

## АНАЛІЗ ЦИТОКІНОВОГО СТАТУСУ СИРОВАТКИ КРОВІ КОРІВ ЗА СУБКЛІНІЧНОЇ ФОРМИ КЕТОЗУ

Д. В. Кібкало  
diagnost\_96@ukr.net

Харківська державна зооветеринарна академія, ХДЗВА,  
смт Мала Данилівка, Дергачівський район, Харківська область, 62341, Україна

*Рівні прозапальних інтерлекінів ІЛ-1 та ІЛ-6 і протизапального ІЛ-4 у сироватці крові за субклінічного перебігу кетозу в корів не відрізнявся від рівнів у клінічно здорових тварин.*

*Дослідження проводили на коровах червоно-рябої молочної породи за продуктивності понад 6000 літрів за лактацію. Клінічне обстеження, відбір сечі та крові проводили в перші тижні лактації. Вміст кетонів у крові визначали кетометром Optium Xceed (США), у сечі — індикаторними смужками Keto Phan (ERBA Lachema). Було сформовано 2 групи: дослідна — корови з наявністю кетонів у сечі та їх рівнем 1,1–2,1 ммоль/л у сироватці крові і контрольна група — у сечі кетонів не виявлено, у сироватці крові їх вміст становить 0,4–0,7 ммоль/л. У сироватці крові визначали вміст  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ -глобулінів та рівні ІЛ-1, ІЛ-4 та ІЛ-6. Дослідження проводили на приладі ІФА ELISA із застосуванням тест-системи «Peninsula laboratories Inc.» (США).*

*За субклінічного перебігу кетозу рівень прозапальних ІЛ-1 та ІЛ-6 у сироватці крові не відрізнявся від рівня у клінічно здорових тварин, що свідчить про відсутність процесів запалення за субклінічної форми кетозу. Це підтверджується нормальним рівнем  $\alpha_1$ - та  $\alpha_2$ -глобулінів, оскільки саме ІЛ-6 призводять до посилення синтезу білків «гострої фази» запалення, які входять до складу останніх. Вміст ІЛ-4 в дослідній та контрольній групі корів вірогідно не відрізнявся. Вміст лейкоцитів у тварин обох груп був у межах норми, що також підтверджує відсутність запального процесу за субклінічної форми кетозу в корів.*

**Ключові слова:** КОРОВИ, КЕТОЗ, СИРОВАТКА КРОВІ, ЦИТОКІНИ, ІНТЕРЛЕЙКІНИ, КЕТОНОВІ ТІЛА

## ANALYSIS OF CYTOKINS STATUS IN BLOOD SERUM OF COWS WITH SUBCLINICAL FORM OF OF KETOSIS

D. V. Kibkalo  
diagnost\_96@ukr.net

Kharkiv state zooveterinary academy, HDZVA,  
Mala Danylivka, Derhachivsky district, Kharkiv region, 62341, Ukraine

*Levels of pro-inflammatory interleukins IL-1 and IL-6, anti-inflammatory IL-4 in blood serum at sub-clinical ketosis in cows did not differentiate from levels in clinically healthy animals.*

*The researches were conducted on cows of red-and-white milk breed with productivity above 6000 l during lactation. The clinical inspection, sampling of urine and blood were conducted in first weeks of lactation. Content of ketone bodies in blood was determined by ketometer Optium Xceed (USA), in urine it was by indicated stripes Ketophan (ERBA Lachema). By the results 2 groups were formed: an experimental one — cows with ketone bodies in urine and level 1.1–2.1 mmol/l in blood serum, and a control group — in urine ketone bodies were not detected, in blood serum their level was 0.4–0.7 mmol/l. In blood serum the content of  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ -globulins, levels of IL-1, IL-4, IL-6 were determined. Their researches were conducted on IFA ELISA with using of test-system «Peninsula laboratories Inc.» (USA).*

*At subclinical process of ketosis the level of pro-inflammatory interleukins -1 and -6 in blood serum was not varied from level of clinically healthy animals. It testifies the absence of inflammatory processes at subclinical form of ketosis. It is confirmed by normal level  $\alpha_1$ - and  $\alpha_2$ -globulins, because just IL-6 lead to increasing of proteins of “acute phase” of inflammatory, which are included in their content. The content of IL-4 did not vary significantly in control and experimental groups of cows. The content of leukocytes in animals of both groups was in normal borders that also confirms the absence of inflammatory process at subclinical form of ketosis in cows.*

**Keywords:** COWS, KETOSIS, SERUM OF BLOOD, CYTOKINS, INTERLEUKINS, KETONE BODIES

## АНАЛИЗ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА СЫВОРОТКИ КРОВИ КОРОВ ПРИ СУБКЛИНИЧЕСКОЙ ФОРМЕ КЕТОЗА

Д. В. Кибкало  
diagnost\_96@ukr.net

Харьковская государственная зооветеринарная академия, ХГЗВА,  
пгт. Малая Даниловка, Дергачовский район, Харьковская область, 62341, Украина

*Уровень провоспалительных интерлейкинов ИЛ-1 и ИЛ-6 и противовоспалительных ИЛ-4 в сыворотке крови при субклиническом течении кетоза у коров не отличался от уровня у клинически здоровых животных.*

*Исследования проводили на коровах красно-пестрой молочной породы продуктивностью свыше 6000 литров за лактацию. Клиническое обследование, отбор мочи и крови проводили в первые недели лактации. Содержание кетоновых тел в крови определяли кетометром Optium Xceed (США), в моче — индикаторными полосками KetoPhan (ERBA Lachema). Были сформированы 2 группы: опытная — коровы с наличием кетоновых тел в моче и уровнем 1,1–2,1 ммоль/л в сыворотке крови, и контрольная группа — в моче кетоновые тела не выявлены, в сыворотке крови их уровень — 0,4–0,7 ммоль/л.*

*В сыворотке крови определяли содержание  $\alpha_1$ -,  $\alpha_2$ -глобулинов, и уровни ИЛ-1, ИЛ-4 и ИЛ-6. Исследования проводили на приборе ИФА ELISA с применением тест-системы «Peninsula laboratories Inc.» (США).*

*При субклиническом кетозе уровень провоспалительных ИЛ-1 и ИЛ-6 в сыворотке крови не отличался от уровня у клинически здоровых животных, что свидетельствует об отсутствии процессов воспаления при субклинической форме кетоза. Это подтверждается нормальным уровнем  $\alpha_1$ - и  $\alpha_2$ -глобулинов, поскольку именно ИЛ-6 приводит к усилению синтеза белков «острой фазы» воспаления, которые входят в состав последних.*

*Содержание ИЛ-4 в опытной и контрольной группе коров достоверно не отличалось.*

*Содержание лейкоцитов у животных обеих групп было в пределах нормы, что также подтверждает отсутствие воспалительного процесса при субклинической форме кетоза у коров.*

**Ключевые слова:** КОРОВЫ, КЕТОЗ, СЫВОРОТКА КРОВИ, ЦИТОКИНЫ, ИНТЕРЛЕЙКИНЫ, КЕТОНОВЫЕ ТЕЛА

Цитокины (интерлейкины, ИЛ) — небольшие пептидные информационные молекулы, которые регулируют межклеточные и межсистемные взаимодействия, обеспечивают согласованность действия иммунной, эндокринной и нервной систем у нормальных животных и в ответ на патологические факторы. Они не имеют антигенной специфичности, поэтому их не используют для специфической диагностики, а определение их концентрации дает информацию о развитии процесса воспаления, его тяжести и прогнозе заболевания [1, 8].

Во время заболевания происходит повышение уровня цитокинов, что способствует активации фагоцитов, их миграции в место воспаления, а также высвобождению медиаторов воспаления — производных липидов, простагландинов Е-2, тромбоксанов и фактора активации тромбоцитов [1, 10]. Кроме того, под действием цитокинов в печени снижается синтез альбуминов и усиливается синтез белков острой фазы воспаления [1]. Одним из наиболее важных медиаторов острого за-

падения является ИЛ-6, хотя и ИЛ-1 и фактор некроза опухоли альфа (ФНО- $\alpha$ ) также могут вызывать изменения функции печени. ИЛ-1 и ФНО- $\alpha$  усиливают влияние друг друга, поэтому сочетание этих двух цитокинов даже в небольших дозах способно вызвать полиорганную недостаточность и стойкую артериальную гипотонию [2, 3, 8, 10]. ИЛ-6, в отличие от ИЛ-1 и ФНО- $\alpha$ , не считается летальным цитокином [1].

Кроме провоспалительных, существует группа противовоспалительных цитокинов. Один из них — ИЛ-4, который подавляет провоспалительную активность макрофагов и секрецию ими ИЛ-1, ФНО- $\alpha$  и ИЛ-6, то есть оказывает противовоспалительный эффект.

В медицинской литературе довольно много данных относительно уровня цитокинов при различных заболеваниях и нарушениях обмена веществ. Например, при метаболическом синдроме установлено повышение ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$ , которые рассматривают как иммунологические маркеры кардиальной патологии [2, 10].

У ветеринарній медицині також почали з'являтися роботи, присвячені вивченню цитокінів за різних патологій. Вивчено рівень ІЛ-6 та ІЛ-10 за вірусних інфекцій у великої рогатої худоби [5], а К. А. Надєїн виявив підвищення ІЛ-2, ІЛ-8 та ІЛ-10 за бурситу в корів [4]. Встановлені зміни ІЛ-1, ІЛ-8, ФНП- $\alpha$  у корів за післяпологового метриту, асоційованого прояву метриту та гнійно-некротичних уражень у ділянці пальця, а саме значне зростання ІЛ-1 та ФНП- $\alpha$  [9]. Паращенко І. В. [6] спостерігав максимальне зростання концентрації ІЛ-1 та ІЛ-4 у сироватці крові корів під час охоти і встановив, що в корів, які перехворіли на ендометрит і затримання посліду, рівень ІЛ-1 та ІЛ-4 у сироватці крові залишається істотно нижчим від показника у корів під час статевої охоти, що, очевидно, пов'язане зі зниженням метаболічної та секреторної активності ендометрію в постморбідному періоді.

Досить цікавим є визначення рівня цитокінів за порушення обміну речовин у молочних корів. Адже розуміння, коли саме порушення обміну речовин призводить до запалення і чи взагалі воно спричиняє виникнення запальних процесів, може впливати на тактику лікування. Найбільш актуальним, на нашу думку, є вивчення рівня цитокінів за субклінічного кетозу. Ця патологія є дуже поширеною серед високопродуктивних корів і доволі часто ускладнюється розвитком гепатодистрофії, остеодистрофії, ендометритом та іншими патологіями. Розуміння, чи взагалі виникає запалення за кетозу та на якій його стадії, допоможе краще пояснити патогенез захворювання.

Тому метою досліджень було вивчити зміни ІЛ-1, ІЛ-4 та ІЛ-6 за субклінічного перебігу кетозу у високопродуктивних корів.

### Матеріали і методи

Для дослідження були відібрані корови червоно-рябої молочної породи, віком 3–5 років, продуктивністю понад 6000 літрів за лактацію. Клінічне обстеження корів, відбір сечі та крові для біохімічного аналізу проводили у перші тижні після отелення корів. Вміст кетонових тіл визначали кетометром *Optium Xceed* (США). У дослідну групу увійшли коро-

ви з рівнем кетонових тіл в сечі у 2–3+, а у сироватці крові — 1,1–2,1 ммоль/л. У корів дослідної групи спостерігалась гіпорексія, пригнічення, тахікардія, тахіпноє. У контрольній групі корів ці симптоми були відсутні. Рівень кетонових тіл у сироватці крові тварин цієї групи становив 0,4–0,7 ммоль/л, у сечі кетонових тіл не виявили.

У цільній крові проводили підрахунок кількості лейкоцитів у камері Горяєва, у сироватці визначали вміст  $\alpha_1$ -,  $\alpha_2$ -глобулінів методом електрофорезу. Рівень ІЛ-1, ІЛ-4, ІЛ-6 визначали на приладі ІФА ELISA із застосуванням тест-системи «Peninsula laboratories Inc.» (США). Одержані результати піддавали математичній обробці.

### Результати й обговорення

За даними діаграми (рис. 1), за субклінічного перебігу кетозу рівень прозапальних ІЛ-1 та ІЛ-6 у сироватці крові не відрізнявся від рівня у клінічно здорових тварин, що свідчить про відсутність запальних процесів. Це підтверджується нормальним рівнем  $\alpha_1$ - та  $\alpha_2$ -глобулінів (рис. 2), оскільки саме ІЛ-6 призводить до посилення синтезу білків гострої фази запалення, які входять до складу останніх [1].

Вміст ІЛ-4 у дослідній та контрольній групах корів також вірогідно не відрізнявся.

Слід зауважити, що і вміст лейкоцитів у тварин був у межах норми і становив  $8,8 \pm 0,67$  у контрольній та  $9,2 \pm 0,65$  у дослідній групі, що також підтверджує відсутність запального процесу за субклінічної форми кетозу в корів.

Досить складно порівнювати результати досліджень з нормативними даними для корів, оскільки останні в літературі нами не виявлені. Порівняння з роботами інших авторів також досить складне через різні одиниці виміру цитокінів та різні тест-набори, якими користувалися ці автори. Так, у дослідженнях Є. С. Одегова [5] кількість ІЛ-6 становила  $91,05 \pm 1,45$  у хворих на гостре респіраторне вірусне захворювання телят та  $264,71 \pm 3,1$  — у клінічно здорових, тобто зовсім не були наведені одиниці виміру ІЛ-6. Значно більші за рівнем показники наведені у роботі І. В. Паращенко [6]: вміст ІЛ-1 у корів коливався за різних стадій статевої охоти — від  $798 \pm 83,1$  до  $1693,4 \pm 123,8$  пкг/мл у середньому.

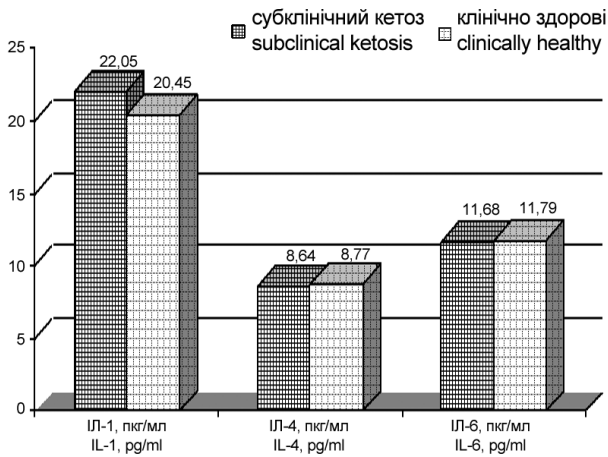


Рис. 1. Вміст ІЛ-1, ІЛ-4, ІЛ-6 у сироватці крові клінічно здорових та хворих на субклінічний кетоз корів  
Fig. 1. The content of IL-1, IL-4, IL-6 in blood serum of clinically healthy cows and cows diseased with subclinical ketosis

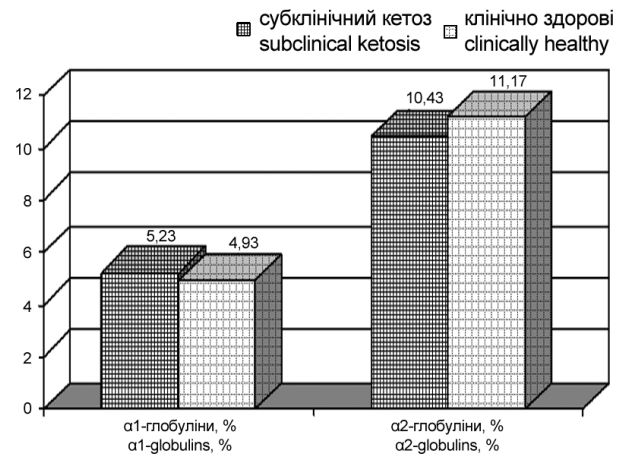


Рис. 2. Вміст  $\alpha_1$ - та  $\alpha_2$ -глобулінів у сироватці крові клінічно-здорових та хворих на субклінічний кетоз корів  
Fig. 2. The content of  $\alpha_1$ -,  $\alpha_2$ -globulins in blood serum of clinically healthy cows and cows diseased with subclinical ketosis

Отримані нами величини співпадають з даними попередніх досліджень [9] щодо вмісту ІЛ-1, який у здорових корів після пологів становив 8,0–26,5 пкг/мл. У досліджених нами корів показники ІЛ-1 були близькі за рівнем —  $22,05 \pm 1,10$  та  $20,45 \pm 0,7$  пкг/мл у корів за субклінічної форми кетозу та клінічно здорових корів відповідно.

У роботі [11] наведено підвищення ІЛ-6 поряд з підвищенням концентрації гідроксибутирату у хворих на кетоз корів. Нами не виявлено подібних змін. Скоріше за все, це пов'язано із різними стадіями захворювання. Можна припустити, що кетоз за субклінічної форми не супроводжується запальним процесом, але на початку розвитку клінічної форми, можливо, починається і процес запалення, про що може свідчити підвищення  $\alpha_1$ - та  $\alpha_2$ -глобулінів, — такі зміни  $\alpha$ -глобулінів наведені у роботі І. М. Петрух і М. Р. Сімонова [7]. Авторами було вивчено порушення обміну білків за кетозу високопродуктивних корів та встановлено підвищення в сироватці крові кількості загального білка і зміни співвідношень білкових фракцій (вірогідне зниження альбумінів і зростання глобулінів, у тому числі  $\alpha$ -фракції —  $14,1 \pm 0,62$  у клінічно здорових та  $19,0 \pm 1,34$  % у хворих на кетоз корів). Подібні дані наведені в нашій попередній роботі, де було виявлено диспротеїнемію [3]. Це припущення потребує подальших досліджень.

## Висновки

За субклінічного перебігу кетозу корів рівень прозапальних ІЛ-1 та ІЛ-6 та протизапального ІЛ-4 у сироватці крові не відрізнявся від рівня у клінічно-здорових тварин, що свідчить про відсутність процесів запалення за субклінічної форми кетозу. Підтверджується це нормальним вмістом  $\alpha_1$ - і  $\alpha_2$ -глобулінів та кількості лейкоцитів у крові корів, хворих на субклінічну форму кетозу.

**Перспективи подальших досліджень.** Вивчення рівня прозапальних ІЛ-1, ІЛ-6 та протизапального ІЛ-4 у сироватці крові за клінічної форми кетозу.

1. Cytokines: general information. *Knowledge base of human biology*. Available at: <http://humbio.ru/humbio/immunology/imm-gal/00142edc.htm#0012f857.htm>.

2. Haitova N. M., Avazova T. A., Sunnatova G. I., Majidova G. T. Application of the drug “TAF” lactoflora metabolic syndrome. Materials of international conference of young scientist “Modern medicine: tendency of development”, Karaganda, 2013, pp. 172–174. (in Russian)

3. Kibkalo D. V. Contents of Index of connective tissue in serum blood in cows of patient with polymorbid internal pathology. *Herald Bilotserkiv. state. agriculture. Univ. Bila Tserkva*, 2011, no. 8, pp. 54–57. (in Ukrainian)

4. Nadein K. A. Change the contents of interleukins in the blood serum of cattle bursitis. *Science and modernity*, 2011, no. 10–1, pp. 31–33. (in Russian)

5. Odegov E. S., Petrova O. G. Analysis of cytokine status with SARS cattle. *Young scientist*, 2016, no. 6, pp. 89–91. (in Russian)

6. Parashchenko I. V. Contents of interleukin-1 and interleukin-4 in the blood of cows in various stages of sexual cycle and the state of sexual function. *Scientific Journal of Veterinary Medicine*, Bila Tserkva, 2014, no. 13, pp. 182–186. (in Ukrainian)

7. Petrukh I. M., Simonov M. R. Features of the metabolism of proteins in the body of cows suffering from ketosis. *The Animal Biology*, 2010, vol. 12, no. 2, pp. 313–316. (in Ukrainian)

8. Simbirtsev A. S. Cytokines: classification and biological functions. *Journal of Cytokines and Inflammation*, 2004, no. 2, pp. 16–22. (in Russian)

9. Vlasenko S. A., Rublenko M. V. Content of certain cytokines in the blood of cows with obstetric, gynecological and purulent necrotic lesions in the area of the thumb. *Science Journal NUBiP Ukraine*, 2009, no. 136, pp. 289–294. (in Ukrainian)

10. Wisse B. E. The inflammatory syndrome: the role of adipose tissue cytokines in metabolic disorders linked to obesity. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2004, Nov; 15(11), pp. 280–292. DOI: 10.1097/01.ASN.0000141966.69934.21.

11. Zhang G., Hailemariam D., Dervishi E., Goldansaz S. A., Deng Q., Dunn S. M., Ametaj B. N. Dairy cows affected by ketosis show alterations in innate immunity and lipid and carbohydrate metabolism during the dry off period and postpartum. *Research in Veterinary Science*, 2016, vol. 107, pp. 246–256.