

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ И ИММУНОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ / INFECTIOUS DISEASES AND ANIMAL IMMUNOLOGY

DOI: <https://doi.org/10.60797/JAE.2024.49.4>ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИНГИБИРОВАНИЯ ШТАММАМИ ЛАКТОБАЦИЛЛРАЗНОГО ВИДА ПРОДУКЦИИ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ ЧЕЛОВЕКА CACO-2, ИНДУЦИРОВАННОЙ *CAMPYLOBACTER JEJUNI*

Научная статья

Кузнецов Ю.Е.^{1,*}¹ ORCID : 0000-0001-9095-7049;¹ Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, Санкт-Петербург, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (farm_congress[at]mail.ru)

Аннотация

В результате исследования оценены эффекты влияния лактобактерий на уровни экспрессии провоспалительных цитокинов в клетках Caco-2, индуцированных *Campylobacter jejuni*. Для определения эффективности ингибирования штаммами лактобацилл продукции провоспалительных цитокинов применяли пять видов бактерий рода *Lactobacillus*: *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. fermentum*, *L. reuteri* и *L. plantarum*. В качестве целевых цитокинов выбраны интрелейкин-1 альфа (Ил-1а) и интерлейкин-6 (Ил-6). Ил-1а синтезируется многими клетками организма и вызывает повышение температуры, а также отвечает за контроль активности лейкоцитов и увеличение количества клеток костного мозга, что может приводить к дегенерации суставов. Интерлейкин 6 является одним из наиболее важных медиаторов острой фазы воспаления. Накопление данного цитокина приводит к повышению температуры тела, оказывает стимулирующее действие на синтез белков острой фазы печени, стимулирует пролиферацию и дифференцировку В- и Т-клеток, а также лейкоцитопоз. Избыточная продукция Ил-6 приводит к повреждению тканей вследствие аутоиммунных реакций. В качестве референсного использовали ген домашнего хозяйства hBD-1 (человеческий b-дефенсин). Экспрессия данного белка является конститутивной и не регулируется провоспалительными стимулами или бактериальной инвазией. Совместное инкубирование культуры Caco-2 с *C. jejuni* и данным микроорганизмом показало снижения экспрессии Ил-1а и Ил-6 в зараженных клетках до значений, соответствующих контролю. Экспериментально установлено, что при совместном инкубировании клеток Caco-2 с *C. jejuni* и *L. crispatus* экспрессия Ил-1а снижается в 220 раз по сравнению с контрольными индуцированными *C. jejuni* клетками, а экспрессия Ил-6 снижается в 900 раз. Доказано, что штамм *L. fermentum* не влияет на уровни экспрессии изучаемых интерлейкинов, а штамм микроорганизма *L. reuteri* способствует снижению цитокинов до 2000 раз. Показано, что, присутствие *L. plantarum* приводит к снижению синтеза Ил-1а в индуцированной культуре до нормальных уровней, но наиболее эффективной с точки зрения ингибирования провоспалительных цитокинов показал себя штамм *L. gasseri*.

Ключевые слова: цитокины, кампилобактер, патоген, праймер, интерлейкин, экспрессия генов, цитокиновые рецепторы.

STUDY OF THE EFFICIENCY OF INHIBITION BY LACTOBACILLUS SPECIES STRAINS OF PRO-INFLAMMATORY CYTOKINE PRODUCTION BY HUMAN EPITHELIAL CELLS OF CACO-2 INDUCED BY *CAMPYLOBACTER JEJUNI*

Research article

Kuznetsov Y.Y.^{1,*}¹ ORCID : 0000-0001-9095-7049;¹ St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, Saint-Petersburg, Russian Federation

* Corresponding author (farm_congress[at]mail.ru)

Abstract

The study evaluated the effects of lactobacilli on the expression levels of proinflammatory cytokines in Caco-2 cells induced by *Campylobacter jejuni*. Five species of bacteria of the genus *Lactobacillus*: *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. fermentum*, *L. reuteri* and *L. plantarum* were used to determine the efficiency of inhibition of pro-inflammatory cytokine production by *Lactobacillus* strains. Intrleukin-1 alfa (Il-1a) and interleukin-6 (Il-6) were selected as target cytokines. Il-1a is synthesized by many cells in the body and causes fever and is responsible for controlling leukocyte activity and increasing the number of bone marrow cells, which can lead to joint degeneration. Interleukin 6 is one of the most important mediators of the acute phase of inflammation. Accumulation of this cytokine leads to an increase in body temperature, has a stimulating effect on the synthesis of acute phase proteins by the liver, stimulates proliferation and differentiation of B- and T-cells, as well as leukocytopoiesis. Excess production of Il-6 leads to tissue damage due to autoimmune reactions. The housekeeping gene hBD-1 (human b-defensin) was used as a reference. The expression of this protein is constitutive and is not regulated by pro-inflammatory stimuli or bacterial invasion. Co-incubation of Caco-2 culture with *C. jejuni* and this microorganism showed a decrease in the expression of Il-1a and Il-6 in infected cells to the values corresponding to the control. It was experimentally established that when Caco-2 cells were co-incubated with *C. jejuni* and *L. crispatus*, Il-1a expression was reduced 220-fold compared to control *C. jejuni*-induced cells, and Il-6 expression was reduced 900-fold. It is proved that *L. fermentum* strain does not affect the expression levels of the studied interleukins, while *L. reuteri* microorganism strain contributes to the reduction of cytokines

up to 2000 times. It is shown that the presence of *L. plantarum* leads to a decrease in the synthesis of IL-1a in the induced culture to normal levels, but the most effective in terms of inhibition of pro-inflammatory cytokines was shown to be the strain of *L. gasseri*.

Keywords: cytokines, campylobacter, pathogen, primer, interleukin, gene expression, cytokine receptors.

Введение

Продукты промышленного птицеводства относятся к наиболее распространенным в большинстве стран. Эти продукты являются основным источником инфицирования людей кампилобактериями [5], [11], [12]. У цыплят, выращенных в условиях промышленного птицеводства, отсутствует колонизационная резистентность кишечника в отношении комменсалов *Campylobacter* [6], [8], [14]. Эти микроорганизмы вызывают у человека диарею и многочисленные серьезные осложнения. Высокая антигенная изменчивость *Campylobacter* снижает эффективность вакцин и свидетельствует о необходимости разработки альтернативных методов борьбы с патогеном [3], [7]. В качестве альтернативы антибиотикам используются пробиотики [1], [2], [4]. В предыдущих наших работах были произведены исследования по отбору перспективных лактобацилл, антагонистичных к *Campylobacter jejuni* – виду грамотрицательных бактерий, который является наиболее распространенным и более патогенным для человека [10]. Во всем мире кампилобактериозом ежегодно болеют более 400 миллионов человек [6]. В ходе исследования были получены штаммы молочнокислых бактерий – *Lactobacillus crispatus* ВКМ В-2727Б, *L. gasseri* ВКМ В-2728Б, *L. fermentum* ATCC 9338, *L. reuteri* ATCC 23272, *L. plantarum* ATCC 8014 и *L. plantarum* MD ПЕ-2165 [8], [9], [10], [15].

Цитокины представляют собой секретируемые или представленные на мембране молекулы, которые определяют широкие клеточные функции, включая развитие, дифференцировку, рост и выживание. Соответственно, регуляция активности цитокинов чрезвычайно важна как физиологически, так и патологически [16].

Различают провоспалительные и противовоспалительные цитокины (IL-2, IL-10, IL -27, IL -35 и IL -37), а также обладающие двойными свойствами (например, IL -6). Кроме того, выделяют регуляторные цитокины, которые обеспечивают толерантность к собственным тканям, минимизацию тканевого повреждения. Координированная выработка элементами иммунной системы различных цитокинов происходит в непосредственной близости к клеткам-мишеням [11], [13], [17].

Противовоспалительные цитокины представляют собой серию иммунорегуляторных молекул, которые контролируют провоспалительную цитокиновую реакцию. Цитокины действуют совместно со специфическими ингибиторами цитокинов и растворимыми рецепторами цитокинов, регулируя иммунный ответ. Их физиологическую роль в воспалении и патологическая роль в системных воспалительных состояниях все больше изучают. Основные противовоспалительные цитокины включают антагонист рецептора интерлейкина (IL)-1, IL-4, IL-6, IL-10, IL-11 и IL-13. Специфические цитокиновые рецепторы IL-1, фактора некроза опухоли- α и IL-18 также действуют как ингибиторы провоспалительных цитокинов [12], [18].

Материалы и методы

Для определения эффективности ингибирования штаммами лактобацилл продукции провоспалительных цитокинов применяли пять видов бактерий рода *Lactobacillus*: *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. fermentum*, *L. reuteri* и *L. plantarum*. Культивирование лактобактерий осуществляли на классической среде MRS при температуре 25±2°C.

Для культивирования клеточной линии аденокарциномы толстой кишки человека Caco-2 использовали среду DMEM (Sigma -Aldrich, Великобритания) с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки. Культивирование осуществляли в увлажненной атмосфере с добавлением 5% CO₂ при 37±2°C. Для проведения эксперимента клетки 20 пассажа при плотности 1x10⁴ клеток/мл высевали на 24-луночные планшеты для тканевых культур и выращивали до достижения 90% конfluence.

Культивирование патогенной бактерии *Campylobacter jejuni* проводили на колумбийском кровяном агаре, содержащем 5% лошадиной крови при 37±2°C в микроаэрофильных условиях.

Инокулы бактерий получали путем посева 5–10 колоний суточной культуры с чашки Петри в жидкую питательную среду MRS для лактобактерий и бульон Бруцелла для *C. jejuni* и последующего культивирования при оптимальных температурах до OD 600 равной 0,5.

Для оценки влияния лактобактерий на экспрессию провоспалительных цитокинов в эпителиальных клетках, индуцированных *C. jejuni*, подготовленные планшеты с клеточной линией Caco-2 инкубировали в течение 5 часов с добавлением 1 мл клеточной культуры *C. jejuni*, а также ко-культур *C. jejuni* и лактобактерий при стандартных условиях. По истечении времени инкубирования бактерии удаляли, и клеточный монослой трижды промывали средой DMEM.

Эксперимент проводили в 3 повторностях. Клетки замораживали в жидком азоте и хранили при 80±2°C для последующего выделения РНК и анализа экспрессии. В качестве контроля использовали чистую культуру Caco-2.

Транскрипты целевых генов получали путем выделения тотальной РНК из индуцированных клеток с проведением реакции обратной транскрипцией. Выделение тотальной РНК проводили с помощью коммерческого набора RNeasy Mini Kit (Qiagen, Германия) по протоколу производителя.

Для получения кДНК применяли набор реактивов MMLV RT kit (ООО «Евроген», Россия) с использованием праймера олиго(dT) при синтезе первой цепи. Концентрацию полученной оц-ДНК измеряли с помощью флуориметра Qubit 2.0 (Thermo Fisher Scientific, США). Подбор праймеров к 3' и 5' нетранслируемым участкам транскриптов осуществляли с помощью программы CLC Genomics Workbench.

Уровни экспрессии транскриптов определяли методом полуколичественной ПЦР в реальном времени с использованием прибора BioRad CFX96 (США). Детекцию накопления продуктов реакции проводили путем добавления в реакционную смесь интеркалирующего красителя SybrGreen. Для амплификации использовали готовую

реакционная смесь qPCRMix-HS SYBR (ООО «Евроген», Россия). Амплификацию к ДНК проводили в объеме 20 мкл по протоколу производителя в двух повторностях. Параметры циклирования представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Параметры циклирования при амплификации целевых транскриптов

DOI: <https://doi.org/10.60797/JAE.2024.49.4.1>

Этап	Стадия	Температура инкубации, °C	Время, сек
1	Предварительная денатурация	98	30
2	Денатурация	98	30
3	Отжиг	57	30
4	Элонгация	72	60
Снова 2 этап 29 (34) раз	-	-	-
5	Финальная элонгация	72	300

Для анализа результатов использовали метод относительной оценки экспрессии $2^{-\Delta\Delta Ct}$, заключающийся в выявлении различий экспрессии в контрольном и экспериментальном образцах. Вычисления осуществлялись в программе CFX Manager.

В результате исследования оценены эффекты влияния лактобактерий на уровни экспрессии провоспалительных цитокинов в клетках Caco-2, индуцированных *S. jejuni*. В качестве целевых цитокинов выбраны интерлейкин-1 alfa (И-1a) и интерлейкин-6 (И-6). И-1a синтезируется многими клетками организма и вызывает повышение температуры, а также отвечает за контроль активности лейкоцитов и увеличение количества клеток костного мозга, что может приводить к дегенерации суставов. Интерлейкин 6 является одним наиболее важных медиаторов острой фазы воспаления. Накопление данного цитокина приводит к повышению температуры тела, оказывает стимулирующее действие на синтез белков острой фазы печени, стимулирует пролиферацию и дифференцировку В- и Т-клеток, а также лейкоцитопоз. Избыточная продукция И-6 приводит к повреждению тканей вследствие аутоиммунных реакций. В качестве референсного использовали ген домашнего хозяйства hBD-1 (человеческий b-дефенсин). Экспрессия данного белка является конститутивной и не регулируется про воспалительными стимулами или бактериальной инвазией.

Последовательности праймеров оценки экспрессии данных транскриптов представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Последовательности праймеров

DOI: <https://doi.org/10.60797/JAE.2024.49.4.2>

Целевой ген	Последовательность
И-1a F:	ATG GCC AAA GTT CCA GAC ATG
R:	TTG GTC TTC ATC TTG GGC AGT CAC
И-6 F:	CAT CCT CGA CGG CAT CTC AG
R:	GCT CTG TTG CCT GGT CCT C
hBD-1 F:	CTCTGTCAGCTCAGCCTC
R:	CTTGCAGCACTTGGCCTTCCC

Результаты исследований

В результате исследований выявлено, что экспрессия И-1a и И-6 в индуцированных клетках *S. jejuni* Caco-2 в 1500 и 4000 раз соответственно превышает экспрессию интерлейкинов в не индуцированных контрольных клетках. При совместном инкубировании клеток Caco-2 с *S. jejuni* и *L. crispatus* экспрессия И-1a снижается в 220 раз по сравнению с контрольными индуцированными *S. jejuni* клетками, а экспрессия И-6 снижается в 900 раз, в то время как совместное культивирование с *L. fermentum* не влияет на уровни экспрессии изучаемых интерлейкинов. В случае добавления к индуцированной культуре *L. reuteri* производство обоих цитокинов снижается в 2000 раз, в результате чего уровень экспрессии И-1a становится значительно ниже естественного. Присутствие в культуре *L. plantarum* приводит к снижению синтеза И-1a в индуцированной культуре до нормальных уровней, однако незначительно повышает экспрессию И-6. Наиболее эффективной с точки зрения ингибирования провоспалительных цитокинов является лакробактерия *L. gasseri* (рисунок 1, рисунок 2, рисунок 3, рисунок 4).

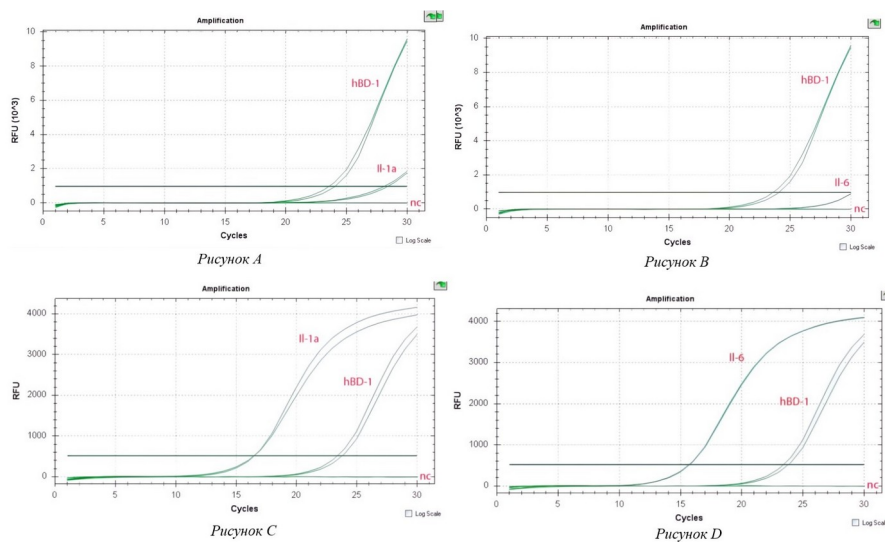


Рисунок 1 - Экспрессия провоспалительного цитокина (А–D)
 DOI: <https://doi.org/10.60797/JAE.2024.49.4.3>

Примечание: (А) – Экспрессия провоспалительного цитокина *IL-1a* в контрольных (не индуцированных) клетках *Saco-2*;

(В) – Экспрессия провоспалительного цитокина *IL-6* в контрольных (не индуцированных) клетках *Saco-2*;

(С) – Экспрессия провоспалительного цитокина *IL-1a* в клетках *Saco-2*, индуцированных *C. jejuni*;

(D) – Экспрессия провоспалительного цитокина *IL-6* в клетках *Saco-2*, индуцированных *C. jejuni*

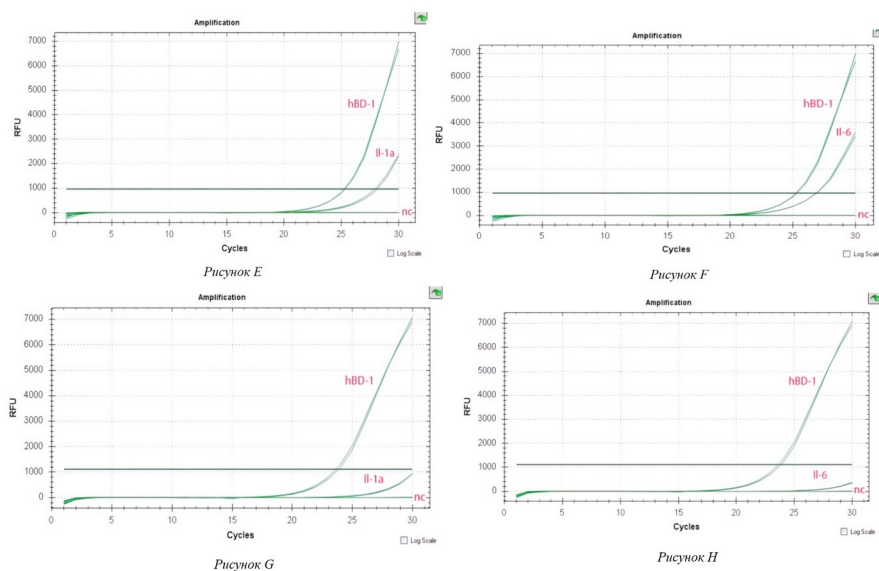


Рисунок 2 - Экспрессия провоспалительного цитокина (Е–H)
 DOI: <https://doi.org/10.60797/JAE.2024.49.4.4>

Примечание: (Е) – Экспрессия провоспалительного цитокина *IL-1a* в клетках *Saco-2*, индуцированных *C. jejuni* при совместном инкубировании с *L. crispatus*;

(F) – Экспрессия провоспалительного цитокина *IL-6* в клетках *Saco-2*, индуцированных *C. jejuni* при совместном инкуб. с *L. crispatus*

(G) – Экспрессия провоспалительного цитокина Ил-1а в клетках Сасо-2, индуцированных *S. jejuni* при совместном инкуб. с *L. gasseri*;

(H) – Экспрессия провоспалительного цитокина Ил-6 в клетках Сасо-2, индуцированных *S. jejuni* при совместном инкуб. с *L. gasseri*

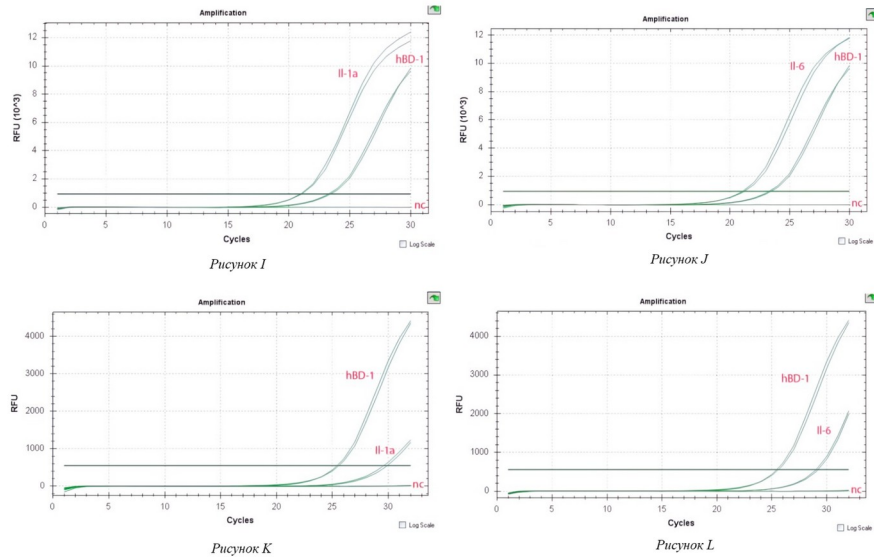


Рисунок 3 - Экспрессия провоспалительного цитокина (I–L)

DOI: <https://doi.org/10.60797/JAE.2024.49.4.5>

Примечание: (I) – Экспрессия провоспалительного цитокина Ил-1а в клетках Сасо-2, индуцированных *S. jejuni* при совместном инкуб. с *L. fermentum*;

(J) – Экспрессия провоспалительного цитокина Ил-6 в клетках Сасо-2, индуцированных *S. jejuni* при совместном инкуб. с *L. fermentum*;

(K) – Экспрессия провоспалительного цитокина Ил-1а в клетках Сасо-2, индуцированных *S. jejuni* при совместном инкуб. с *L. reuteri*;

(L) – Экспрессия провоспалительного цитокина Ил-6 в клетках Сасо-2, индуцированных *S. jejuni* при совместном инкуб. с *L. reuteri*

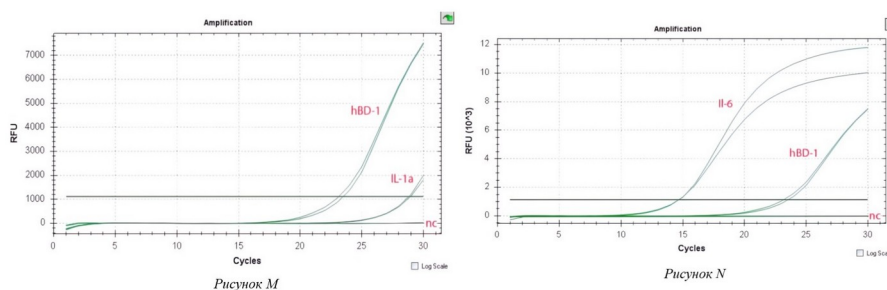


Рисунок 4 - Экспрессия провоспалительного цитокина (M–N)

DOI: <https://doi.org/10.60797/JAE.2024.49.4.6>

Примечание: Экспрессия провоспалительного цитокина Ил-1а в клетках Сасо-2, индуцированных *S. jejuni* при совместном инкуб. с *L. plantarum*;

(N) – Экспрессия провоспалительного цитокина И-6 в клетках Caco-2, индуцированных *C. jejuni* при совместном инкубировании с *L. plantarum*

Совместное инкубирование культуры Caco-2 с *C. jejuni* и данным микроорганизмом показало снижения экспрессии И-1а и И-6 в зараженных клетках до значений, соответствующих контролю. Результаты полуколичественного анализа экспрессии представлены на рисунках 1–4, где hDB-1 – референсный ген, И-1а и И-6 – интерлейкины и пс — негативный контроль.

Заключение

Таким образом, в ходе проведенного исследования, была изучена эффективность ингибирования штаммами лактобацилл *Lactobacillus crispatus*, *L. gasseri*, *L. fermentum*, *L. reuteri*, *L. plantarum*, *L.s plantarum* продукции провоспалительных цитокинов эпителиальными клетками человека Caco-2, индуцированной *C. jejuni*. Установлено, что при совместном инкубировании клеток Caco-2 с *C. jejuni* и *L. crispatus* экспрессия И-1а снижается в 220 раза по сравнению с контрольными индуцированными *C. jejuni* клетками, а экспрессия И-6 снижается в 900 раз. Доказано, что штамм *L. fermentum* не влияет на уровни экспрессии изучаемых интерлейкинов, а штамм микроорганизма *L. reuteri* способствует снижению цитокинов до 2000 раз. Показано, что, присутствие *L. plantarum* приводит к снижению синтеза И-1а в индуцированной культуре до нормальных уровней, но наиболее эффективной с точки зрения ингибирования провоспалительных цитокинов показал себя штамм *L. gasseri*.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Сообщество рецензентов Международного научно-исследовательского журнала
DOI: <https://doi.org/10.60797/JAE.2024.49.4.7>

Conflict of Interest

None declared.

Review

International Research Journal Reviewers Community
DOI: <https://doi.org/10.60797/JAE.2024.49.4.7>

Список литературы / References

- Капитонова Е.А. Пробиотические кормовые добавки на основе лактобацилл в рационах кур мясной породы / Е.А. Капитонова, И.Н. Никонов, М.В. Селина // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. — 2020. — № 12. — С. 105–111.
- Дуняшев Т.П. Влияние пробиотика Профорт® на микробиом кишечника собак / Т.П. Дуняшев, Т.Н. Ромадина, Д.Г. Тюрина [и др.] // Ветеринария. — 2022. — № 7. — С. 51–54. DOI: 10.30896/0042-4846.2022.25.7.51-54
- Подобед Л.И. Оперативный контроль и коррекция кормления высокопродуктивной птицы / Л.И. Подобед, И.И. Кочиш, П.Ф. Сурай [и др.]. — Санкт-Петербург : Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2020. — 419 с.
- Балькина А.А. Оценка влияния пробиотиков с активностью против *Campylobacter Jejuni* на микробиоту кишечника цыплят-бройлеров / А.А. Балькина, И.И. Кочиш, И.Н. Никонов [и др.] // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. — 2020. — № 1-2. — С. 76.
- Kuznetsov Y.E. Evaluation Lactic Acid Bacteria Autostrains with Anti-Campylobacter Jejuni Activity on Broiler Chickens Productivity / Y.E. Kuznetsov, I.N. Nikonov, E.A. Kapitonova [et al.] // International Transaction Journal of Engineering, Management and Applied Sciences and Technologies. — 2020. — Vol. 11. — № 15. — P. 1115.
- Balykina A.V. A Feed Additive based on Lactobacilli with Activity against Campylobacter for Meat-Breeding Chickens Parent Flock / A.V. Balykina, E.A. Kapitonova, I.N. Nikonov [et al.] // International Transaction Journal of Engineering, Management and Applied Sciences and Technologies. — 2020. — Vol. 11. — № 16. — P. 1116.
- Подобед Л.И. Основы кормления сельскохозяйственной птицы с применением кормовых добавок, альтернативных антибиотикам / Л.И. Подобед, И.И. Кочиш, И.Н. Никонов [и др.]. — Санкт-Петербург : ФГБОУ ВО СПбГАВМ, 2019. — 302 с.
- Макавчик С.А. Отбор перспективных лактобацилл, антагонистичных к *Campylobacter jejuni* / С.А. Макавчик, Л.Ю. Карпенко, Ю.Е. Кузнецов [и др.] // Материалы Международной научно-практической конференции "Молекулярно-генетические технологии для анализа экспрессии генов продуктивности и устойчивости к заболеваниям животных", Москва, 21–22 ноября 2019 года. — Москва : Сельскохозяйственные технологии, 2019. — С. 191–201.
- Makavchik S. Selection of Promising Lactobacilli Antagonistic to Campylobacter Jejuni / S. Makavchik, L. Karpenko, Yu. Kuznetsov [et al.] // International Journal of Engineering and Advanced Technology. — 2019. — Vol. 9. — № 1. — P. 3983–3986. DOI: 10.35940/ijeat.A9965.109119
- Balykina A. Technology development to suppress the campylobacter jejuni in intestinal microflora of the broilers by lactobacilli / A. Balykina, Y. Kuznetsov, A. Lunegov [et al.] // International Journal of Innovative Technology and Exploring Engineering. — 2019. — Vol. 9. — № 1. — P. 1619–1622. DOI: 10.35940/ijitee.A4583.119119

11. Lenkova T. Development of the probiotic feed supplement based on lactobacillus plantarum to increase the broiler productivity / T. Lenkova, I. Nikonov, Y. Kuznetsov [et al.] // International Journal of Innovative Technology and Exploring Engineering. — 2019. — Vol. 9. — № 1. — P. 2452–2454. DOI: 10.35940/ijitee.A4582.119119
12. Vorobyov N. Method development to determine the fractal structures index into the broiler chickens' intestines / N. Vorobyov, I. Kochish, I. Nikonov [et al.] // International Journal of Innovative Technology and Exploring Engineering. — 2019. — Vol. 9. — № 1. — P. 2792–2795. DOI: 10.35940/ijitee.A5318.119119
13. Baryshev V.A. Use Of A New Phytosorption Complex For Diarrhea In Animals / V.A. Baryshev, O.S. Popova, Yu.E. Kuznetsov [et al.] // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. — 2018. — Vol. 9. — № 6. — P. 1800–1806.
14. Balykina A.B. The influence of the animal feed components and biologically active substances into the intestinal microbiota state of the bird / A.B. Balykina, L.Y. Karpenko, A.A. Bakhta [et al.] // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. — 2018. — Vol. 9. — № 6. — P. 1876–1880.
15. Balykina A.B. The influence of the animal feed components and biologically active substances into the intestinal microbiota state of the bird / A.B. Balykina, L.Y. Karpenko, A.A. Bakhta [et al.] // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. — 2018. — Vol. 9. — № 6. — P. 1881–1885.
16. Leonard W.J. Strategies to therapeutically modulate cytokine action / W.J. Leonard, J.X. Lin // Nat Rev Drug Discov. — 2023. — № 22(10). — P. 827–854. DOI: 10.1038/s41573-023-00746-x
17. Troshina E.A. The role of cytokines in the processes of adaptive integration of immune and neuroendocrine reactions of the human body / E.A. Troshina // Probl Endokrinol (Mosk). — 2021. — № 67(2). — P. 4–9. DOI: 10.14341/probl12744
18. Opal S.M. Anti-inflammatory cytokines / S.M. Opal, V.A. DePalo // Chest. — 2000. — Vol. 117. — № 4. — P. 1162–1172.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Kapitonova E.A. Probioticheskie kormovye dobavki na osnove laktobacill v racionah kur mjasnoj porody [Probiotic feed additives based on lactobacilli in the diets of meat breed chickens] / E.A. Kapitonova, I.N. Nikonov, M.V. Selina // Veterinarija, zootehnija i biotehnologija [Veterinary medicine, animal science and biotechnology]. — 2020. — № 12. — P. 105–111. [in Russian]
2. Dunyashev T.P. Vlijanie probiotika Profort® na mikrobiom kischechnika sobak [Influence of probiotic Profort® on the gut microbiome of dogs] / T.P. Dunyashev, T.N. Romadina, D.G. Turina [et al.] // Veterinarija [Veterinary]. — 2022. — № 7. — P. 51–54. DOI: 10.30896/0042-4846.2022.25.7.51-54 [in Russian]
3. Podobed L.I. Operativnyj kontrol' i korrekcija kormlenija vysokoproduktivnoj pticy [Operational control and correction of feeding of highly productive poultry] / L.I. Podobed, I.I. Kochish, P.F. Surai [et al.]. — St. Petersburg : St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2020. — 419 p. [in Russian]
4. Balykina A.A. Ocenka vlijanija probiotikov s aktivnost'ju protiv Campylobacter Jejuni na mikrobiotu kischechnika cypljat-brojlerov [Assessment of the effect of probiotics with activity against Campylobacter Jejuni on the intestinal microbiota of broiler chickens] / A.A. Balykina, I.I. Kochish, I.N. Nikonov [et al.] // Gastrojenterologija Sankt-Peterburga [Gastroenterology of St. Petersburg]. — 2020. — № 1-2. — P. 76. [in Russian]
5. Kuznetsov Y.E. Evaluation Lactic Acid Bacteria Autostrains with Anti-Campylobacter Jejuni Activity on Broiler Chickens Productivity / Y.E. Kuznetsov, I.N. Nikonov, E.A. Kapitonova [et al.] // International Transaction Journal of Engineering, Management and Applied Sciences and Technologies. — 2020. — Vol. 11. — № 15. — P. 1115.
6. Balykina A.B. A Feed Additive based on Lactobacilli with Activity against Campylobacter for Meat-Breeding Chickens Parent Flock / A.B. Balykina, E.A. Kapitonova, I.N. Nikonov [et al.] // International Transaction Journal of Engineering, Management and Applied Sciences and Technologies. — 2020. — Vol. 11. — № 16. — P. 1116.
7. Podobed L.I. Osnovy kormlenija sel'skohozjajstvennoj pticy s primeneniem kormovyh dobavok, al'ternativnyh antibiotikam [Fundamentals of feeding poultry with the use of feed additives alternative to antibiotics] / L.I. Podobed, I.I. Kochish, I.N. Nikonov [et al.]. — St. Petersburg : FGBOU VO SPbGAVM, 2019. — 302 p. [in Russian]
8. Makavchik C.A. Otkor perspektivnyh laktobacill, antagonistichnyh k Campylobacter jejuni [Selection of promising lactobacilli antagonistic to Campylobacter jejuni] / S.A. Makavchik, L.Y. Karpenko, Yu.E. Kuznetsov [et al.] // Materialy Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii "Molekuljarno-geneticheskie tehnologii dlja analiza jekspressii genov produktivnosti i ustojchivosti k zabolevanijam zhivotnyh", Moskva, 21–22 nojabrja 2019 goda [Proceedings of the International Scientific and Practical Conference "Molecular genetic technologies for the analysis of gene expression of productivity and resistance to animal diseases", Moscow, November 21-22, 2019]. — Moscow : Agricultural Technologies, 2019. — P. 191–201. [in Russian]
9. Makavchik S. Selection of Promising Lactobacilli Antagonistic to Campylobacter Jejuni / S. Makavchik, L. Karpenko, Yu. Kuznetsov [et al.] // International Journal of Engineering and Advanced Technology. — 2019. — Vol. 9. — № 1. — P. 3983–3986. DOI: 10.35940/ijeat.A9965.109119
10. Balykina A. Technology development to suppress the campylobacter jejuni in intestinal microflora of the broilers by lactobacilli / A. Balykina, Y. Kuznetsov, A. Lunegov [et al.] // International Journal of Innovative Technology and Exploring Engineering. — 2019. — Vol. 9. — № 1. — P. 1619–1622. DOI: 10.35940/ijitee.A4583.119119
11. Lenkova T. Development of the probiotic feed supplement based on lactobacillus plantarum to increase the broiler productivity / T. Lenkova, I. Nikonov, Y. Kuznetsov [et al.] // International Journal of Innovative Technology and Exploring Engineering. — 2019. — Vol. 9. — № 1. — P. 2452–2454. DOI: 10.35940/ijitee.A4582.119119
12. Vorobyov N. Method development to determine the fractal structures index into the broiler chickens' intestines / N. Vorobyov, I. Kochish, I. Nikonov [et al.] // International Journal of Innovative Technology and Exploring Engineering. — 2019. — Vol. 9. — № 1. — P. 2792–2795. DOI: 10.35940/ijitee.A5318.119119

13. Baryshev V.A. Use Of A New Phytosorption Complex For Diarrhea In Animals / V.A. Baryshev, O.S. Popova, Yu.E. Kuznetsov [et al.] // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. — 2018. — Vol. 9. — № 6. — P. 1800–1806.
14. Balykina A.B. The influence of the animal feed components and biologically active substances into the intestinal microbiota state of the bird / A.B. Balykina, L.Y. Karpenko, A.A. Bakhta [et al.] // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. — 2018. — Vol. 9. — № 6. — P. 1876–1880.
15. Balykina A.B. The influence of the animal feed components and biologically active substances into the intestinal microbiota state of the bird / A.B. Balykina, L.Y. Karpenko, A.A. Bakhta [et al.] // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. — 2018. — Vol. 9. — № 6. — P. 1881–1885.
16. Leonard W.J. Strategies to therapeutically modulate cytokine action / W.J. Leonard, J.X. Lin // *Nat Rev Drug Discov*. — 2023. — № 22(10). — P. 827–854. DOI: 10.1038/s41573-023-00746-x
17. Troshina E.A. The role of cytokines in the processes of adaptive integration of immune and neuroendocrine reactions of the human body / E.A. Troshina // *Probl Endokrinol (Mosk)*. — 2021. — № 67(2). — P. 4–9. DOI: 10.14341/probl12744
18. Opal S.M. Anti-inflammatory cytokines / S.M. Opal, V.A. DePalo // *Chest*. — 2000. — Vol. 117. — № 4. — P. 1162–1172.