ДОПОВІДІ
НАЦІОНАЛЬНОЇ
АКАДЕМІЇ НАУК
УКРАЇНИ

11 • 2015

БІОХІМІЯ

УДК 632.2“434”:612.017:577.12(081)

Академік НАН України **Д. О. Мельничук, В. А. Грищенко**

Прогнозування імунодефіциту в новонароджених телят

Встановлено, що найінтенсивніше формування колострального імунітету в новонароджених телят (за рахунок імуноглобулінів молозива) відбувається протягом перших 36 годин життя. Зміни концентрації імуноглобулінів у крові новонароджених на фоні вмісту загального білка співвідносяться з величинами відповідного коефіцієнта (інтенсивність змін рівня імуноглобулінів у крові (ІЗІК)). На підставі отриманих результатів рекомендовано використання величин коефіцієнта ІЗІК як індикатора стану колострального імунозабезпечення новонароджених телят (норма ІЗІК становить 0,14–0,16 на 36-ту годину життя).

Ключові слова: Молозиво, новонароджені телята, колостральний імунітет, загальний білок, імуноглобуліни, коефіцієнт інтенсивності змін рівня імуноглобулінів у крові.

Відомо, що новонароджені ссавці повинні отримувати впродовж перших двох діб життя в достатній кількості імуноглобуліни з молозивом. За умов порушення режиму випоювання молозива, при наявності вроджених вад шлунково-кишкового тракту, а також патологіях молочної залози тощо, у новонароджених має місце явище імунодефіцитного стану організму [1–3]. У цих випадках основною причиною виникнення зазначеного стану є гіпогаммаглобулінемія [4–6]. Тому залишається актуальним своєчасно діагностувати в новонароджених розвиток імунодефіцитного стану та розробити заходи його профілактики, лікування та прогнозування.

Виділяють два критичних періоди в процесі формування резистентного стану організму новонароджених: перший — відразу після народження тварин (зміна умов функціонування організму), другий — при зміні їх типу харчування [6, 7]. В обох випадках важливу роль у формуванні імунітету відіграє кислотно-лужний стан (КЛС) організму [2]. Негативно впливає на цей процес ацидозний стан організму [7].

Метою дослідження було встановити закономірності формування рівня імуноглобулінів та загального білка в сироватці крові новонароджених телят протягом перших 36 год життя за умов експериментального ацидозу й алкалозу.

Телят залучали в дослід відразу після народження і спостерігали за ними протягом перших 36 год життя. Піддослідних тварин розділяли на три групи ($n = 12$ у кожній):

© Д. О. Мельничук, В. А. Грищенко, 2015

контроль, у стані ацидозу та алкалозу [8, 9]. Матеріалом дослідження була венозна кров, яку відбирали у тварин тричі: через 1 год після народження до випоювання молозива та на 24-ту і 36-ту год життя. У пробах сироватки крові визначали вміст загального білка на біохімічному аналізаторі показників крові Microlab-200 (“AVL””, Німеччина). Протеїновий спектр сироватки крові, у тому числі загальний вміст імуноглобулінів (Ig), досліджували методом вертикального гель-електрофорезу в 10% поліакриламідному гелі з 0,1% розчином DS-Na на системі АВГЕ-1 “Хийу-Каллур” [10]. Розрахунок кількості білків на денситограмах здійснювали на лазерному денситометрі Ultroscan LX Laser Densitometer (“LKB-Pharmacia”, Швеція). Ідентифікували фракції протеїнів за величиною R_f та маркерних протеїнів HMW (“LKB-Pharmacia”, Швеція). Результати експериментальних досліджень обробляли загальноприйнятими методами варіаційної статистики [11].

Згідно з результатами досліджень, на момент народження телят до першого випоювання молозива в сироватці крові відмічається низький рівень загального білка ($48{,}70 \pm 0{,}76$ г/л) і слідовий вміст протеїнів γ-глобулінової фракції (табл. 1). Протягом 1-ї доби життя спостерігається інтенсивне підвищення рівня загального білка (на 43%) порівняно з вихідними даними. Збільшення концентрації загального білка у сироватці крові телят на 24-ту год життя, як відомо, зумовлено інтенсивним всмоктуванням протеїнів молозива в травному каналі (особливо високі імунобіологічні властивості у молозива першого удою), наявністю інгібіторів протеаз і особливим рецепторним механізмом абсорбції нативних білків у кишечнику [1–3]. Максимальної величини рівень загального білка набуває на 36-ту год життя телят ($72{,}70 \pm 0{,}20$ г/л). Одночасно зі змінами рівня загального білка у сироватці крові телят на 24-ту і 36-ту год життя в нормі відбувається вірогідне підвищення концентрації імуноглобулінів у 4,3 і 5 разів відповідно до часу спостережень. За даними літератури, ендогенний біосинтез антитіл відмічається лише з 8–16-ї доби після народження телят, а Ig A — на 64-ту добу [1]. Тому у випадках розвитку в новонароджених тварин неонатальної патології або порушення режиму випоювання молозива в їх крові формується недостатній рівень імуноглобулінів.

Таблиця 1. Інтенсивність змін концентрації імуноглобулінів у сироватці крові здорових телят протягом перших 36 год життя та при моделюванні в них стану метаболічного ацидозу й алкалозу, $M \pm m$; $n = 12$

Період дослідження	C_{Ig}, г/л	$C_{\text{ЗБ}}$, г/л	Коефіцієнт ІЗІК (діапазон допустимих значень)
Інтактні телята			
Через 1 год після народження (до першого випоювання молозива)	$2{,}23 \pm 0{,}53$	$48{,}70 \pm 0{,}76$	$0{,}05 \pm 0{,}01$ (0,04–0,06)
На 24-ту год життя	$9{,}63 \pm 0{,}14*$	$69{,}80 \pm 0{,}25^*$	$0{,}14 \pm 0{,}01^*$ (0,13–0,15)
На 36-ту год життя	$11{,}17 \pm 0{,}73^*$	$72{,}70 \pm 0{,}20^*$	$0{,}15 \pm 0{,}01^*$ (0,14–0,16)
Телята у стані штучного ацидозу			
Через 1 год після народження (до першого випоювання молозива)	$2{,}22 \pm 0{,}54$	$48{,}90 \pm 0{,}70$	$0{,}05 \pm 0{,}01$ (0,03–0,06)
На 24-ту год життя	$8{,}38 \pm 0{,}34^*$	$61{,}80 \pm 3{,}40$	$0{,}14 \pm 0{,}01^*$ (0,13–0,15)
На 36-ту год життя	$9{,}01 \pm 0{,}47^*$	$65{,}0 \pm 3{,}10$	$0{,}14 \pm 0{,}01^*$ (0,13–0,15)
Телята у стані штучного алкалозу			
Через 1 год після народження (до першого випоювання молозива)	$2{,}23 \pm 0{,}52$	$48{,}80 \pm 0{,}77$	0,05±0,01 (0,04–0,06)
На 24-ту год життя	$11{,}56 \pm 1{,}81^*$	$73{,}0 \pm 2{,}30^*$	$0{,}16 \pm 0{,}01^*$ (0,14–0,18)
На 36-ту год життя	$13{,}82 \pm 0{,}24^*$	$75{,}50 \pm 0{,}22^*$	$0{,}18 \pm 0{,}01^*$ (0,17–0,19)

$^*p < 0{,}05$, достовірна різниця динаміки вмісту протеїнів крові порівняно з вихідними даними.

КЛС організму істотно впливає на швидкість і напрям перебігу метаболічних процесів у тканинах [7]. В умовах експериментального метаболічного ацидозу, як і в інтактних тварин, рівень загального протеїну в сироватці крові телят протягом перших 36 год життя має тенденцією до підвищення (див. табл. 1). Однак у перших цей процес відбувається повільніше і тому його значення на 24-ту і 36-ту год життя на 11% нижчі за контрольні. Цьому може сприяти погіршення процесів всмоктування протеїнів молозива у шлунково-кишковому тракті телят у стані ацидозу. Крім того, концентрація протеїнів γ-глобулінової фракції в плазмі крові телят у стані експериментального ацидозу на 24-ту год життя була на 13%, а на 36-ту — на 19% нижчою, ніж у тварин контрольної групи.

Таким чином, підвищення концентрації іонів гідрогену в організмі новонароджених телят негативно впливає на формування рівня γ-глобулінів сироватки крові. Цей факт узгоджується з даними літератури [12] щодо зниження інтенсивності біосинтезу антитіл на 43–55% при хронічному метаболічному ацидозі.

Показано, що респіраторно-метаболічний ацидоз в організмі телят періоду новонародженості в процесі стабілізації кислотно-лужних параметрів закономірно переходить у незначно виражений компенсований алкалоз [7]. В експерименті на інтактних тваринах такий стан виявляється на 24-ту год їхнього постнатального життя. Цьому сприяє інтенсивне наростання буферної ємності крові. Водночас, цей період характеризується інтенсивним підвищенням у сироватці крові тварин рівня загального протеїну.

Переведення новонароджених телят у стан експериментального метаболічного алкалозу призводить до зростання рівня вуглекислоти й концентрації бікарбонатних іонів у сироватці крові таких телят, а також підвищення вмісту загального протеїну як на 24-ту, так і на 36-ту год життя (відповідно на 5 та 4% порівняно з контролем і на 18 та 16% порівняно з телятами у стані ацидозу) (див. табл. 1). Крім того, в їхній сироватці спостерігається порівняно високий рівень протеїнів γ-глобулінової фракції ($11{,}56 \pm 1{,}81$ і $13{,}82 \pm 0{,}24$ г/л відповідно на 24-ту і 36-ту год життя). Цей факт, як і дані інших дослідників [12], свідчить про позитивний вплив змін показників КЛС у бік алкалозу на функціонування механізмів, які забезпечують формування резистентного стану організму, що впливає також і на транспорт протеїнів молозива у кров.

Встановлені закономірності інтенсивності змін рівня загального білка та імуноглобулінів у сироватці крові телят протягом перших 36 год життя, в яких також штучно викликали стан ацидозу й алкалозу, стали основою в розрахунку запропонованого нами показника інтенсивності змін імуноглобулінів крові (коефіцієнта ІЗІК) (див. табл. 1). Його розрахунок передбачає визначення співвідношення концентрації імуноглобулінів (C_{Ig}) і загального білка ($C_{\text{ЗБ}}$) у сироватці крові новонароджених телят на 1-шу год життя (до випоювання молозива) та на 24-ту і 36-ту год життя за формулою

$$\text{ІЗІК} = \frac{C_{\text{Ig}}}{C_{\text{ЗБ}}},$$

де ІЗІК — коефіцієнт, що характеризує інтенсивність зміни імуноглобулінів крові по відношенню до концентрації загального протеїну сироватки крові новонароджених телят перших 36 год життя; C_{Ig} — концентрація імуноглобулінів у сироватці крові телят, г/л; $C_{\text{ЗБ}}$ — концентрація загального білка сироватки крові, г/л. Фізіологічні значення цього коефіцієнта для телят на 1-шу год життя (до випоювання молозива) — 0,05 (0,04–0,06), на 24-ту год життя — 0,14 (0,13–0,15), на 36-ту год життя — 0,15 (0,14–0,16) (див. табл. 1, рис. 1.)

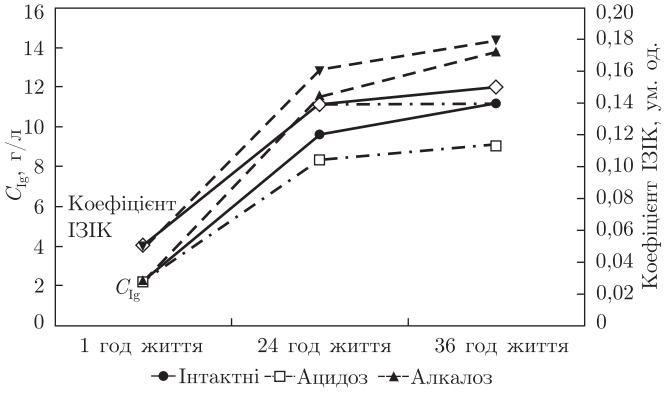

Рис. 1. Інтенсивність змін концентрації імуноглобулінів у сироватці крові (коефіцієнт ІЗІК) здорових телят протягом перших 36 год життя та при моделюванні у них стану метаболічного ацидозу й алкалозу

У результаті аналізу отриманих величин коефіцієнта ІЗІК можна стверджувати, що перебування телят протягом перших 36 год життя у стані штучного ацидозу супроводжується формуванням дефіцитного рівня імуноглобулінів у сироватці крові і свідчить про тенденцію до формування імунодефіцитного стану організму, а отже, схильність цих тварин до виникнення неонатальної патології. І навпаки, у телят, які перебували зазначений вище період у стані штучного алкалозу, встановлено підвищення рівня імунозабезпечення організму та високі значення цього коефіцієнта.

Отже, на підставі результатів дослідження визначення величини коефіцієнта ІЗІК пропонується для використання у прикладній ветеринарії з метою діагностики, прогнозування і профілактики розвитку імунодефіцитного стану організму в новонароджених телят та у превентивних і терапевтичних технологіях неонатальної патології для збереження і вирощування здорового поголів'я продуктивних тварин.

Цитована література

1. *Hernández-Castellano L. E., Morales-delaNuez A., Sánchez-Macias D., Moreno-Indias I., Torres A., Capote J., Argüello A., Castro N.* The effect of colostrum source (goat vs. sheep) and timing of the first colostrum feeding (2 h vs. 14 h after birth) on body weight and immune status of artificially reared newborn lambs // J. Dairy Science. – 2015. – **98**, Iss. 1. – P. 204–210. – http://dx.doi.org/10.3168/jds.2014–8350.
2. *Мельничук Д. О., Цвіліховський М. І., Грищенко В. А.* Закономірності формування колострального імунітету у новонароджених телят // Укр. біохім. журн. – 2002. – **74**, № 2. – С. 10–13.
3. *Петров А. М.* Формирование колострального иммунитета у животных // Ветеринария. – 2006. – № 8. – С. 35–41.
4. *Ефанова Л. И.* Защитные механизмы организма. Иммунодиагностика и иммунопрофилактика инфекционных болезней животных. – Воронеж, ВГАУ, 2004. – 392 с.
5. *Басова Н. Ю.* Иммунологическая реактивность и ее коррекция при респираторных болезнях телят // Ветеринария. – 2005. – № 12. – С. 18–20.
6. *Исаев В. В., Косорлукова З. Я., Хрисанфова Т. Д.* Коррекция иммунодефицитов для профилактики желудочно-кишечных болезней новорожденных телят // Вет. патология. – 2005. – № 4. – С. 113–116.
7. *Мельничук Д. О., Грищенко В. А.* Біохімічні механізми відновлення кислотно-лужного гомеостазу в організмі новонароджених телят при ентеропатології, їх коригування // Біоресурси і природокористування. – 2013. – **5**, № 5–6. – С. 57–68.
8. *Пат.* 72034 Україна, МПК G 09 B 23/28. Спосіб моделювання стану метаболічного ацидозу у новонароджених телят / Д. О. Мельничук, М. І. Цвіліховський, В. А. Грищенко. – № 2002108184; Заявл. 15.10.02; Опубл. 17.01.05, Бюл. № 1.

9. *Пат.* 72035 Україна, МПК G 09 B 23/28. Спосіб моделювання стану метаболічного алкалозу у новонароджених телят / Д. О. Мельничук, М. І. Цвіліховський, В. А. Грищенко. – № 2002108185; Заявл. 15.10.02; Опубл. 17.01.05, Бюл. № 1.
10. *Laemmly V. K.* Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage // Nature. – 1970. – **227**, No 5259. – P. 680–685.
11. *Кучеренко М. Є., Бабенюк Ю. Д., Войціцький В. М.* Сучасні методи біохімічних досліджень. – Київ: Фітосоціоцентр, 2001. – 412 с.
12. *Журавский Н. И., Братусь Н. И., Корнилова О. Н.* Влияние карбостимулина на соединение метаболитов трикарбонового цикла, окислительные процессы и биосинтез антител у крыс // Укр. биохим. журн. – 1984. – **56**, № 1. – С. 103–109.

References

1. *Hernández-Castellano L. E., Morales-delaNuez A., Sánchez-Macnias D., Moreno-Indias I., Torres A., Capote J., Argüello A., Castro N.* J. Dairy Science, 2014, **98**, Iss. 1: 204–210. — http://dx.doi.org/10.3168/jds.2014–8350.
2. *Melnychuk D., Tsvilihovskyy M. I., Gryshchenko V. A.* Ukr. Biochem. J., 2002, **74**, No 2: 10–13 (in Ukrainian).
3. *Petrov A. M.* Veterinariya, 2006, No 8: 35–41 (in Russian).
4. *Efanova L. I.* Body's defense mechanisms. Immunodiagnosis and immunoprophylaxis of infectious animal diseases, Voronezh: VGAU, 2004 (in Russian).
5. *Basov N. Y.* Veterinariya, 2005, No 12: 18–20 (in Russian).
6. *Isayev V. V., Kosorlukova Z. Ya., Khrisanfova T. D. et al.* Veterinary Pathology, 2005, No 4: 113–116 (in Russian).
7. *Melnychuk D. O., Gryshchenko V. A.* Life and Environmental Sciences, 2013, **5**, No 5–6: 57–68 (in Ukrainian).
8. *Pat.* 72034 Ukraine, IPC G 09 B 23/28. Method modeling of metabolic acidosis in newborn calves, D. A. Melnychuk, M. I. Tsvilihovskyy, V. A. Gryshchenko, No 2002108184; Appl. 10.15.02; Publ. 01.17.05, Bull. No 1 (in Ukrainian).
9. *Pat.* 72035 Ukraine, IPC G 09 B 23/28. Method modeling of metabolic alkalosis in newborn calves, D. A. Melnychuk, M. I. Tsvilihovskyy, V. A. Gryshchenko, No 2002108185; Appl. 10.15.02; Publ. 01.17.05, Bull. No 1 (in Ukrainian).
10. *Laemmly V. K.* Nature, 1970, **227**, No 5259: 680–685.
11. *Kucherenko N. E., Babenyuk Y. D., Voytsitskyy V. M.* Modern Methods of biochemical research, Kiev: Fitosocialcentr, 2001 (in Ukrainian).
12. *Zhuravskiy N. I., Bratys N. I. Kornilov O. N.* Ukr. biochem. J., 1984, **56**, No 1: 103–109 (in Russian).

Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ

Надійшло до редакції 05.06.2015

Академик НАН Украины **Д. А. Мельничук, В. А. Грищенко**

Прогнозирование иммунодефицита у новорожденных телят

Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, Киев

Установлено, что наиболее интенсивное формирование колострального иммунитета у новорожденных телят (за счет иммуноглобулинов молозива) происходит на протяжении первых 36 часов жизни. Изменения концентрации иммуноглобулинов в крови новорожденных на фоне содержания общего белка соотносятся с размерностями соответствующего коэффициента (интенсивность изменений уровня иммуноглобулинов в крови (ИЗИК)).

На основании полученных результатов рекомендовано использование величин коэффициента ИЗИК в качестве индикатора состояния колострального иммунообеспечения новорожденных телят (норма ИЗИК составляет 0,14–0,16 на 36-й час жизни).

Ключевые слова: молозиво, новорожденные телята, колостральный иммунитет, общий белок, иммуноглобулины, коэффициент интенсивности изменений уровня иммуноглобулинов в крови.

Academician of the NAS of Ukraine **D. O. Melnychuck, V. A. Gryshchenko**

Prediction of immunodeficiency in newborn calves

National University of Life and Enviromental Sciences of Ukraine, Kiev

It is found that the most intense formation of colostral immunity in newborn calves (due colostrum immunoglobulins) occurs during the first 36 hours of life. Changes in the concentrations of immunoglobulins in the blood of infants against the backgroud of the total protein content correspond to the values of the coefficient of intensity of changes in blood immunoglobulin (CICBI). Based on the results of studies, the use of CICBI as a indicator of colostral immunity in newborn calves (CICBI norm rate is 0.14–0.16 at the 36th hour of life) is recommended.

Keywords: colostrum, newborn calves, colostral immunity, total protein, immunoglobulins, coefficient intensiveness changes in the level of immunoglobulins in the blood.