



Імунобіологічна реактивність організму корів за дисфункції яєчників

О. О. Боднар
bodnar.vetdoc@gmail.com



Подільський державний університет, вул. Шевченка, 13, м. Кам'янець-Подільський, Хмельницька обл., 32316, Україна

ORCID:

О. О. Bodnar <https://orcid.org/0000-0001-6161-6835>

Authors' Contributions:

BOO: Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Investigation; Methodology; Project administration; Supervision; Writing — original draft, review & editing.

Declaration of Conflict of Interests:

None to declare.

Ethical approval:

Not applicable.

Acknowledgements:

None.



Attribution 4.0 International
(CC BY 4.0)

Відомо, що імунний статус організму самки динамічно змінюється на усіх етапах як фізіологічного, так і патологічного стану репродуктивної системи. У роботі наведені результати наукового пошуку та аналізу імунологічних досліджень організму корів за дисфункції яєчників. Вивчено характер та особливості взаємозв'язків між показниками імунітету і статеві функції неплідних корів до і після лікування. Метою досліджень було вивчити динаміку деяких морфологічних і біохімічних показників крові та імунного статусу організму корів з функціональними розладами яєчників. Установлені певні особливості імунного захисту організму корів з персистентним жовтим тілом яєчника та з гіпофункцією яєчників. Результати наших досліджень підтвердили та доповнили встановлені раніше дані про зміни гематологічних та імунологічних показників організму корів з патологією яєчників. Установлено, що розвиток цієї патології супроводжувався імунодефіцитним станом організму, розладами клітинної і гуморальної ланок імунітету, зниженням показників неспецифічного захисту. Оваріальна дисфункція у корів переважно розвивається на тлі імуносупресії та дефіциту показників клітинного захисту організму, що доповнювався зниженням вмісту в крові еритроцитів, гемоглобіну та загального білка. Суттєве зростання вмісту в крові хворих корів "0"-мононуклеарів свідчить про порушення механізму диференціації лімфоцитів, що негативно відображається на формуванні імунної відповіді організму. Дисбаланс вмісту окремих популяцій лімфоцитів вказує на необхідність імунокорекції з метою підвищення вмісту В- та Т-клітин, що, відповідно, призведе до зменшення частки малоактивних "0"-лімфоцитів, сприятиме відновленню механізмів імунного захисту організму корів. Зниження показників окремих факторів імунобіологічної реактивності організму корів з патологією гонад обґрунтовує необхідність застосування загальностимулювальних препаратів з імуномодельовальним ефектом.

Ключові слова: імунітет, лімфоцити, анафродизія, гіпофункція, імунодефіцит, жовте тіло, гомеостаз, неплідність, фертильність

Вступ

Однією з актуальних проблем відтворення молочного стада є анафродизія. За даними літератури, частота порушень статевої циклічності або неповноцінного

прояву феноменів стадії збудження статевого циклу в корів становить від 5 до 76% [11, 13, 7]. За даними багатьох дослідників, однією з основних безпосередніх причин неплідності корів є морфофункціональні розлади статевої системи, з яких на перше місце

ставляють гіпофункцію яєчників та персистенцію жовтого тіла. Оваріопатії корів, які супроводжуються анафродизією, зумовлюють значні економічні збитки у тваринництві через подовження терміну між отеленням і осіменіннями, зниженням заплідненості, збільшенням розмірів неплідності для стада. Усе це призводить до підвищення собівартості продукції та зменшення рентабельності виробництва молока. Саме тому ця патологія становить актуальну проблему ветеринарної репродуктології та потребує подальшого ґрунтовного вивчення [11, 3, 4, 1, 6].

На думку більшості авторів, хвороби органів відтворення у корів та телиць треба розглядати як прояв загального захворювання організму. Тому в основі ранньої діагностики та профілактики гінекологічних хвороб має лежати принцип моніторингу показників — імунологічних, гематологічних, біохімічних, а також гомеостазу організму, який, поряд з клінічними дослідженнями, дозволить виявити дисфункцію репродуктивних органів на ранніх стадіях патогенезу [9, 10, 14]. Відомо, що репродуктивна функція самок суттєво пов'язана з системою імунного захисту організму. Численні дослідження доводять, що розвиток більшості патологій в статевій системі самок супроводжується імунодефіцитом, дисбалансом клітинної і гуморальної ланок імунітету, зниженням показників неспецифічного захисту організму [7, 8, 13]. Сучасна клінічна імунологія має в арсеналі велику кількість лабораторних методів, які дозволяють з високою точністю встановити порушення імунного гомеостазу та виявити дефекти в усіх її ланках. Для діагностики імунної недостатності в людей і тварин в практичних умовах застосовують поетапну (два чи три етапи) схему оцінки імунного статусу [2, 5, 12].

Метою дослідження було визначити та проаналізувати показники крові та імунного статусу організму неплідних корів за функціональних розладів яєчників.

Матеріали і методи

Матеріалом для досліджень були корови української молочної чорно-рябої породи віком 5–6 років з надоем молока за попередню лактацію 5–6 тис. кг. Усі досліді проведені на коровах-аналогах із врахуванням їхнього віку, маси тіла та продуктивності, фізіологічного стану тощо. Тварин утримували в типових приміщеннях із задовільними параметрами мікроклімату, годівля переважно відповідає їхньому фізіологічному стану та продуктивності. За піддослідними тваринами тривав постійний ветеринарний нагляд, проводили біохімічні та гематологічні дослідження крові, аналіз раціонів, моніторинг молочної продуктивності тощо.

Під час проведення досліджень для виявлення корів з функціональними захворюваннями яєч-

ників враховували анамнез, дані щодо характеру їхньої статевої циклічності та результати трансректального обстеження гонад. Реакцію-відповідь корів на проведені лікування визначали за появою в яєчниках функціональних утворень та відновленням статевої циклічності з подальшою овуляцією і утворенням жовтого тіла статевого циклу.

За періодами дослідів у корів брали кров з яремної та молочної вени з подальшим визначенням низки гематологічних, біохімічних та імунологічних показників. У досліді використовували як цільну кров, так і її сироватку. У фізіологічно здорових корів контрольної групи забір крові проводили одноразово, у хворих корів — двічі: перед початком лікування та після клінічного одужання.

Лабораторні дослідження проводили за розробленою імунологічною тест-картою [12]. Тестування факторів імунобіологічної резистентності та імунного статусу організму охоплювали визначення:

— вмісту Т-, В-, «0»-лімфоцитів у реакціях розеткоутворення клітин з еритроцитами барана в різних модифікаціях;

— вмісту циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) в реакції преципітації з поліетиленгліколом (ПЕГ-6000);

— бактерицидної активності сироватки крові (БАСК);

— лізоцимної активності сироватки крові (ЛАСК).

Досить інформативним та зручним критерієм оцінки стану імунного гомеостазу, на наш розсуд, виявився показник, який виражає рівень дисфункції (глибину) імунних розладів (Д), який вираховується за формулою:

$$D = \left(\frac{ПХ}{СПН} - 1 \right) \times 100,$$

де ПХ — показник хворого;

СПН — середній показник в нормі.

Якщо отриманий результат має негативне значення, то це свідчить про імунодефіцит; результат зі знаком «плюс» — навпаки, про гіперфункцію цього імунного показника. Виділяють три ступені дисфункції імунітету: за першого показник Д коливається в межах 1–33%, за другого — 34–66%, а за третього сягає 67% і вище. Вважається, що перший ступінь імунної дисфункції буває у здорових тварин і не потребує імунокорекції. Другий ступінь свідчить про суттєві порушення в системі імунітету, а тварини з третім ступенем вимагають невідкладної імунотерапії [12, 13].

Результати й обговорення

Проведені клініко-експериментальні дослідження є одним із етапів науково-дослідної роботи кафедри ветеринарного акушерства, внутрішньої патології та хірургії Подільського державного університету з розробки та впровадженню ефективних лікувальних

профілактичних заходів для боротьби з анафродизією корів, методів відновлення та підвищення відтворної здатності тварин, імунодіагностики та імунокорекції їхнього організму.

За проведення імунологічних досліджень ми строго дотримувалися методики дослідження на всіх етапах, створювали стандартні умови від початку приготування реактивів та виділення біоматеріалу (клітин та сироватки крові) до підрахунку та встановлення результатів тестування. Цих вимог та правил щодо проведення імунологічних тестувань ми дотрималися, що підтвердили стабільність результатів реакції РУК і незначна похибка отриманих показників.

Аналіз динаміки показників імунокомпетентних клітин дослідних (хворих) та контрольних (клінічно здорових, КЗ) корів свідчить про певні закономірності клітинного імунітету організму самок з персистентним жовтим тілом яєчника (ПЖТ) та гіпофункцією яєчників (ГЯ) (табл. 1).

Таблиця 1. Показники імунокомпетентних клітин у піддослідних корів (M±m, n=10)
Table 1. Indicators of immunocompetent cells in experimental cows (M±m, n=10)

Показник Indicator	Групи корів / Groups of cows		
	ПЖТ / РУВ	ГЯ / ОН	КЗ / СН
Лімфоцити, % Lymphocytes, %	63,42±2,43	61,76±1,46	65,80±2,33
Т-лімфоцити, % T-lymphocytes, %	42,06±1,89	39,04±1,54*	44,20±1,59
В-лімфоцити, % B-lymphocytes, %	19,12±0,80	20,34±1,02	18,02±1,00
«0»-лімфоцити, % "0"-lymphocytes, %	38,80±1,08	40,62±1,44	37,0±1,82
Т : В	2,21±0,19*	1,92±0,16**	2,43±0,20
Т-індекс / T-index	0,87±0,03*	0,84±0,04*	0,92±0,01

Примітка. * — P<0,05; ** — P<0,01 — стосовно групи КЗ.
Note. * — P<0,05; ** — P<0,01 — relative to group СН.

Встановлено, що вміст у венозній крові корів за цих оваріопатій загальної популяції лімфоцитів був нижчим за контрольні показники, проте така різниця була невірогідною і в середньому не перевищувала 3,5%. Результати досліджень клітинних і гуморальних факторів резистентності показали, що у крові корів усіх груп найменш лабільною виявилася В-ланка імунного захисту: у самиць з персистентним жовтим тілом яєчника та з гіпофункцією яєчників не було вірогідної різниці між показниками вмісту В-клітин порівняно зі здоровими тваринами. Це можна пояснити відсутністю гострих запальних процесів в яєчниках корів за цих оваріопатій, а також їх хронічним перебігом.

У наших дослідженнях встановлено, що перебіг персистенції жовтого тіла яєчника та гіпофункції яєчників у корів супроводжувався певною перебувальною Т-системи імунітету. У корів з гіпофункцією яєчників, порівняно зі здоровими, встановлено вірогідне зниження вмісту Т-клітин на 5,1% (P<0,05),

у корів з персистентним жовтим тілом яєчника ця різниця сягала 2,1%. Варто вказати, що вміст Т-клітин у крові корів у всіх групах був вірогідно нижчим від їх середньостатистичного фізіологічного показника (Тн. = 55%), а D-клітин — навпаки, дещо його перевищував (Вн. = 17%). Таке зниження вмісту Т-лімфоцитів у крові хворих корів (групи ПЖТ і ГЯ) спричинило вірогідне падіння відносних показників імунного статусу їх організму. Установлено, що співвідношення Т- і В-лімфоцитів корів з гіпофункцією яєчників було на 26,1% нижчим (P<0,01) порівняно зі здоровими тваринами, а в корів з персистентним жовтим тілом яєчника — на 10,1% (P<0,05). Це ж стосується і показника Т-індексу: у групі ГЯ він був нижчим на 8,6% порівняно з клінічно здоровими тваринами (P<0,01), у групі ПЖТ — відповідно, на 5,4% (P<0,05).

На підставі проведених досліджень можна стверджувати, що таке зниження показників Т-індексу та співвідношення Т- і В-лімфоцитів свідчить про суттєвий дисбаланс клітинного імунітету організму корів з персистентним жовтим тілом та гіпофункцією яєчників. Це можна пояснити тим, що навіть після нормального отелення організм самки підвищено чутливий до несприятливого впливу довкілля, внутрішніх змін гомеостазу організму, пов'язаного з особливостями його перебудови у післятотельний період, а також за розвитку дисфункції в ендокринній та статевій системі самок.

Аналіз значень дисфункції показників імунокомпетентних клітин дає чіткішу картину імунного дисбалансу в організмі корів із захворюваннями яєчників (табл. 2).

Таблиця 2. Показники ступеня дисфункції імунокомпетентних клітин у піддослідних корів, %
Table 2. Indicators of the degree of immunocompetent cells dysfunction in experimental cows, %

Показник Indicator	Групи корів / Groups of cows		
	ПЖТ / РУВ	ГЯ / ОН	КЗ / СН
Т-лімфоцити, % / T-lymphocytes, %	-24,36 (I)	-29,16 (I)	-16,91 (I)
В-лімфоцити, % / B-lymphocytes, %	10,26 (I)	18,24 (I)	5,88 (I)
«0»-лімфоцити, % / "0"-lymphocytes, %	35,50 (II)	40,36 (II)	30,08 (I)
Т-індекс / T-index	-15,40 (I)	-27,02 (I)	2,22 (I)

Примітка. Ступінь дисфункції вказано в дужках.
Note. The degree of dysfunction is indicated in parentheses.

Результати проведених досліджень свідчать, що рівень дисфункції останніх в усіх групах корів не перевищував I ступеня, причому було встановлено як гіпофункцію, так і гіперфункцію тестованих показників. Це свідчить про необхідність імунокорекційної терапії хворих корів з метою нейтралізації імуносупресорних механізмів, які активуються після отелення та супроводжують розвиток гіпофункції і персистенції жовтого тіла залози.

Варто зауважити, що абсолютне зростання вмісту В-клітин в крові хворих корів спричинило помірну гіперфункцію В-ланки імунітету, а супресія показників Т-клітин свідчить про її гіпофункцію, що у дослідних групах переважно впритул наблизилися до II ступеня дисфункції. Особливо це стосується показників Т-лімфоцитів і Т-індексу в корів з гіпофункцією яєчників, що свідчить про критичний дефіцит клітинної ланки імунітету. Ще суттєвіші відхилення, але в напрямку гіперфункції, були виявлені щодо показників «0»-лімфоцитів: рівень їхньої дисфункції (групи ПЖТ та ГЯ) сягав II ступеня, що в середньому на 12% перевищувало фізіологічні показники. Це свідчить про дисбаланс клітинного захисту організму, що, ймовірно, пов'язано з тривалим антигенним впливом під час тільності та ендокринними зрушеннями в післяотельний період, які негативно впливають на процеси диференціації лімфоцитів та індукують суттєве зростання рівня «нульових» мононуклеарів. Виявлений дисбаланс популяції лімфоцитів вказує на необхідність імунокорекції з метою збільшення вмісту в крові В- і особливо Т-клітин, що, відповідно, призведе до зменшення частки низькодиференційованих та малоактивних «0»-лімфоцитів та сприятиме відновленню клітинної ланки імунного захисту організму корів.

Як видно з табл. 3, перебіг патологічних процесів в яєчниках корів з боку факторів неспецифічного захисту організму характеризувався незначними коливаннями їхніх показників.

Таблиця 3. Показники неспецифічного захисту піддослідних корів ($M \pm m$, $n=10$)

Table 3. Indicators of non-specific protection of experimental cows ($M \pm m$, $n=10$)

Показники Indicators	Групи корів / Groups of cows		
	ПЖТ / РҮВ	ГЯ / ОН	КЗ / СН
БАСК, % / BABS, %	58,60±4,52	60,68±3,52	64,60±2,42
ЛАСК, % / LABS, %	23,26±2,04	22,03±3,52	20,18±1,66
ЦІК, од. опт. щільн. CIC, un. opt. density	103,36±6,70	115,84±2,10	108,56±8,40

Аналіз їх у всіх групах корів не виявив певних закономірностей та суттєвих розбіжностей (різниця невірїодна), що свідчить про відсутність тісного взаємозв'язку між рівнем неспецифічного захисту організму і перебігом персистенції жовтого тіла та гіпофункції яєчників. Установлено, що рівень БАСК у корів з оваріопатіями не перевищував 6,0%, а ЛАСК — відповідно, 2,1% порівняно з КЗ, дослідження в сироватці крові хворих та клінічно здорових корів вмісту ЦІК також не виявили вірогідної різниці. Водночас спостерігали зниження на 5,5% рівня ЦІК у крові корів з персистентним жовтим тілом яєчника щодо контролю, тоді як у корів з гіпофункцією яєчників їхній рівень, відповідно, зріс на 6,2%.

Результати проведених досліджень підтвердили та доповнили встановлені раніше дані про зміни

гематологічних та імунологічних показників організму корів з патологією яєчників. Моніторинг лімфоцитарного профілю крові та інтегральних показників імунного статусу організму свідчить про дисфункцію механізмів природнього захисту за гіпофункції яєчників, які суттєво різняться як від фізіологічних, так і середньостатистичних величин, що відповідає даним інших дослідників [7, 13]. Встановлено, що дистрофічні та морфологічні зміни в яєчниках корів, які виникають на фоні нейро-ендокринних розладів, супроводжуються порушеннями функціонального стану системи імунобіологічного захисту організму. Наші дослідження підтверджують, що певне значення у розвитку персистенції жовтого тіла та гіпофункції яєчників корів має дисфункція показників як природньої резистентності, так і дисбаланс основних показників імунного статусу організму. Тому для досягнення оптимальних результатів лікування корів з такими оваріопатіями необхідно врахувати стан імунобіологічних механізмів захисту організму, проводити їх моніторинг під час лікування, в період ремісії та після одужання тварин [2, 5, 8].

Результати проведених імунобіологічних досліджень свідчать, що перебіг персистенції жовтого тіла та гіпофункції яєчників у корів відбувається на фоні дисфункції, переважно у бік пригнічення імунобіологічного захисту їх організму, що обґрунтовує доцільність застосування стимулювальної терапії з метою нормалізації імунного статусу та відновлення стаєвої циклічності.

Джерела

- Bodnar O. Complex use of biostimulants in anaphrodisiacs in cows. *Agr. Bull. Black Sea Littoral*. Odesa. 2022; 102–103: 60–64. DOI: 10.37000/absl.2022.102.11. (in Ukrainian)
- Chapel H, Haeney M, Misbah S, Snowden N. *Clinical Immunology*. Oxford, Blackwell Science Ltd. 2009: 352 p.
- Ferguson J. Ovarian Dysfunction in Dairy Cows. *WCDS Advances in Dairy Technology*. 2017; 29: 173–181. Available at: <https://wcds.ualberta.ca/wcds/wp-content/uploads/sites/57/2018/05/p-173-184-Ferguson.pdf>
- Kumar P, Singh M. Prevalence of various etiological factors responsible for causing infertility in cows of Himachal Pradesh, India. *Explor. Anim. Med. Res.* 2018; 8 (2): 164–167. Available at: <https://www.researchgate.net/publication/330712191>
- Kuznetsova LV, Babajan VD, Frolov VM, Kravchun PH (eds.). *Clinical and laboratory immunology. A textbook*. Kyiv, Poligraph Plus, 2012: 922 p. ISBN 978-966-8977-08-4. Available at: <https://repo.knmu.edu.ua/handle/123456789/1291> (in Ukrainian)
- Long ST, Gioi PV, Suong NT. Some factors associated with ovarian disorders of dairy cattle in Northern Vietnam. *Trop. Anim. Sci. J.* 2021; 44 (2): 240–247. DOI: 10.5398/tasj.2021.44.2.240.
- Mezhenska NA. *Immunostimulating and replacement therapy for ovarian hypofunction in cows*. A Monograph. Kyiv, 2013: 179 p. (in Ukrainian)
- Skivka LM. *Immunology of Reproduction*. Kyiv, 2009: 152 p. (in Ukrainian)
- Song Y, Cheng J, Yu H, Wang Z, Bai Y, Xia C, Xu C. Early warning for ovarian diseases based on plasma non-esterified fatty acid and calcium concentrations in dairy cows. *Front. Vet. Sci.* 2021; 8: 792498. DOI: 10.3389/fvets.2021.792498.

10. Vlasova AN, Saif LJ. Bovine immunology: implications for dairy cattle. *Front. Immunol.* 2021; 12: 643206. DOI: 10.3389/fimmu.2021.643206.
11. Yablonsky VA. The problem of animal reproduction: status and prospects. *NAU Bulletin.* 2008; 57: 169–173. (in Ukrainian)
12. Yablonskyi V, Bodnar O, Zhelavskyi M. Regarding the method of immunological examinations. *Vet. Med. Ukr.* 2001; 6: 46. (in Ukrainian)
13. Zakharova TV. Etiopathogenetic connection of ovarian pathology in cows with dysfunction of the immune system and methods of their biocorrection. Diss. PhD Vet. Sci. 16.00.07. *Vet. obstetrics.* Lviv, LNUVMBT named after S. Z. Gzhytskyj, 2013: 155 p. (in Ukrainian)
14. Zobel R, Pipal I, Buić V. Anovulatory estrus in dairy cows: treatment options and the influence of breed, parity, heredity and season on its incidence. *Vet. Archiv.* 2012; 82 (3): 239–249. Available at: <http://vetarhiv.vef.unizg.hr/papers/2012-82-3-2.pdf?ci=sdgnsidjegcgmchsomilncd>

Immunobiological reactivity of the body in cows with ovarian dysfunction

O. O. Bodnar
bodnar.vetdoc@gmail

Podillia State University, 13 Shevchenko str., Kamianets-Podilskyi, Khmelnytsky region, 32316, Ukraine

It is known that the immune status of the female organism changes dynamically at all stages of both the physiological and pathological state of the reproductive system. The work presents the results of scientific research and analysis of immunological studies in cows with ovarian dysfunction. We studied the nature and peculiarities of the relationships between the indicators of immunity and sexual function of infertile cows before and after treatment. The purpose of the research was to find out the dynamics of some morphological and biochemical blood indicators and the immune status of the body in cows with functional disorders of the ovaries. Certain regularities of the immune status in cows with persistent *corpus luteum* of the ovary and hypofunction of the ovaries have been established. The results of our research confirmed and supplemented previously established data on changes in hematological and immunological indicators in cows with ovarian pathology. It was established that the development of this pathology was accompanied by an immunodeficient state of the body, disorders of the cellular and humoral links of immunity, and a decrease in indicators of non-specific protection. Ovarian dysfunction in cows mainly develops against the background of immunosuppression and deficiency of indicators of cellular protection of the body, which was supplemented by a decrease in the content of erythrocytes, hemoglobin and total protein in the blood. A significant increase in the content of "0" mononuclear cells in the blood of sick cows indicates a violation of the mechanisms of lymphocyte differentiation, which negatively affects the formation of the body's immune response. The imbalance of individual lymphocyte populations indicates the need for immunocorrection in order to increase the content of B and T cells, which will, accordingly, lead to a decrease in the share of low-active "0"-lymphocytes, and will contribute to the restoration of the immune defense mechanisms of the cows' body. The decrease in indicators of individual factors of immunobiological reactivity of the body of cows with gonadal pathology substantiates the need for the use of general stimulating drugs with an immunomodulating effect.

Key words: immunity, lymphocyte, anaphrodisia, hypofunction, immunodeficiency, lymphocyte, *corpus luteum*, homeostasis, infertility, hypofunction, fertility