

Лейкоциты и особенности их взаимосвязей с кортизолом и прогестероном в организме сухостойных коров

А.Н. След, аспирант, М.А. Дерхо, д.б.н., профессор, ФГБОУ ВО Южно-Уральский ГАУ

Важным аспектом сохранения генетического потенциала продуктивности, воспроизводительных способностей и уровня здоровья коров является правильная организация сухостойного периода [1], который совпадает с заключительным этапом беременности и необходим животному для подготовки к отёлу и будущей лактации. Он характеризуется интенсивным взаимодействием в функциональной системе «мать – плод». При этом организм коровы обеспечивает условия для роста и развития плода, а плод, в свою очередь, определяет в организме матери активность и направленность обмена веществ, иммунологический статус, принципы нейрогуморальной регуляции и т.д. [2]. При этом поддержание механизмов интеграции взаимоотношений между матерью и плодом определяет здоровье будущего потомства.

Процессы жизнедеятельности в организме матери, как результат формирования в центральной нервной системе доминанты беременности, обеспечиваются системой нейрогуморальной регуляции [3, 4], отдельные звенья которой функционируют за счёт работы механизмов прямой и обратной связи [5]. Они обеспечивают протекание морфологических, иммунологических, адаптационно-компенсаторных и других физиологических изменений, направленных на создание условий для развития плода.

Важным механизмом, обеспечивающим физиологическое течение беременности, является иммунологическая регуляция, о состоянии которой можно судить по лейкоцитарному составу периферической крови [6]. При этом каждый триместр беременности характеризуется определённым клеточным профилем крови, отражающим как взаимоотношения в системе «мать – плод», так и механизмы нейрогуморальной регуляции. Большинство аспектов данной проблемы достаточно хорошо отражены в исследованиях по гуманной медицине [7–9]. В то же время у животных взаимоотношения между клетками крови и гормонами в различные сроки физиологической беременности изучены недостаточно, что и актуализирует тему настоящего исследования.

В связи с этим **целью** нашей работы явилось изучение лейкоцитарного состава крови во взаимосвязи с уровнем гормонов (кортизол, прогестерон) в организме сухостойных коров в сухостойный период.

Материал и методы исследования. Эксперимент выполнен в 2018 г. на базе ТОО «Пшеничное»

(Республика Казахстан, Костанайская область, Фёдоровский район). Объектом исследования служили коровы чёрно-пёстрой и аулиекольской пород, готовящиеся ко второму отёлу. Они в сухостойный период содержались беспривязно, на полу с подстилкой, с постоянным свободным доступом к основным кормам. Подстилочный материал досыпали ежедневно, не допуская сырости и грязи в помещении.

Для выполнения экспериментальной работы из коров сухостойного стада по породному признаку с учётом принципа сбалансированных групп было сформировано две опытные группы (n = 20): I гр. – аулиекольская порода, II гр. – чёрно-пёстрая.

Материалом для исследования служила кровь, забор которой проводили из яремной вены в начале и в конце сухостойного периода. Место взятия крови дезинфицировали 70-процентным спиртом. Забор крови для клинического анализа производили в пробирки с химическим наполнителем K₃EDTA для предотвращения свертывания крови. Клинический анализ крови выполнен на автоматическом гематологическом анализаторе «Sysmex, XS-500I» (Япония) с ручной микроскопией мазков. Для биохимических исследований использовали сыворотку крови, которую получали общепринятым методом. В ней определяли концентрацию кортизола и прогестерона иммуноферментным методом с помощью наборов реактивов «Кортизол - Ифа - Бест», «Прогестерон - Ифа - Бест» (г. Новосибирск, Россия).

Полученные данные статистически обработаны с помощью методов вариационной статистики на ПК при использовании табличного процессора «Microsoft Excel-2010», пакета прикладной программы «Versia». Для оценки достоверности различий между группами использовали критерий t-Стьюдента. Критический уровень значимости был равен 0,05.

Результаты исследования. Беременность и реактивность организма – это физиологические процессы, определяющие как здоровье потомства и матери, так и будущую молочную продуктивность коровы. В то же время иммунобиологический статус животных взаимосвязан со сроком развития плода и изменяется в ходе беременности; мониторинг за его состоянием позволяет контролировать состояние здоровья животных и прогнозировать исход родов. Одной из самых важных индикаторных систем организма животных являются клетки белой крови, которые быстро реагируют на изменения, происходящие в нём при воздействии различных эндо- и экзогенных факторов.

Результаты клинического анализа показали, что количество лейкоцитарных клеток у живот-

1. Лейкограмма коров в сухостойный период (n=20; X±Sx)

Показатель	Аулиекольская порода (I гр.)		Чёрно-пёстрая порода (II гр.)	
	сухостойный период			
	начало	конец	начало	конец
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	9,71±0,20	11,41±0,33* ²	7,92±0,10* ¹	8,52±0,31* ^{1*2}
Эозинофилы, %	4,10±0,28	5,50±0,43* ²	6,30±0,40* ¹	7,80±0,32* ^{1*2}
Палочкоядерные нейтрофилы, %	2,40±0,16	3,50±0,22* ²	3,60±0,37* ¹	4,90±0,27* ^{1*2}
Сегментоядерные нейтрофилы, %	27,10±0,69	35,40±0,40* ²	24,40±0,70* ¹	32,20±0,80* ^{1*2}
Лимфоциты, %	62,60±1,66	50,10±0,37* ²	60,40±1,88	48,10±0,59* ²
Моноциты, %	3,80±0,33	5,50±0,43* ²	5,30±0,39* ¹	7,00±0,26* ^{1*2}

Примечание: *¹ P<0,05 между группами; *² P<0,05 между данными в группе

ных опытных групп колебалось в пределах границ нормы (табл. 1). При этом коровы аулиекольской и чёрно-пёстрой пород различались по их уровню в кровотоке. Так, общее количество лейкоцитов в крови мясных коров было больше в 1,23–1,34 раза (P<0,05), чем у молочных, свидетельствуя о влиянии направления продуктивности и конституции животных на общую резистентность организма. Однако тенденция изменения их количества в ходе сухостойного периода была однотипной: уровень клеток планомерно повышался (в I гр. – на 17,51%, во II гр. – на 7,57%), свидетельствуя об изменении иммунного статуса организма матери в ходе подготовки к отёлу. Возможно, одной из причин служит сосредоточение лейкоцитов перед родами в матке, что в последующем защищает орган от попадания инфекции, обеспечивая его правильное сокращение.

Коровы опытных групп имели достоверные отличия в начале сухостойного периода по концентрации эозинофилов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов и моноцитов (табл. 1). Наибольшие различия выявлялись по уровню эозинофилов (53,65%), наименьшие – по количеству сегментоядерных нейтрофилов (11,07%). Аналогичная закономерность обнаруживалась и в конце сухостойного периода. Значит, коровы аулиекольской породы проявляли по отношению к антигенам плода в последнем триместре беременности большую толерантность, чем чёрно-пёстрые.

В лейкограмме коров опытных группы независимо от их породы была выявлена общая тенденция: в ходе сухостойного периода происходил рост числа эозинофилов на 23,80–34,14 (P<0,05), палочкоядерных (на 36,11–45,83%) и сегментоядерных нейтрофилов (на 30,63–31,96%), моноцитов (на 32,08–44,73%) на фоне убыли лимфоцитов (на 24,95–25,57%).

Следовательно, независимо от породы животных организм матери при беременности создаёт условия для иммунной привилегированности плода как основы его развития, что сопровождается перераспределением соотношения между лейкоцитарными клетками, обеспечивая усиление биологических свойств одних и ослабляя действие других.

Иммунный статус коров взаимосвязан с гормональным фоном, который определяется как

влиянием различных факторов, так и потребностями клеток-мишеней в гормонах, зависящих от физиологического состояния организма [6, 10]. Основополагающая роль в сохранении и развитии беременности принадлежит стероидным гормонам, наиболее важным из которых является прогестерон. Он обеспечивает благополучное вынашивание плода благодаря способности подавлять иммунный ответ организма матери через прогестерон – индуцированный блокирующий фактор, определяет запирающую функцию шейки матки, обеспечивает покой миометрия, служит источником для синтеза других стероидных гормонов, необходимых для развития беременности [8].

В крови коров чёрно-пёстрой породы концентрация прогестерона была как в начале, так и в конце сухостойного периода в 1,12–1,19 раза выше, чем у аулиекольской (табл. 2). Это обусловлено влиянием гормона на ткани молочной железы, в которой он стимулирует рост и развитие железистой ткани, увеличивает число долек и альвеол [8], готовя организм коровы к будущей лактации с соответствующей молочной продуктивностью, зависящей от направления продуктивности животных.

В ходе сухостойного периода концентрация прогестерона планомерно снижалась (табл. 2). В сыворотке коров I гр. убыль уровня гормона составляла 10,74% (P<0,05), II – 14,74% (P<0,05), что можно рассматривать как подготовку организма матери к отёлу и будущей лактации.

Приспособительные реакции организма коровы во время беременности отражает концентрация кортизола, который во время беременности синтезируется с участием плаценты, печени и надпочечников плода, т.е. является гормоном фетоплацентарного комплекса. Он прямо или опосредованно регулирует большинство физиологических и биохимических процессов, имея клетки-мишени в печени, мышцах, лимфоидной и жировой ткани, центральной нервной системе [9].

В крови коров чёрно-пёстрой породы концентрация кортизола (табл. 2) превышала уровень аулиекольской породы в начале сухостойного периода на 20,41% (P<0,05), в конце – на 40,41% (P<0,05), что является результатом различий в массе развивающегося плода у животных молочного и мясного направления продуктивности.

2. Динамика стероидных гормонов в крови коров в ходе сухостойного периода (n=20; X±Sx)

Показатель	Аулиекольская порода (I гр.)		Чёрно-пёстрая порода (II гр.)	
	сухостойный период			
	начало	конец	начало	конец
Кортизол, нмоль/л	26,61±0,73	31,55±1,32* ²	32,04±1,24* ¹	44,30±2,30* ^{1*2}
Прогестерон, нмоль/л	28,84±0,84	25,74±0,60* ²	34,24±0,84* ¹	29,19±0,70* ^{1*2}

Примечание: *¹ P<0,05 между группами; *² P<0,05 между данными в группе

3. Значения коэффициентов корреляции между гормонами и лейкоцитами (n=20; X±Sx)

Показатель	Аулиекольская порода (I гр.)				Чёрно-пёстрая порода (II гр.)			
	сухостойный период							
	начало		конец		начало		конец	
	корти- зол, нмоль/л	прогес- терон, нмоль/л	корти- зол, нмоль/л	прогес- терон, нмоль/л	корти- зол, нмоль/л	прогес- терон, нмоль/л	корти- зол, нмоль/л	прогес- терон, нмоль/л
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	-0,78± 0,22*	0,57± 0,29	-0,62± 0,27*	-0,05± 0,35	0,62± 0,28*	0,75± 0,23*	-0,92± 0,13*	0,54± 0,29
Эозинофилы, %	0,68± 0,25*	-0,13± 0,35	0,76± 0,23*	0,14± 0,35	0,90± 0,15*	0,87± 0,17*	0,78± 0,21*	-0,04± 0,35
Палочкоядерные нейтрофилы, %	0,06± 0,35	-0,95± 0,11*	-0,54± 0,30	0,35± 0,33	0,57± 0,29	0,88± 0,17*	0,84± 0,19	-0,83± 0,20*
Сегментоядерные нейтрофилы, %	-0,72± 0,24*	0,23± 0,34	-0,28± 0,34	0,77± 0,23*	-0,19± 0,35	0,32± 0,34	0,71± 0,25	-0,92± 0,14
Лимфоциты, %	-0,83± 0,20*	0,70± 0,25*	-0,78± 0,22*	-0,78± 0,22*	0,89± 0,16*	0,68± 0,23*	0,50± 0,31	-0,69± 0,24*
Моноциты, %	-0,46± 0,32	0,14± 0,35	0,81± 0,21*	-0,20± 0,35	0,05± 0,35	-0,33± 0,33	-0,03± 0,35	-0,84± 0,19*

Примечание: * P<0,05

В ходе сухостойного периода содержание гормона в крови животных возрастало. Уровень кортизола перед отёлом превышал исходное значение в I гр. на 18,56% (P<0,05), во второй – на 38,26% (P<0,05).

Повышение концентрации кортизола в крови беременных животных физиологично и сопряжено с удовлетворением возрастающих метаболических потребностей развивающегося плода. Гормон необходим плоду для формирования ферментных систем печени, кишечного и альвеолярного эпителия, секреции сурфактанта, необходимого для расправления лёгких при первом вздохе [9]. Поэтому по мере развития плода возрастает количество кортизола, поступающего к плоду через плаценту из организма матери, что и обуславливает рост его концентрации в крови коров.

Для оценки взаимосвязи между параметрами гормонального и иммунного статуса у беременных коров аулиекольской и чёрно-пёстрой пород нами определены значения коэффициентов корреляции по Пирсону между количеством отдельных лейкоцитарных клеток и концентрацией кортизола и прогестерона в кровеносном русле.

Анализ значений коэффициентов корреляции позволил установить следующее (табл. 3).

1. Между гормонами и лейкоцитарными клетками в сыворотке крови коров I гр. выявлено 45,83%, а II гр. – 50,0% достоверных коэффициентов корреляции. Следовательно, изменение концентрации

кортизола и прогестерона независимо от породы беременных коров инициировало изменение в их организме иммунных реакций, опосредованных биологическими эффектами лейкоцитарных клеток.

2. Кортизол в организме коров как аулиекольской, так и чёрно-пёстрой породы достоверно коррелировал с общим количеством лейкоцитов. Значение коэффициента корреляции у животных I гр. колебалось в интервале от -0,62±0,27 до -0,78±0,22; II гр. – от 0,62±0,28 до -0,92±0,13. Значит, кортизол влиял на защитные реакции организма беременных животных благодаря способности оказывать стабилизирующее действие на мембраны клеток и их органелл и регулировать адгезию и миграцию лейкоцитов [9]. Данные эффекты наиболее сильно были выражены в отношении эозинофилов и лимфоцитов.

3. Прогестерон как в начале, так и в конце сухостойного периода достоверно коррелировал у коров опытных групп с количеством лимфоцитов. Значения коэффициентов корреляции в I гр. колебалось в интервале от 0,70±0,25 до -0,78±0,22; во II гр. – от 0,68±0,23 до -0,69±0,24. Одной из причин выявленных корреляций является возрастание в крови беременных животных количества лимфоцитов, имеющих рецепторы прогестерона. В присутствии прогестерона активируемые лимфоциты вырабатывают прогестерониндуцированный блокирующий фактор, при помощи которого

регулируется скорость роста плаценты и синтез естественных иммуносупрессоров [11].

Выводы. Результаты исследования показали, что беременные коровы аулиекольской и чёрно-пёстрой породы имеют количественные различия по концентрации в крови лейкоцитарных клеток и гормонов (кортизол, прогестерон), но динамика изменений данных показателей в ходе сухостойного периода однотипна и определяется взаимоотношениями в системе «мать — плод» в зависимости от метаболических потребностей плода. В крови коров опытных групп в динамике начало — конец сухостойного периода увеличивается общее количество лейкоцитов на 7,57–17,51%, сопровождаемая перераспределением процентной доли клеток в лейкограмме. При этом возрастает число эозинофилов на 23,80–34,14 ($P<0,05$), палочкоядерных (на 36,11–45,83%) и сегментоядерных нейтрофилов (на 30,63–31,96%), моноцитов на 32,08–44,73% и уменьшается лимфоцитов (на 24,95–25,57%). По мере развития беременности в крови коров увеличивается концентрация кортизола на 18,56–38,26% ($P<0,05$) как результат развития плода. Уровень прогестерона, наоборот, снижается на 10,74–14,74% ($P<0,05$), обеспечивая подготовку организма матери к отёлу и будущей лактации. Количество лейкоцитов взаимосвязано с уровнем гормонов, о чём свидетельствуют достоверные корреляции в парах признаков: кортизол — лейкоциты (у коров аулиекольской породы $r=-0,62\pm 0,27$ и $-0,78\pm 0,22$ ($P<0,05$); чёрно-пёстрой породы — $r=0,62\pm 0,28$ и $-0,92\pm 0,13$ ($P<0,05$); прогестерон — лимфоциты

(у коров аулиекольской породы $r=-0,70\pm 0,25$ и $-0,78\pm 0,22$ ($P<0,05$); чёрно-пёстрой породы $r=0,68\pm 0,23$ и $-0,69\pm 0,24$ ($P<0,05$)).

Литература

1. Иванова И.Е., Волынкина М.Г. Биохимический статус крови высокопродуктивных коров сухостойного периода в условиях АО «ПЗ «Учхоз ГАУ Северного Зауралья» // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2017. № 5 (67). С. 173–176.
2. Conley A.J. Review of the reproductive endocrinology of the pregnant and parturient mare // Theriogenology. 2016. Vol. 86 (1). P. 355–365.
3. Чуличкова С.А., Дерхо М.А. Влияние естественных гонадотропинов на обмен веществ в организме коров // Вестник ветеринарии. 2015. № 2 (73). С. 49–53.
4. Чуличкова С.А., Дерхо М.А. Влияние пролактина на белковый обмен в организме коров на ранних сроках стельности // Вестник ветеринарии. 2014. № 70. С. 51–55.
5. Серeda Т.И., Дерхо М.А., Крайнова Н.В. Особенности гормон-метаболических связей в организме коров при лютеиновых кистах // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2017. № 2 (64). С. 105–107.
6. Чуличкова С.А., Дерхо М.А. Лейкоцитарные индексы как индикатор иммунного статуса организма коров на ранних сроках стельности // АПК России. 2016. Т. 75. № 1. С. 42–46.
7. Газиева И.А. Иммунопатогенетические механизмы формирования плацентарной недостаточности и ранних репродуктивных потерь: дис. ... докт. биол. наук. Екатеринбург: ФГБУ УНИИ охраны материнства и младенчества МЗ РФ, 2014. С. 19–21.
8. Репина М.А. Прогестерон и беременность // Акушерство и женские болезни. 2011. Т. LX. Вып. 3. С. 130–136.
9. Довжикова И.В. Кортизол при беременности // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2010. № 6 (76). Ч. 1. С. 226–229.
10. Афанасьева А.И., Огуй В.Г., Галдак С.А. Особенности функциональной активности эндокринных желёз, морфобиохимических параметров крови и уровня молочной продуктивности коров при различной структуре рациона // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2007. № 11. С. 106–110.
11. Сахаутдинова И.В., Ложкина Л.Р. Иммунорегулирующая роль прогестерона в терапии угрозы прерывания беременности // Медицинский вестник Башкортостана. 2014. Т. 9. № 4. С. 96–99.