2021, vol. 51, no. 5, pp. 68–76. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2021-5-8>

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Благодарность

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и правительства Новосибирской области в рамках проекта № 20-416-540006 p_a Новосибирск «Изучение анатомо-функциональных, эпизоотологических и иммунобиологических факторов, способных создать риски заражения людей коронавирусами от сельскохозяйственных животных».

Acknowledgements

The study was carried out with the financial support of the Russian Foundation for Basic Research and the Government of the Novosibirsk Region within the framework of project No. 20-416-540006 r_a Novosibirsk «Study of anatomical-functional, epizootological and immunobiological factors that can create risks of human infection with coronaviruses from farm animals».

ВВЕДЕНИЕ

В современной науке провоспалительные и противовоспалительные цитокины рассматриваются как важнейший фактор межклеточного и системного взаимодействия в организме. Цитокины – это группа эндогенных гликозилированных полипептидных медиаторов межклеточного взаимодействия, участвующих в формировании и развитии защитных реакций организма при внедрении патогенов и нарушении целостности тканей, а также в регуляции ряда нормальных физиологических функций [1].

Состояние иммунных функций организма во многом определяется соотношением провоспалительных и противовоспалительных цитокинов. Доказано существование функционального антагонизма между ними [2]. Острое возрастание уровня цитокинов в циркуляции приводит к развитию защитной системной воспалительной реакции, которую нередко называют цитокиновым штормом. Патологически высокая концентрация провоспалительных цитокинов может вызывать септический шок и гибель организма. В ситуациях, когда уровень цитокинов дли-

тельное время превышает физиологическую концентрацию, они становятся уже не медиаторами защиты, а медиаторами развития патологии [3–6]. Это обусловлено в том числе и популяционно: необходимо элиминировать организм, чтобы не произошло дальнейшего распространения патологии.

Интерлейкин 6 (IL-6) – иммунорегуляторный цитокин с широким спектром действия: он регулирует процессы воспаления и клеточного деления. IL-6 синтезируется из макрофагов, Т-клеток, фибробластов, эндотелиальных клеток сосудов, глиальных и эпителиальных клеток после взаимодействия с патогенными молекулами. При формировании иммунного ответа интерлейкин 6 участвует в выработке антител. Избыток этого цитокина приводит к развитию аутоиммунной реакции и повреждению тканей [7].

Каспазы – семейство цистеиновых протеаз, которые участвуют в расщеплении пептидных связей. Экспрессия каспаз-3, -8, -9 является показателем цитотоксичности апоптотического стимула, что делает эти маркеры важной частью исследований, касающихся процессов апоптоза в организме [8].

Клетки иммунной системы взаимодействуют друг с другом с использованием цитокинов – модуляторов иммунных реакций. Среди них важное место занимают интерфероны. Они обладают противовирусным и антибактериальным действием, участвуют в противоопухолевом иммунном ответе [9]. INF- γ , как и большинство цитокинов, обладает плеiotропным действием и играет важную роль в иммунном ответе. Первоначально считалось, что INF- γ продуцируется только натуральными киллерами (NK), CD4 + Th1-лимфоцитами и цитотоксическими CD + Т-лимфоцитами. Позднее стало известно, что В-лимфоциты, НКТ-клетки и антигенпрезентирующие клетки (APC) (макрофаги, дендритные клетки) также способны секретировать данный цитокин [10].

NF-kB обнаружен почти во всех типах клеток животных и участвует в клеточных реакциях на раздражители: стресс, цитокины, свободные радикалы, тяжелые металлы, ультрафиолетовое облучение, окисленные

ЛПНП, а также бактериальные или вирусные антигены. NF-kB играет ключевую роль в регулировании иммунного ответа на инфекцию [11, 12].

Антивирусный эффект лекарств часто выявляется с помощью qRT-PCR [13–15], IFA [16, 17].

В нескольких сообщениях указывается, что сигнальные пути MDA5 и цитокины врожденного иммунитета активируются после инфицирования штаммом IBV M41 [18]. Путь передачи сигналов MDA5 нарушен расщеплением адаптерного белка MAVS в штамме инфекции IBV JS/2010/12 [19]. Ответ INF типа I играет решающую роль в сопротивлении штамму SAIBK2 IBV [20]. Сигнальные пути MDA5 и цитокин врожденного иммунитета (NF-kB и IRF3) индуцировались после инфицирования штаммом IBV-M41 [17]. Исследователями обнаружено, что уровни экспрессии мРНК MDA5, MAVS, INF- α , INF- β , NF-kB, TNF- α и IL-6 значительно повышены после инфицирования IBV *in vitro* и *in vivo* [18].

Цель исследования – оценить экспрессию генов IL-6, Fc, NF-kB, Caspasa-3 и INF- γ на фоне коронавирусной инфекции у цыплят.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Цыплята кросса Шавер в возрасте 14 сут были вакцинированы против инфекционного бронхита кур (вакцина против ИБК, штамм Ma5, живая сухая). Для моделирования коронавирусной пневмонии вакцину вводили индивидуально, 10 доз на голову перорально. Цыплятам 1-й опытной группы ($n = 10$) скармливали препарат Люманце в расчете 3 кг/т корма, 2-й опытной ($n = 10$) – препарат Глицевир (производное глицерризиновой кислоты в составе наночастиц хитозана) в расчете 200 мкг/0,3 мл на голову. Концентрат разводили в 3 раза. Цыплята контрольной группы ($n = 11$) препараты не получали.

На 22-е сутки осуществляли убой птицы методом цервикально-церебральной дислокации и проводили патологоанатомическое вскрытие птиц. Из внутренних органов методом фенолхлороформной экстракции вы-

деляли РНК, осуществляли ОТ-ПЦР. Синтез кДНК проводили с использованием олигонуклеотида N7.

Для подтверждения успешности заражения тестировали наличие геномной РНК вируса ИБК методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени, ПЦР проводили в конечном объеме 20 мкл, содержащем 67 мМ трис-НCl (pH 8,9), 16 мМ (NH₄)₂SO₄, 2,4 мМ MgCl₂, 0,01% Твин 20, 0,2 мМ дНТФ, 0,3 мкМ растворы олигонуклеотидных праймеров 5'-atgctcaacctgtccctagca-3' 5'-tcaaactgcggatcatcacgt-3' и зонда FAM-tggaagtagagtgcacgccccaaac-BHQ, 1–2 ед. HotStart Taq-ДНК полимеразы. ПЦР проводили на амплификаторе CFX (BioRad) по следующей программе: начальная денатурация – 95 °C (15 мин), далее 40 циклов: денатурация – 95 °C (10 с), отжиг – 60 °C (30 с).

Контроль выделяемости РНК из образцов осуществляли с использованием ПЦР в режиме реального времени специфичного в отношении мРНК гена домашнего хозяйства glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) по протоколу, указанному выше, с использованием праймеров 5'-cgtgacccagcaacatcaa3' и 5'-acttaccagccttctccat3' taqman зонда ROX-tggagtgccactggtgtcttcacc- BHQ2.

Экспрессию генов IL-6, Fc, NF-kB, Caspasa-3, INF-γ оценивали методом дельта-дельта Ct относительно уровня экспрессии генов домашнего хозяйства (см. таблицу).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Препараты Люманце и Глицевир подавляли разрушение эпителиальных клеток в кишечнике опытных групп (см. рис. 1). Это не всегда свидетельствует о позитивном характере, поскольку в случае апоптоза происходит разрушение не только здоровых, но и зараженных клеток. Отмечено снижение количества активных макрофагов в кишечнике относительно контрольной группы. Количество вырабатываемого интерферона также находилось ниже контроля, что свидетельствует о пониженной активности иммунной системы.

Препарат Глицевир состоит из наночастиц, которые не всасываются в кишечнике, и обладает местным действием. Препарат Люманце может всасываться, поскольку содержит соли масляной кислоты и помимо местного обладает и системным действием. В кишечнике оба препарата снизили вирусную нагрузку.

Препарат Глицевир спровоцировал более интенсивную экспрессию генов, участвующих в иммунном ответе и воспалении, что характеризуется повышенным уровнем NF-kB, IL-6, INF-γ (большее количество Т-хелперов встречается с вирусными частицами), Fc (большее количество макрофагов) и Caspasa-3 (клетки в легких разрушаются интенсивнее) (см. рис. 2).

О подавлении разрушения эпителиальных клеток опытными препаратами также свидетельствует пониженная удельная доля

Нуклеотидные последовательности праймеров ПЦР для оценки экспрессии генов
PCR primer nucleotide sequences for assessing gene expression

Интерлейкин	Праймер	Ссылка на источник	ПЦР-программа			
IL-6	5'-aatcctcctcgcgaatct-3' 5'-ccctcacggtcttctcataaa-3'	[21]	1	95 °C	7 мин	1 цикл
Caspasa-3	5'-ccaccgagataccggactgt-3' 5'-aactgcttcgcttctgtga-3'	[22]	2	95 °C	15 с	39 циклов
INF-γ	5'-cactgacaagtcaaacgccc-3' 5'-accttcttcacgccatcagg-3'	[22]				
FcR	5'-cactgacaagtcaaacgccc-3' 5'-accttcttcacgccatcagg-3'	[22]				
NF-kB	5'-tcaacgcaggacctaagacat-3' 5'-gcagatagccaagttcaggatg-3'	[22]	3	64,5 °C	30 с	END

Данные обрабатывали методами вариационной и непараметрической статистики.

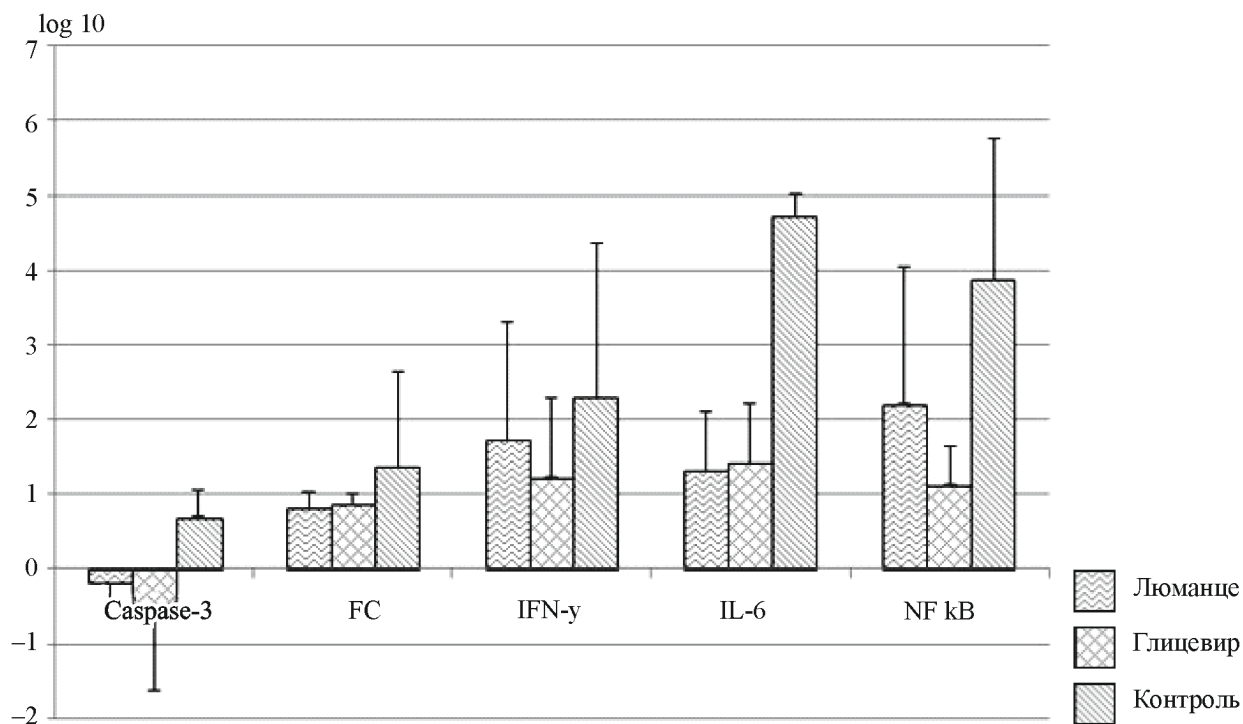


Рис. 1. Экспрессия генов в кишечнике у птицы опытной и контрольной групп, log10(ddCt) (относительно GAPDH)

Fig. 1. Gene expression in the intestine of birds in the experimental and control groups, log10(ddCt) (relative to GAPDH)

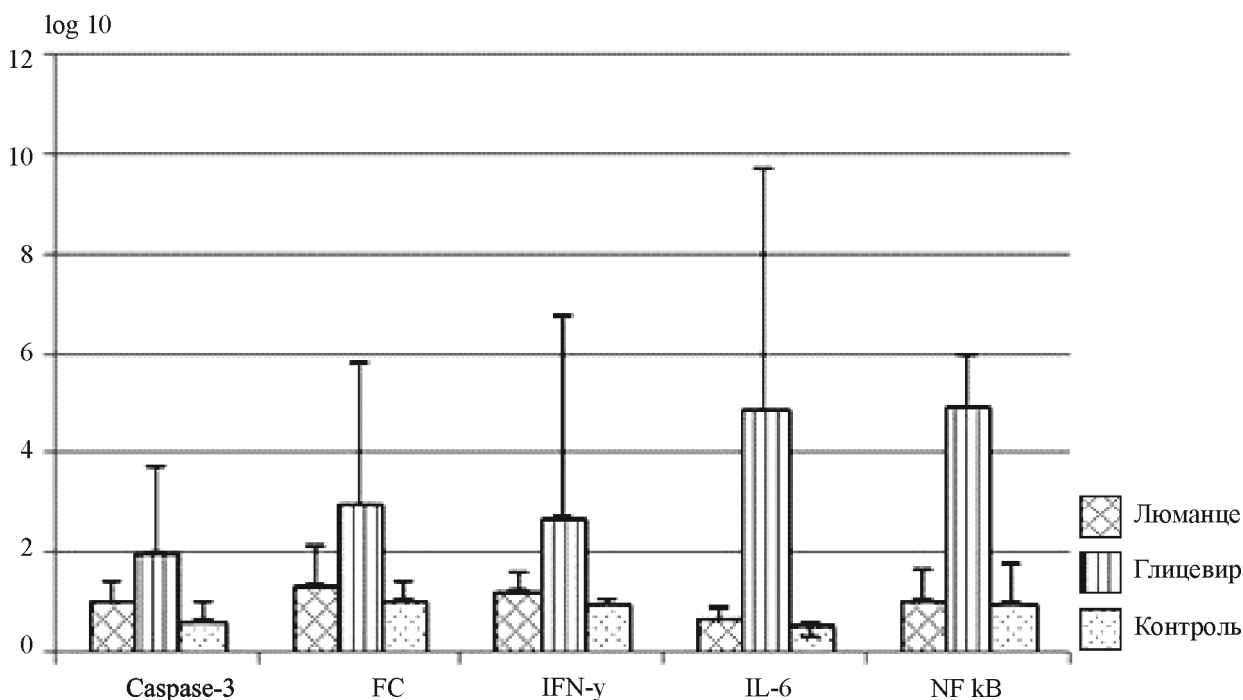


Рис. 2. Экспрессия генов в легких у птицы опытной и контрольной групп, log10(ddCt) (относительно GAPDH)

Fig. 2. Gene expression in lungs of poultry from experimental and control groups, log10(ddCt) (relative to GAPDH)

Fc-фрагмента относительно контрольной группы. Fc-рецептор присутствует на макрофагах и отвечает за связывание антител с макрофагом. Можно утверждать о снижении количества активных макрофагов в кишечнике относительно контрольной группы. Каспазы играют важную роль в развитии и регуляции апоптоза и воспалительных процессов. В данном случае (поскольку сам коронавирус не влияет на разрушение клеток) происходит разрушение пораженных клеток иммунными агентами, например Т-киллерами.

При взаимодействии Т-хелпера с антигеном вырабатывается интерферон гамма (INF- γ), который является провоспалительным цитокином и активирует множество клеток (Т-клетки, В-клетки и др.). В кишечнике количество вырабатываемого интерферона снижено, это также свидетельствует о пониженной активности иммунной системы.

Интерлейкин-6 является провоспалительным цитокином, количество которого напрямую влияет на развитие цитокинового шторма. IL-6 создает в организме условия сверхнагрузки иммунной системы, и возникают два пути развития: элиминация возбудителя в полной мере или элиминация самого зараженного животного [7, 11]. В момент, когда вирусные антигены встречается с толл-лайн рецепторами, активируется NF-kB, который, в свою очередь, является пусковым механизмом как для врожденного иммунного ответа (миграция макрофагов и др.), так и для адаптивного иммунитета (выработка антител, формирование Т-клеток). NF-kB – наиболее ранний фактор и наиболее активно эксплуатируется при коронавирусных инфекциях. Это проявляется аномально длительной миграцией нейтрофилов, гранулоцитов в очаг воспаления, их активизацией, а также повышенной пролиферацией, в то время как при обычной инфекции имеется лишь короткий период, когда нейтрофилы осуществляют борьбу с первичным очагом заражения. Этот механизм может впоследствии привести к лейкотриеновому шторму, в дальнейшем – к цитокиновому.

Глицирризиновая кислота оказывает противовирусное, противовоспалительное, противозудное и иммуномодулирующее действие, влияет на разные типы ДНК и РНК вирусов *in vitro* и *in vivo*, прерывает репликацию вирусов на ранних стадиях, вызывает выход вириона из капсида, не допуская его проникновения в клетки, что связано с селективным дозозависимым ингибированием фосфорилирующей киназы. Глицирризиновая кислота взаимодействует со структурами вируса, изменяя различные фазы вирусного цикла, что сопровождается необратимой инактивацией вирусных частиц, находящихся в свободном состоянии вне клеток, блокирует внедрение активных вирусных частиц внутрь клетки, нарушает способность вируса к индукции синтеза новых вирусных частиц, индуцирует образование интерферона, что является одним из компонентов противовирусного действия, инактивирует указанные вирусы в нетоксичных для нормально функционирующих клеток концентрациях. Противовоспалительная активность глицирризиновой кислоты сочетается со стимулирующим влиянием на гуморальные и клеточные факторы иммунитета¹.

Различия между активностью препаратов с наличием резорбтивного эффекта (Люманце) и его отсутствием (Глицевир в составе наночастиц хитозана) заключаются в более высокой провоспалительной активности в респираторной системе при использовании Глицевира. Она заключается в повышенном уровне экспрессии генов IL-6, интерферона-гамма, рецептора макрофагов к Fc фрагментам антител, фактора регуляции воспаления NF-kB не только в сравнении с препаратом Люманце, обладающим заведомо противовоспалительной активностью благодаря наличию в составе масляной кислоты, но и в сравнении с контрольной группой цыплят, не подвергавшихся лечению.

Нами предложены две гипотезы о действии препаратов на пораженный кишечник:

– оба препарата уменьшают воспаление в кишечнике через подавление иммунореактивности и, как следствие, снижают иммунный ответ;

¹ Пат. РФ № 2044145 (Российская Федерация). Ди- и триникотинаты глицирризиновой кислоты и ингибитор репродукции вируса иммунодефицита человека / Г.А. Толстикова, Л.А. Балтина, К.П. Волчо, О.А. Плясунова, А.Г. Покровский, Н.Ф. Салахутдинов. Опубл. 10.08.2007. Бюл. № 22.

– препараты снижают вирусную нагрузку, соответственно происходит менее интенсивная презентация вирусных антигенов, меньше вырабатывается иммунокомпетентных клеток.

При любой из этих гипотез Глицевир оказывал подавляющее действие на воспалительные процессы в кишечнике, не влияя на легкие (см. рис. 1).

В качестве основной версии рассматривается снижение активности иммунокомпетентных клеток в составе желудочно-кишечного тракта, в первую очередь – Treg лимфоцитов (активных продуцентов противовоспалительного цитокина IL10) в связи с подавлением инфекционного процесса локально, по месту действия Глицевира, т.е. в кишечнике. В пользу этого предположения свидетельствует подавление активности экспрессии гена IL-6, прямого антагониста провоспалительного цитокина IL10 и клеток, продуцирующих данный интерлейкин. Вся кровь и лимфа из желудочно-кишечного тракта обязательно проходят через легкие, т.е. практически без разбавления, поэтому вклад регуляторной активности иммунной системы кишечника в отношении иммунокомпетентных клеток легких должен быть существенным. Таким образом, можно спрогнозировать риск развития обострения инфекционного процесса в легких на фоне локального снижения вирусной нагрузки в кишечнике, что требует комплексного подхода в терапии коронавирусных инфекций, включающего или противовирусные препараты системного действия, или противовоспалительные средства.

ВЫВОДЫ

1. На модели коронавирусной инфекции обнаружено статистически значимое подавление экспрессии провоспалительного цитокина IL-6 ($p < 0,05$) в опытных группах цыплят, получавших препараты Люманце и Глицевир.

2. Применение препарата Глицевир в составе наночастиц хитозана ограничивалось локальным действием что характеризовалось отсутствием подавления провоспалительных цитокинов в легких и, напротив, отличалось от действия Люманце повышением дисперсии уровней экспрессии исследуемых генов и средними уровнями прироста экспрессии генов

IL-6, NF-kB, INF- γ (провоспалительных цитокинов) и Caspasa-3, Fc-фрагментов в ткани легких.

3. Для снижения рисков обострения пневмоний при коронавирусных инфекциях применение противовирусных препаратов местного действия в кишечнике должно подталкивать использование противовоспалительных препаратов системного действия.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Кетлинский С.А.* Цитокины: монография. СПб.: Фолиант, 2008. С. 9–22.
2. *Перцов С.С., Коплик Е.В., Калинин Л.С.* Действие интерлейкина-1 β и интерлейкина-4 на альбуминовые показатели крови у крыс с разной поведенческой активностью // *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2011. Т. 97. № 3. С. 276–282.
3. *Симбирцев А.С.* Иммунофармакологические аспекты системы цитокинов // *Бюллетень сибирской медицины*. 2019. С. 84–95. DOI: 10.20538/1682-0363-2019-1-84-95.
4. *Balkwill F.R., Burke F.* Immunology Today // *Immunology Today*. 1989. Vol. 10. P. 299–304.
5. *Paul W.E.* Pleiotrophy and redundancy: T cell derived lymphokines in the immune response // *Cell*. 1989. N 57. P. 521–524.
6. *Arai K., Lee E., Miyajima A.* Cytokines: coordinators of immune and inflammatory responses // *Annual Review of Biochemistry*. 1990. Vol. 59. P. 783–836.
7. *Петинати Н.А., Шипунова И.Н., Бигильде-ев А.Е.* Анализ экспрессии генов, участвующих в модуляции иммунного ответа, в неактивированных мультипотентных мезенхимальных стромальных клетках // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2012. № 2. С. 211–216.
8. *Дятлова А.С., Дудков А.В., Линькова Н.С.* Молекулярные маркеры каспаза-зависимого и митохондриального апоптоза: роль в развитии патологии и в процессах клеточного старения // *Успехи современной биологии*. 2018. Т. 138. № 2. С. 126–137.
9. *Bufe A., Gehlhar K., Grage-Griebenow E.* Atopic phenotype in children is associated with decreased virus-induced interferon-alpha release // *International Archives of Allergy and Immunology*. 2002. Vol. 127. N 1. P. 82–85.
10. *Schoenborn J.R., Wilson C.B.* Regulation of interferon-gamma during innate and adaptive immune responses // *Advances in Immunology*. 2007. Vol. 96. P. 41–101.
11. *Серебренникова С.Н., Семинский И.Ж.* Основные регуляторные цитокины и их эффекты //

- Патофизиология воспалительного процесса. Иркутск, 2014. С. 20–27.
12. Liu T., Zhang L., Joo D., Sun S.C. NF- κ B signaling in inflammation. // *Signal Transduct Target Ther*. 2017. Vol. 2. N 17023. DOI: 10.1038/sigtrans.2017.23.
 13. Schnepf N., Boiteau N., Petit F. Rapid determination of antiviral drug susceptibility of human cytomegalovirus by real-time PCR // *Antiviral Research*. 2009. Vol. 81. P. 64–67. DOI: 10.1016/j.antiviral.2008.09.009.
 14. Li H., Wu J., Zhang Z. Forsythoside A inhibits the avian infectious bronchitis virus in cell culture // *Phytotherapy Research*. 2011. Vol. 25. P. 338–342. DOI: 10.1002/ptr.3260.
 15. Zhang P., Liu X., Liu H. Astragalus polysaccharides inhibit avian infectious bronchitis virus infection by regulating viral replication // *Microbial Pathogenesis*. 2018. Vol. 114. P. 124–128. DOI: 10.1016/j.micpath.2017.11.026.
 16. Xu X., Guo H., Xiao C. In vitro inhibition of classical swine fever virus replication by siRNAs targeting Npro and NS5B genes // *Antiviral Research*. 2008. Vol. 78. P. 188–193. DOI: 10.1016/j.antiviral.2007.12.012.
 17. Zhang W., Bouwman K.M., Van Beurden S.J. Chicken mannan binding lectin has antiviral activity towards infectious bronchitis virus // *Virology*. 2017. Vol. 509. P. 252–259. DOI: 10.1016/j.virol.2017.06.028.
 18. He Y., Xie Z., Dai J. Responses of the toll-like receptor and melanoma differentiation-associated protein 5 signaling pathways to avian infectious bronchitis virus infection in chicks // *Virologica Sinica*. 2016. Vol. 31. P. 57–68. DOI: 10.1007/s12250-015-3696-y.
 19. Yu L., Zhang X., Wu T. Avian infectious bronchitis virus disrupts the melanoma differentiation associated gene 5 (MDA5) signaling pathway by cleavage of the adaptor protein MAVS // *BMC Veterinary Research*. 2017. Vol. 332. N 13. P. 1–11. DOI: 10.1186/s12917-017-1253-7.
 20. Chen H., Muhammad I., Zhang Y., Ren Y., Zhang R., Huang X., Diao L., Liu H., Li X., Sun X., Abbas G., Li G. Antiviral Activity Against Infectious Bronchitis Virus and Bioactive Components of *Hypericum perforatum* // *Frontiers in Pharmacology*. 2019. Vol. 10. N 1272. DOI: 10.3389/fphar.2019.01272.
 21. Cheng P., Wang T., Li W. Baicalin Alleviates Lipopolysaccharide-Induced Liver Inflammation in Chicken by Suppressing TLR4-Mediated NF- κ B Pathway // *Frontiers in Pharmacology*. 2017. N 547. P. 1–12. DOI: 10.3389/fphar.2017.00547.
 22. Sun X., Wang Z., Shao C., Yu J., Liu H., Chen H., Li L., Wang X., Ren Y., Huang X., Zhang R., Li G. Analysis of chicken macrophage functions and gene expressions following infectious bronchitis virus M41 infection. *Vet Res*. 2021. Vol. 52. N 1. DOI: 10.1186/s13567-021-00896-z.

REFERENCES

1. Ketlinsky S.A. *Cytokines*. St. Petersburg, Foliant Publ., 2008, pp. 9–22. (In Russian).
2. Pertsov S.S., Koplik E.V., Kalinichenko L.S. The effect of interleukin-1 β and interleukin-4 on albumin blood parameters in rats with different behavioral activity. *Rossiiskii fiziologicheskii zhurnal im. I.M. Sechenova = Russian journal of physiology*, 2011, T. 97, no. 3, pp. 276–282. (In Russian).
3. Simbirtsev A.S. Immunopharmacological aspects of the cytokine system. *Byulleten' sibirskoi meditsiny = Bulletin of Siberian Medicine*, 2019, pp. 84–95. (In Russian). DOI: 10.20538/1682-0363-2019-1-84-95.
4. Balkwill F.R., Burke F. *Immunology Today*. 1989, vol. 10, pp. 299–304.
5. Paul W.E. Pleiotrophy and redundancy: T cell derived lymphokines in the immune response. *Cell*, 1989, no. 57, pp. 521–524.
6. Arai K., Lee E., Miyajima A. Cytokines: coordinators of immune and inflammatory responses. *Annual Review of Biochemistry*, 1990, vol. 59, pp. 783–836.
7. Petinati N.A., Shipunova I.N., Bigildeev A.E. Analysis of the expression of genes involved in the modulation of the immune response in non-activated multipotent mesenchymal stromal cells. *Byulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2012, no. 2, pp. 211–216. (In Russian).
8. Dyatlova A.S., Dudkov A.V., Linkova N.S. Molecular markers of caspase-dependent and mitochondrial apoptosis: a role in the development of pathology and in the processes of cellular aging. *Uspekhi sovremennoi biologii = Advances in modern biology*, 2018, vol. 138, no. 2, pp. 126–137. (In Russian).
9. Bufe A., Gehlhar K., Grage-Griebenow E. Atopic phenotype in children is associated with decreased virus-induced interferon-alpha release. *International Archives of Allergy and Immunology*, 2002, vol. 127, no. 1, pp. 82–85.
10. Schoenborn J.R., Wilson C.B. Regulation of interferon-gamma during innate and adaptive immune responses. *Advances in Immunology*, 2007, vol. 96, pp. 41–101.
11. Serebrennikova S.N., Seminsky I.Zh. Basic regulatory cytokines and their effects. *Patofiziologiya*

- vospalitel'nogo protsessa: uchebnoe posobie = Pathophysiology of the inflammatory process*. Irkutsk, 2014, pp. 20–27. (In Russian).
12. Liu T., Zhang L., Joo D., Sun S.C. NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduct Target Ther*, 2017, vol. 2, no. 17023. DOI: 10.1038/sigtrans.2017.23.
 13. Schnepf N., Boiteau N., Petit F. Rapid determination of antiviral drug susceptibility of human cytomegalovirus by real-time PCR. *Antiviral Research*, 2009, vol. 81, pp. 64–67. DOI: 10.1016/j.antiviral.2008.09.009.
 14. Li H., Wu J., Zhang Z. Forsythoside A inhibits the avian infectious bronchitis virus in cell culture. *Phytotherapy Research*, 2011, vol. 25, pp. 338–342. DOI: 10.1002/ptr.3260.
 15. Zhang P., Liu X., Liu H. Astragalus polysaccharides inhibit avian infectious bronchitis virus infection by regulating viral replication. *Microbial Pathogenesis*, 2018, vol. 114, pp. 124–128. DOI: 10.1016/j.micpath.2017.11.026.
 16. Xu X., Guo H., Xiao C. In vitro inhibition of classical swine fever virus replication by siRNAs targeting Npro and NS5B genes. *Antiviral Research*, 2008, vol. 78, pp. 188–193. DOI: 10.1016/j.antiviral.2007.12.012.
 17. Zhang W., Bouwman K.M., Van Beurden S.J. Chicken mannose binding lectin has antiviral activity towards infectious bronchitis virus. *Virology*, 2017, vol. 509, pp. 252–259. DOI: 10.1016/j.virol.2017.06.028.
 18. He Y., Xie Z., Dai J. Responses of the toll-like receptor and melanoma differentiation-associated protein 5 signaling pathways to avian infectious bronchitis virus infection in chicks. *Virologica Sinica*, 2016, vol. 31, pp. 57–68. DOI: 10.1007/s12250-015-3696-y.
 19. Yu L., Zhang X., Wu T. Avian infectious bronchitis virus disrupts the melanoma differentiation associated gene 5 (MDA5) signaling pathway by cleavage of the adapter protein MAVS. *BMC Veterinary Research*, 2017, no. 13, vol. 332, pp. 1–11. DOI: 10.1186/s12917-017-1253-7.
 20. Chen H., Muhammad I., Zhang Y., Ren Y., Zhang R., Huang X., Diao L., Liu H., Li X., Sun X., Abbas G., Li G. Antiviral Activity Against Infectious Bronchitis Virus and Bioactive Components of *Hypericum perforatum*. *Frontiers in Pharmacology*, 2019, vol. 10, no. 1272. DOI: 10.3389/fphar.2019.01272.
 21. Cheng P., Wang T., Li W. Baicalin Alleviates Lipopolysaccharide-Induced Liver Inflammation in Chicken by Suppressing TLR4-Mediated NF- κ B Pathway. *Frontiers in Pharmacology*, 2017, no. 547, pp. 1–12. DOI: 10.3389/fphar.2017.00547.
 22. Sun X., Wang Z., Shao C., Yu J., Liu H., Chen H., Li L., Wang X., Ren Y., Huang X., Zhang R., Li G. Analysis of chicken macrophage functions and gene expressions following infectious bronchitis virus M41 infection. *Vet Res*, 2021, vol. 52, no. 1. DOI: 10.1186/s13567-021-00896-z.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

✉ **Бобикова А.С.**, младший научный сотрудник, аспирант; **адрес для переписки:** Россия, 630501, Новосибирская область, р.п. Краснообск, а/я 463; e-mail: bobikova.anna97@gmail.com

Черепушкина В.С., младший научный сотрудник

Миронова Т.Е., младший научный сотрудник, аспирант

Донченко Н.А., член-корреспондент РАН, руководитель структурного подразделения

Афонюшкин В.Н., кандидат биологических наук, заведующий сектором

Нефедова Е.В., кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник

Фуди Ян, аспирант

Коптев В.Ю., кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник

Фоменко В.В., кандидат химических наук, научный сотрудник

AUTHOR INFORMATION

✉ **Anna S. Bobikova**, Junior researcher, Postgraduate Student; **address:** PO Box 463, Krasnoobsk, Novosibirsk Region, 630501, Russia; e-mail: bobikova.anna97@gmail.com

Victoria S. Cherepushkina, Junior Researcher
Tatiana E. Mironova, Junior Researcher, Postgraduate Student

Nikolay A. Donchenko, the Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of Scientific Direction

Vasily N. Afonyushkin, Candidate of Science in Biology, the Head of the sector

Ekaterina V. Nefedova, Candidate of Science in Veterinary, Senior Researcher

Yang Fudy, Postgraduate Student;

Vyacheslav Yu. Koptev, Candidate of Science in Veterinary, Senior Researcher

Vladislav V. Fomenko, Candidate of Science in Chemistry, Researcher

Дата поступления статьи / Received by the editors 14.05.2021
Дата принятия к публикации / Accepted for publication 01.10.2021
Дата публикации / Published 25.11.2021