

## АКУШЕРСТВО І БІОТЕХНОЛОГІЯ ВІДТВОРЕННЯ

УДК 619:618 : 636.2 : 577.1

## Концентрація С-реактивного білка та гаптоглобіну у корів хворих на субклінічний ендометрит

Басараб Т.П.<sup>1</sup> , Стефаник В.Ю.<sup>1</sup> , Івахів М.А.<sup>1</sup> , Ніжанський В.<sup>2</sup> <sup>1</sup> Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького<sup>2</sup> Вроцлавський природничий університет Басараб Т.П. E-mail: basarabtaras@gmail.com

Басараб Т.П., Стефаник В.Ю., Івахів М.А., Ніжанський В. Концентрація С-реактивного білка та гаптоглобіну у корів хворих на субклінічний ендометрит. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2020. № 2. С. 7–13.

Basarab T.P., Stefanyk V.Ju., Ivahiv M.A., Nizhans'kyj V. Koncentracija C-reaktyvnogo bilka ta gaptoglobinu u koriv hvoryh na subklinichnyj endometryt. Naukovyj visnyk veterynarnoi' medycyny, 2020. № 2. PP. 7–13.

Рукопис отримано: 09.12.20.

Прийнято: 21.12.20

Затверджено до друку: 24.11.20.

doi: 10.33245/2310-4902-2020-160-2-7-13

Важливою складовою імунної відповіді організму є білки гострої фази, які синтезуються у гепатоцитах. Основна їхня функція полягає у реакції на запальний процес, травми, інфекції, стрес, неоплазію. Стимулятором синтезу білків гострої фази є прозапальні цитокіни, що активуються на дію патогенних мікроорганізмів. У статті подано результати зміни концентрації С-реактивного білка та гаптоглобіну у корів на субклінічний ендометрит порівняно з здоровими коровами. Дослідження проводили у ННВЦ «Комарнівський» Городоцького району Львівської області на двох групах корів української чорно-рябої молочної породи віком від 4 до 7 років. Контрольна група включала двадцять (n=20) клінічно здорових корів. До експериментальної групи входило двадцять (n=20) корів із субклінічним ендометритом. Згідно з отриманими результатами констатуємо, що у хворих на субклінічний ендометрит корів концентрація С-реактивного білка та гаптоглобіну вірогідно зростала (P < 0,001) порівняно з контрольною групою. Дослідження показує, що визначення С-реактивного білка та гаптоглобіну може бути важливим діагностичним маркером за постановки діагнозу на субклінічний ендометрит у корів.

**Ключові слова:** білки гострої фази, С-реактивний білок, гаптоглобін, субклінічний ендометрит, корова, матка.

**Постановка проблеми.** Сучасна стратегія та тенденції розвитку молочного скотарства в Україні спрямовані на забезпечення потреби внутрішнього і зовнішнього ринку високоякісними продуктами цієї галузі, що забезпечується інтенсифікацією і розширенням відтворення стада та багатьма іншими елементами у технологічному ланцюгу [1].

Значних економічних збитків господарства зазнають від неплідності корів і телиць. Правильне розуміння неплідності і знання суті причин, що її зумовлюють, дозволяють намітити конкретні шляхи підвищення продуктивності корів. Успішно подолати неплідність та забезпечувати її профілактику можна, лише знаючи причини і застосовуючи залежно від

конкретних умов комплекс організаційних, зоотехнічних та ветеринарних заходів [2].

Важливим етапом у репродуктивному циклі є фізіологічний перебіг післяродового періоду, що має в подальшому визначальний вплив на майбутню продуктивність тварини [3]. Встановлення оптимального часу осіменіння, кваліфіковане штучне осіменіння, якість сперми та сприятливе середовище матки є важливими елементами для ефективності відтворення стада [4]. Тому оптимізація та підтримка репродуктивної ефективності стада є актуальною проблемою для молочних господарств [5, 6].

Однією з причин, які призводять до неплідності корів, є патологія матки, тому ця проблема привертає значну увагу у спеціаліс-

тів ветеринарної медицини [5, 6]. Відомо, що проникнення мікроорганізмів в порожнину матки у післяродовий період зустрічається у більшості корів. Зазвичай імунна відповідь матки може самостійно подолати ріст та розмноження патогенів [4]. Проте, близько у 40 % корів розвивається післяродовий клінічний ендометрит, з характерними вагінальними виділеннями, підвищенням температури тіла тварини, зниженням молоковіддачі та токсикозом у важких випадках. Сприяючими чинниками, що зумовлюють розвиток метриту є патологічні роди, зокрема, патології третьої стадії – затримання посліду, народження двійнят та мертворождалих плодів [7, 8]. Ускладнена діагностика стану матки полягає в тому, що за фізіологічного перебігу післяродового періоду складно диференціювати запальні процеси від процесу інволюції [5].

**Аналіз останніх досліджень.** Як відомо, субклінічний ендометрит – це запальний процес ендометрію матки без помітних виділень секрету з порожнини матки [9]. Перебіг цього запального процесу у порівнянні з іншими типами запалення матки, діагностується пізно через відсутність помітних клінічних симптомів [10]. Інфекція матки негативно впливає на продуктивність корів. Це у свою чергу збільшує затрати на одне осіменіння, сервіс-період, знижує відсоток запліднених корів, що у кінцевому результаті призводить до значних економічних збитків [11–13].

Слід зазначити, що мікроорганізми, які знаходяться в матці, сприяють виникненню несприятливого середовища, порушенню гормонального балансу, що призводить до неповноцінних статевих циклів [6, 9, 13–16]. Мікробне обсіменіння матки після родів відбувається умовно-патогенними бактеріями *Escherichia coli*, *Trueperella pyogenes*, анаеробами *Prevotella sp.*, *Fusobacterium necrophorum*, *Fusobacterium nucleatum*. *E. Coli* та специфічний для ендометрію штам *E. coli* (EnPEC) вважається первинним збудником, що інфікує репродуктивний тракт. EnPEC володіє підвищеною здатністю до адгезії, ніж інші штами. Більш затяжні та важкі запальні процеси у матці пов'язані з *Trueperella pyogenes*. Токсини, що виділяють мікроорганізми, впливають на гіпоталамо-гіпофізарну систему, затримують ріст і розвиток фолікулів, овуляцію, подовжуючи лютеальну фазу [7, 17–21].

Білки гострої фази – складові крові, що синтезуються гепатоцитами, функція яких полягає у захисті організму як частини імунної відповіді на запальний процес, травми, інфекції, стрес, неоплазію. Вони запускають

складну системну реакцію з метою відновлення гомеостазу та одужання організму [22–24]. Прозапальні цитокіни, що посилюють свою активність у відповідь на дію патогенних мікроорганізмів, є потужними стимуляторами для синтезу білків гострої фази, які можуть бути важливим діагностичним показником субклінічного ендометриту у молочних корів [10].

Літературні дані підтверджують, що концентрація білків гострої фази у сироватці крові та у змивах з матки була вищою у корів з субклінічним ендометритом, ніж у здорових. На думку дослідників [10], це може бути важливим для визначення поточного стану імунітету матки, одним з основних маркерів інфекції та оцінки відновлення організму після лікування. Також встановлено, що бактеріальна інфекція матки частково залежить від рівня статевих гормонів. Прогестерон пригнічує імунний захист матки, послаблює скорочення міометрію та фагоцитарну активність нейтрофілів матки. В свою чергу, простагландини та естрогени посилюють імунну функцію матки. Слід зазначити, що за гормонального дисбалансу, спостерігають порушення статевого циклу [6, 9]. Обмінні процеси, клітинні та гуморальні механізми локального імунітету відіграють важливу роль у імунній системі щодо захисту від інфекцій [7, 10].

Отже, метою роботи було вивчити зміну концентрації С-реактивного білка та гаптоглобіну за субклінічного ендометриту у корів.

**Матеріал і методи дослідження.** Дослідження проводили у ННВЦ "Комарнівський" Городоцького району Львівської області, на двох групах корів української чорно-рябої молочної породи віком від 4 до 7 років. Діагноз був поставлений на основі цитологічного дослідження ендометрію [9, 12]. На основі цього тесту, корови були розділені на дві групи. Контрольна група (К) включала двадцять (n = 20) клінічно здорових корів. До дослідної (Д) групи входило двадцять (n = 20) корів із субклінічним ендометритом. Корови, що мали ознаки іншої патології, були виключені з дослідження.

Зразки для цитологічного дослідження відбирали за допомогою цитологічної щітки, ендоскопу EG-530 NW (Fujifilm, Японія) діаметром 5,9 мм, робочою довжиною 1100 мм та процесором EPX-2500 (Fujifilm, Японія). Матеріал поміщали на предметне скло шляхом колових рухів цитологічної щітки, фіксували та фарбували за допомогою набору реагентів LEUCODIFF 200 (Erba Lachema s.r.o., Чехія). Цитологічну оцінку оцінювали під мікроскопом Leica DM500 (Leica Microsystems, Німеччина), при збільшенні 400x.

Кров забирали з яремної вени на 60 добу після родів. Зразки центрифугували протягом 10 хв за 2500 обертів на хвилину. Отриману сироватку зберігали за  $-80^{\circ}\text{C}$  до аналізу.

Концентрацію С-реактивного білка визначали за допомогою набору ELISA, що постає компанія Life Diagnostics Inc. (West Chester, США). Аналіз заснований на твердофазному сандвіч-методі ІФА, що містить первинні антибічачі антитіла до С-реактивного білка, іммобілізовані в лунках полістиролового мікропланшету та вторинні бічачі антитіла до С-реактивного білка зв'язані з пероксидазою хрому. Концентрацію гаптоглобіну визначали, використовуючи тест з гваяколом відповідно до Джонс і Молд [25].

Значення виражені як М (середнє арифметичне)  $\pm$ SD (стандартне відхилення). Статистичну обробку даних проводили за допомогою SPSS (IBM, США). У випадках, коли тест Шапіро-Уїлка вказав на нормальний розподіл даних, вірогідність показників оцінювали за t-критерієм Стьюдента. За ненормального розподілу використовували критерій Манна-Уїтні. Статистично значущими вважали відмінності за  $P < 0,05$ .

**Результати дослідження.** Згідно з отриманими результатами досліджень (рис. 1) у сироватці крові корів контрольної групи концентрація С-реактивного білка становила  $11,25 \pm 1,07$  мкг/мл. У корів за субклінічного ендометриту спостерігали вірогідне зростання концентрації С-реактивного білка до  $72,57 \pm 18,11$  мкг/мл ( $P < 0,01$ ).

Концентрація гаптоглобіну (рис. 2) у сироватці крові корів контрольної групи становила

$22,5 \pm 5,50$  мг/л. У корів, в яких діагностували субклінічний ендометрит, концентрація вірогідно зростала до  $771,5 \pm 122,66$  мг/л ( $P < 0,01$ ).

**Обговорення.** Наявність бактерій у матці спостерігають у більшості корів після родів. До 21-ї доби після родів значна частина інфекційних агентів пригнічується імунною реакцією матки [26]. Корови молочних порід зазнають зміни в обміні речовин під час вагітності та у післяродовий період, що відіграє значну роль у розвитку ендометриту [27]. Прозапальні цитокіни (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ) є потужними стимуляторами синтезу білків гострої фази в печінці. Їх функція полягає у ліквідації інфекції, посиленні фагоцитозу та захисті органів від пошкодження під час запальної реакції [10, 28, 29].

С-реактивний білок може діяти як опсонін, тобто, шляхом зв'язування з чужорідними мікроорганізмами, що робить їх більш сприйнятливими до фагоцитозу. Основними запальними маркерами у корів вважається гаптоглобін та білок сироваткового амیلлоїду А. Взаємозв'язок між концентрацією С-реактивного білка та ендометритом у корів є маловивченим [23].

Результати наших досліджень показали найвищу концентрацію С-реактивного білка у тварин із субклінічним ендометритом, як відповідь на запальний процес та дію мікроорганізмів. Отримані нами дані співпадають з результатами попередніх досліджень [30, 31], у яких максимальну концентрацію С-реактивного білка теж спостерігали у корів із запальним процесом (гострий, хронічний мастит, метрит, ендометрит та ін.). За результатами досліджень [32],

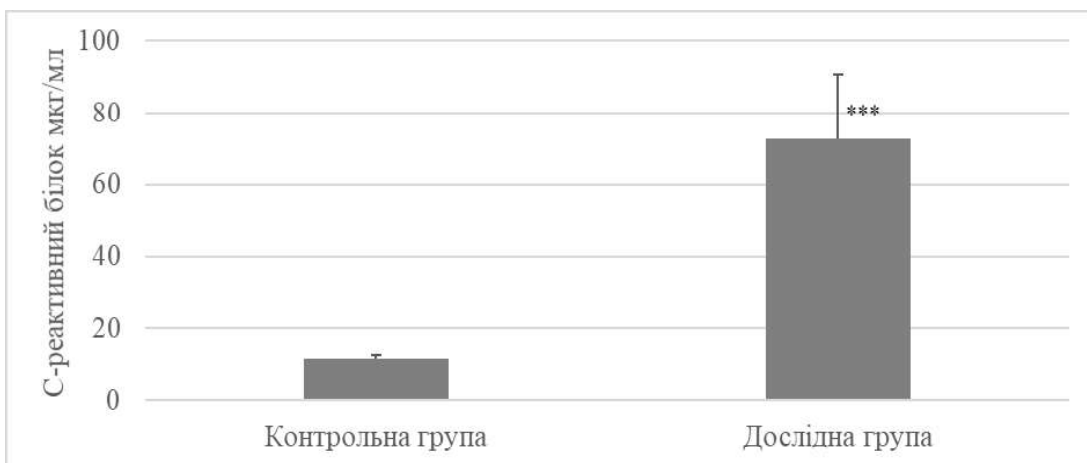


Рис. 1. Концентрація С-реактивного білка у сироватці крові здорових корів (К) та за ендометриту (Д) ( $M \pm SD$ ,  $n=20$ ).

**Примітки:** ступінь вірогідності порівняно з контрольною (К) групою \*\*\* -  $P < 0,001$ .

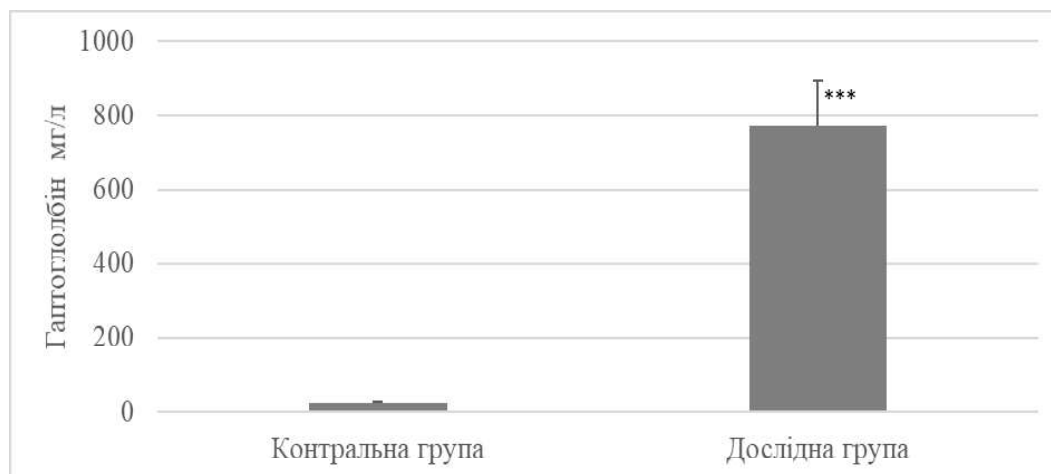


Рис. 2. Концентрація гаптоглобіну у сироватці крові здорових корів (К) та за ендометриту (Д) ( $M \pm SD$ ,  $n=20$ ).

**Примітки:** ступінь вірогідності порівняно з контрольною (К) групою  
\*\*\* -  $P < 0,001$ .

високу концентрацію С-реактивного білка також спостерігали у корів протягом першого місяця після родів, у період впливу мікроорганізмів на матку.

Гаптоглобін є основним білком гострої фази у різних видів тварин [27, 33]. Цей білок знижує окисне пошкодження пов'язане з гемолізом шляхом зв'язування вільного гемоглобіну. Крім того, гаптоглобін володіє бактеріостатичним та імуномодулюючим ефектом [23]. Згідно з опублікованими дослідженнями [24], встановлено високу концентрацію гаптоглобіну у корів хворих на ендометрит. Зростання концентрації гаптоглобіну у корів із субклінічним ендометритом пов'язують із посиленням синтезу цитокінів у відповідь на дію мікроорганізмів [10]. У кількох дослідженнях [32, 34], спостерігали зростання гаптоглобіну у корів

протягом післяродового періоду, що пояснюють реакцією на обсіменіння мікроорганізмами в процесі інволюції. Слід зазначити, що в нашому дослідженні найвищі концентрації гаптоглобіну та С-реактивного білка спостерігали одночасно за субклінічного ендометриту. У раніше опублікованих дослідженнях [32], вказують на кореляцію ( $R^2=0.32$ ) цих білків гострої фази.

**Висновки.** Отримані дані свідчать, що у хворих на субклінічний ендометрит корів С-реактивний білок та гаптоглобін вірогідно ( $P < 0,001$ ) зростали. Визначення концентрації цих показників може бути важливим діагностичним чинником субклінічного запального процесу у матці корів. У перспективі подальших досліджень потрібно дослідити зміну експресії IL та TNF-а залежно від стану матки.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Заходим М. В. Сучасний стан і тенденції розвитку молочного скотарства в Україні. Інноваційна економіка. 2016. № 1–2. С. 53–59.
2. Стравський Я. С., Стефанік В. Ю., Костишин Є. Є. Етіологія, патогенез, діагностика та методи лікування корів, хворих на метрит. Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин і Державного науково-дослідного контрольного інституту ветпрепаратів та кормових добавок. 2015. № 1. С. 257–264.
3. Hussain A. M. Bovine uterine defense mechanisms: a review. J. Vet. Med. B. 1989. Vol. 36. P. 641–651. Doi:https://doi.org/10.1111/j.1439-0450.1989.tb00657.x
4. The effect of a single administration of cephalixin or cloprostenol on the reproductive performance of dairy cows with subclinical endometritis/ R. Kasimanickama et al. Theriogenology. 2005. Vol. 63. P. 818–830. Doi: https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.05.002
5. Barlund C.S., Carruthers T.D., Waldner C.L., Palmer C.W. A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. Theriogenology. 2008. 69. P. 714–723. Doi:https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.12.005
6. LeBlanc S. Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: A review. The Veterinary Journal. 2008. 176. P. 102–114. Doi:https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.019
7. Physiology and endocrinology symposium: Uterine infection: Linking infection and innate immunity with infertility in the high-producing dairy cow/ J.J. Bromfield et al. J. Anim. Sci. 2015. 93. P. 2021–2033. Doi:https://doi.org/10.2527/jas.2014-8496
8. Metritis in dairy cows: Risk factors and reproductive performance/ M.J. Giuliodori et al. J. Dairy Sci. 2013. 96. P. 3621–3631. Doi:https://doi.org/10.3168/jds.2012-5922

9. Sheldon I.M., Lewis G. S., LeBlanc S., Gilbert R.O. Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*. 2006. 65. P. 1516–1530. Doi:<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.08.021>
10. Brodzki P., Kostro K., Krakowski L., Marczuk J. Inflammatory cytokine and acute phase protein concentrations in the peripheral blood and uterine washings of cows with subclinical endometritis in the late postpartum period. *Vet Res Commun*. 2015. 39. P. 143–149. Doi:<https://doi.org/10.1007/s11259-015-9635-4>
11. Fourichon C., Seegers H., Malher X. Effect of disease on reproduction in the dairy cow: a meta-analysis. *Theriogenology*. 2000. 53. P. 1729–1759. Doi:[https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(00\)00311-3](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(00)00311-3)
12. Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows/ R. Kasimanickama et al. *Theriogenology*. 2004. 62. P. 9–23. Doi:<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2003.03.001>
13. Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows/ S. LeBlanc et al. *J Dairy Sci*. 2002. 85. P. 2223–2236. Doi:[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74302-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74302-6)
14. Subcutaneous immunization with inactivated bacterial components and purified protein of *Escherichia coli*, *Fusobacterium necrophorum* and *Trueperella pyogenes* prevents puerperal metritis in Holstein dairy cows/ V.S. Machado et al. *PLoS One*. 2014. 9. P. 917–934. Doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091734>
15. Sahoo S., Mohanty D.N., Das S., Padhy A. Effect of uterine immunomodulation on hematobiochemical parameters in cyclic non-breeding cows. *Veterinary World*. 2014. 7. P. 816–820. Doi:<https://doi.org/10.14202/vetworld.2014.816-820>
16. Dynamics of uterine infections with *Escherichia coli*, *Streptococcus uberis* and *Trueperella pyogenes* in post-partum dairy cows and their association with clinical endometritis/ K. Wagener et al. *The Veterinary Journal*. 2014. 202. P. 527–532. Doi:<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.08.023>
17. Draft Genome Sequence of *Escherichia coli* MS499, Isolated from the Infected Uterus of a Postpartum Cow with Metritis/ R.J. Goldstone et al. *Genome Announcements*. 2014. 2. e00217-14. Doi:<https://doi.org/10.1128/genomeA.00217-14>
18. Haziak K., Herman A.P., Tomaszewska-Zaremba D. Effects of central injection of anti-LPS antibody and blockade of TLR4 on GnRH/LH secretion during immunological stress in anestrus ewes. *Mediators of inflammation*. 2014. P. 1–10. Doi:<https://doi.org/10.1155/2014/867170>
19. Exposure to endotoxin during estrus alters the timing of ovulation and hormonal concentrations in cows/ Y. Lavon et al. *Theriogenology*. 2008. 70. P. 956–967. Doi:<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.05.058>
20. Dynamics of bacteriologic and cytologic changes in the uterus of postpartum dairy cows/ I. Prunner et al. *Theriogenology*. 2014. 82. P. 1316–1322. Doi:<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.08.018>
21. Suzuki C., Yoshioka K., Iwamura S., Hirose H. Endotoxin induces delayed ovulation following endocrine aberration during the proestrus phase in Holstein heifers. *Domestic animal endocrinology*. 2001. 20. P. 267–278. Doi:[https://doi.org/10.1016/S0739-7240\(01\)00098-4](https://doi.org/10.1016/S0739-7240(01)00098-4)
22. Serum amyloid A and haptoglobin levels in crossbred cows with endometritis following different therapy/ S.S. Biswal et al. *Veterinary World*. 2014. 7. P. 1066–1070. Doi:<https://doi.org/10.14202/vetworld.2014.1066-1070>
23. Cray C., Zaias J., Altman N.H. Acute Phase Response in Animals: A Review. *Comparative Medicine*. 2009. 59. P. 517–526.
24. Determination of ceruloplasmin, some other acute phase proteins, and biochemical parameters in cows with endometritis/ S. Kaya et al. *Veterinary World*. 2016. 9. P. 1056–1062.
25. Jones G.E., Mould D.L. Adapted of the guaiacol (peroxidase) test for haptoglobins to a microtitration plate system. *Res Vet Sci*. 1984. 37. P. 87–92. PMID: 6089287
26. Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle/ I.M. Sheldon et al. *Biology of reproduction*. 2009. 81. P. 1025–1032. Doi:<https://doi.org/10.1095/biolreprod.109.077370>
27. Acute phase protein concentration and metabolic status affect the outcome of treatment in cows with clinical and subclinical endometritis/ M. Heidarpour et al. *The Veterinary record*. 2012. 171. 219 p. Doi:<https://doi.org/10.1136/vr.100947>
28. Acute phase proteins and variables of protein metabolism in dairy cows during the pre- and postpartum period/ C.S. Tothova et al. *Acta Vet Brno*. 2008. 77. P. 51–55. Doi:<https://doi.org/10.2754/avb200877010051>
29. Turner M.L., Healey G.D., Sheldon I.M. Immunity and inflammation in the uterus. *Reproduction in Domestic Animals*. 2012. 47. P. 402–409. Doi:<https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2012.02104.x>
30. Serum C-reactive protein in dairy herds/ W.C. Lee et al. *The Canadian Journal of Veterinary Research*. 2003. 67. P. 102–107. PMC227036
31. Власенко С. А., Рубленко М. В. Продукція оксиду азоту та білків гострої фази за гестаційного процесу, метригу і ортопедичної патології у корів. *Біологія тварин*. 2012. 14. С. 361–369.
32. Evaluation of acute phase proteins in clinically healthy dairy cows in perinatal period and during lactation/ B. Dębski et al. *Polish Journal of Veterinary Sciences*. 2016. 19. P. 519–523. Doi:<https://doi.org/10.1515/pjvs-2016-0065>
33. Murata H., Shimada N., Yoshioka M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *Veterinary Journal*. 2004. 168. P. 28–40. Doi:[https://doi.org/10.1016/S1090-0233\(03\)00119-9](https://doi.org/10.1016/S1090-0233(03)00119-9)
34. Sheldon I.M., Noakes D.E., Rycroft A., Dobson H. Acute phase protein responses to uterine bacterial contamination in cattle after calving. *Veterinary Record*. 2001. 148. P. 172–175. Doi:<https://doi.org/10.1136/vr.148.6.172>

## REFERENCES

1. Zahodym, M. V. (2016). Suchasnyj stan i tendencii' rozvytku molochnoho skotarstva v Ukraini [Current state and trends in the development of dairy farming in Ukraine]. *Innovacijna ekonomika [Innovative economy]*. no. 1-2. pp. 53–59.
2. Stravs'kyj, Ya.S., Stefanyk, V.Yu., Kostyshyn, Je. Je. (2015). Etiologija, patogenez, diagnostyka ta metody likuvannja koriv, hvoryh na metryt [Etiology, pathogenesis, diagnosis and treatment of cows with metritis]. *Naukovotekhnichnyj bjuletyn' Instytutu biologii' tvaryn i Derzhavnogo naukovo-doslidnogo kontrol'nogo instytutu vetpreparativ ta kormovyh dobavok [Scientific and technical bulletin of the Institute of Animal Biology and the State Research Control Institute of Veterinary Drugs and Feed Additives]*. no. 1, pp. 257–264.

3. Hussain, A. M. (1989). Bovine uterine defense mechanisms: a review. *J. Vet. Med. B.* Vol. 36, P. 641–651. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0450.1989.tb00657.x>
4. Kasimanickama, R., Duffielda, T.F., Fosterb, R.A., Gartleya, C.J., Leslic, K.E., Waltonc, J.S., Johnsona, W.H. (2005). The effect of a single administration of cephalixin or cloprostenol on the reproductive performance of dairy cows with subclinical endometritis. *Theriogenology*. Vol. 63, pp. 818–830. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.05.002>
5. Barlund, C.S., Carruthers, T.D., Waldner, C.L., Palmer, C.W. (2008). A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. *Theriogenology*. 69, pp. 714–723. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.12.005>
6. LeBlanc, S. (2008). Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: A review. *The Veterinary Journal*. 176, pp. 102–114. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.019>
7. Bromfield, J.J., P Santos, J.E., Block, J., Williams, R.S., Sheldon, I.M. (2015). Physiology and endocrinology symposium: Uterine infection: Linking infection and innate immunity with infertility in the high-producing dairy cow. *J. Anim. Sci.* 93, pp. 2021–2033. Available at: <https://doi.org/10.2527/jas.2014-8496>
8. Giuliodori, M.J., Magnasco, R.P., Becu-Villalobos, D., Lacau-Mengido, I.M., Risco, C.A., Sota, R. L. (2013). Metritis in dairy cows: Risk factors and reproductive performance. *J. Dairy Sci.* 96, pp. 3621–3631. Available at: <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5922>
9. Sheldon, I.M., Lewis, G. S., LeBlanc, S., Gilbert, R.O. (2006). Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*. 65, pp. 1516–1530. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.08.021>
10. Brodzki, P., Kostro, K., Krakowski, L., Marczuk, J. (2015). Inflammatory cytokine and acute phase protein concentrations in the peripheral blood and uterine washings of cows with subclinical endometritis in the late postpartum period. *Vet Res Commun.* 39, pp. 143–149. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11259-015-9635-4>
11. Fourichon, C., Seegers, H., Malher, X. (2000). Effect of disease on reproduction in the dairy cow: a meta-analysis. *Theriogenology*. 53, pp. 1729–1759. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(00\)00311-3](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(00)00311-3)
12. Kasimanickama, R., Duffielda, T.F., Fosterb, R.A., Gartleya, C.J., Leslic, K.E., Waltonc, J.S., Johnsona, W.H. (2004). Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology*. 62, pp. 9–23. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2003.03.001>
13. LeBlanc, S., Duffield, T.F., Leslie, K.E., Bateman, K.G., Keefe, G.P., Walton, J.S., Johnson, W.H. (2002). Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *J Dairy Sci.* 85, pp. 2223–2236. Available at: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74302-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74302-6)
14. Machado, V.S., Bicalho, M.L. Luccas de Souza, Bicalho, E.B., Brandaño de Souza, Meira, Rossi, R., Ribeiro, B.L., Lima, S., Santos, T., Kussler, A., Foditsch, C., Ganda, E.K., Oikonomou, G., Cheong, S.H., Gilbert, R.O., Bicalho, R.C. (2014). Subcutaneous immunization with inactivated bacterial components and purified protein of *Escherichia coli*, *Fusobacterium necrophorum* and *Trueperella pyogenes* prevents puerperal metritis in Holstein dairy cows. *PLoS One*. 9, pp. 917–934. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091734>
15. Sahoo, S., Mohanty, D.N., Das, S., Padhy, A. (2014). Effect of uterine immunomodulation on hematobiochemical parameters in cyclic non-breeding cows. *Veterinary World*. 7, pp. 816–820. Available at: <https://doi.org/10.14202/vetworld.2014.816-820>
16. Wagener, K., Grunert, T., Prunner, I., Ehling-Schulz, M., Drillich, M. (2014). Dynamics of uterine infections with *Escherichia coli*, *Streptococcus uberis* and *Trueperella pyogenes* in post-partum dairy cows and their association with clinical endometritis. *The Veterinary Journal*. 202, pp. 527–532. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.08.023>
17. Goldstone, R.J., Talbot, R., Schubert, H.J., Sandra, O., Sheldon, I.M., Smith, D. (2014). Draft Genome Sequence of *Escherichia coli* MS499, Isolated from the Infected Uterus of a Postpartum Cow with Metritis. *Genome Announcements*. 2. e00217-14. Available at: <https://doi.org/10.1128/genomeA.00217-14>
18. Haziak, K., Herman, A.P., Tomaszewska-Zaremba, D. (2014). Effects of central injection of anti-LPS antibody and blockade of TLR4 on GnRH/LH secretion during immunological stress in anestrous ewes. *Mediators of Inflammation*. pp. 1–10. Available at: <https://doi.org/10.1155/2014/867170>
19. Lavon, Y., Leitner, G., Goshen, T., Braw-Tal, R., Jacoby, S., Wolfenson, D. (2008). Exposure to endotoxin during estrus alters the timing of ovulation and hormonal concentrations in cows. *Theriogenology*. 70, pp. 956–967. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.05.058>
20. Prunner, I., Pothmann, H., Wagener, K., Giuliodori, M., Huber, J., Ehling-Schulz, M., Drillich, M. (2014). Dynamics of bacteriologic and cytologic changes in the uterus of postpartum dairy cows. *Theriogenology*. 82, pp. 1316–1322. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.08.018>
21. Suzuki, C., Yoshioka, K., Iwamura, S., Hirose, H. (2001). Endotoxin induces delayed ovulation following endocrine aberration during the proestrous phase in Holstein heifers. *Domestic animal endocrinology*. 20, pp. 267–278. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0739-7240\(01\)00098-4](https://doi.org/10.1016/S0739-7240(01)00098-4)
22. Biswal, S.S., Das, S., Balasubramanian, S., Mohanty, D.N., Sethy, K., Dasgupta, M. (2014). Serum amyloid A and haptoglobin levels in crossbred cows with endometritis following different therapy. *Veterinary World*. 7, pp. 1066–1070. Available at: <https://doi.org/10.14202/vetworld.2014.1066-1070>
23. Cray, C., Zaias, J., Altman, N.H. (2009). Acute Phase Response in Animals: A Review. *Comparative Medicine*. 59, pp. 517–526.
24. Kaya, S., Merhan, O., Kacar, C., Colak, A., Bozukluhan, K. (2016). Determination of ceruloplasmin, some other acute phase proteins, and biochemical parameters in cows with endometritis. *Veterinary World*. 9, pp. 1056–1062.
25. Jones, G.E., Mould, D.L. (1984). Adapted of the guaiacol (peroxidase) test for haptoglobins to a microtitration plate system. *Res Vet Sci*. 37, pp. 87–92. PMID: 6089287
26. Sheldon, I.M., Cronin, J., Goetze, L., Donofrio, G., Schubert, H.J. (2009). Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. *Biology of reproduction*. 81, pp. 1025–1032. Available at: <https://doi.org/10.1095/biolreprod.109.077370>
27. Heidarpour, M., Mohri, M., Fallah-Rad, A.H., Shahreza, D.F., Mohammadi, M. (2012). Acute phase protein concentration and metabolic status affect the outcome of treatment in cows with clinical and subclinical endometritis. *The Veterinary record*. 171, 219 p. Available at: <https://doi.org/10.1136/vr.100947>
28. Tothova, C.S., Nagy, O., Seidel, H., Konvicna, J., Farkasova, Z., Kovac, G. (2008). Acute phase proteins and

variables of protein metabolism in dairy cows during the pre- and postpartum period. *Acta Vet Brno*. 77, pp. 51–55. Available at: <https://doi.org/10.2754/avb200877010051>

29. Turner, M.L., Healey, G.D., Sheldon, I.M. (2012). Immunity and inflammation in the uterus. *Reproduction in Domestic Animals*. 47, pp. 402–409. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2012.02104.x>

30. Lee, W.C., Hsiao, H.C., Wu, Y.L., Lin, J.H., Lee, Y.P., Fung, H.P., Chen, Y.Y., Chen, Y.H., Chu, R.M. (2003). Serum C-reactive protein in dairy herds. *The Canadian Journal of Veterinary Research*. 67, pp. 102–107. PMC227036

31. Vlasenko, S. A., Rublenko, M. V. (2012). Produkciya oksydu azotu ta bilkiv gostroi' fazy za gestacijnoho procesu, metrytu i ortopedychnoi' patologii' u koriv [Production of nitric oxide and acute phase proteins during gestation, metritis and orthopedic pathology in cows]. *Biologija tvaryn [Animal biology]*. 14, pp. 361–369.

32. Dębski, B., Nowicki, T., Zalewski, W., Ochota, M., Mrowiec, J., Twardoń, J. (2016). Evaluation of acute phase proteins in clinically healthy dairy cows in perinatal period and during lactation. *Polish Journal of Veterinary Sciences*. 19, pp. 519–523. Available at: <https://doi.org/10.1515/pjvs-2016-0065>

33. Murata, H., Shimada, N., Yoshioka, M. (2004). Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *Veterinary Journal*. 168, pp. 28–40. Available at: [https://doi.org/10.1016/S1090-0233\(03\)00119-9](https://doi.org/10.1016/S1090-0233(03)00119-9)

34. Sheldon, I. M., Noakes, D. E., Rycroft, A., Dobson, H. (2001). Acute phase protein responses to uterine bacterial contamination in cattle after calving. *Veterinary Record*. 148, pp. 172–175. Available at: <https://doi.org/10.1136/vr.148.6.172>

#### Концентрация С-реактивного белка и гаптоглобина у коров больных субклиническим эндометритом Басараб Т.П., Стефаник В.Ю., Ивахив М.А., Ніжанський В.

Важной составляющей иммунного ответа организма являются белки острой фазы которые синтезируются в гепатоцитах. Основная их функция заключается в реакции на воспалительный процесс, травмы, инфекции, стресс, неоплазию. Стимулятором синтеза белков острой фазы является провоспалительные цитокины, которые активируются в действие патогенных микроорганизмов. В статье представлены результаты изменения концентрации С-реактивного белка и гаптоглобина у коров на субклинический эндометрит сравнению со здоровыми коровами. Исследование проводилось в хозяйстве «КОМАРНОВСКОЕ» Городокского района, Львовской области, на двух группах коров украинской черно-белой молочной породы в возрасте от 4 до 7 лет. Контрольная группа включала двадцать (n=20) клинически здоровых коров. К экспериментальной группы входило двадцать (n=20) коров с субклиническим

эндометритом. Согласно полученных результатов констатируем, что у больных субклинический эндометрит коров концентрация С-реактивного белка и гаптоглобина достоверно возрастала ( $P < 0,001$ ) по сравнению с контрольной группой. Исследование показывает, что определение С-реактивного белка и гаптоглобина может быть важным диагностическим маркером при постановке диагноза на субклинический эндометрит у коров.

**Ключевые слова:** белки острой фазы, С-реактивный белок, гаптоглобин, субклинический эндометрит, корова, матка.

#### Concentration of C-reactive protein and haptoglobin in cows with subclinical endometritis

Basarab T., Stefanyk V., Ivakhiv M., Nizański W.

Acute phase proteins are blood components synthesized by hepatocytes, basic function of which is to defend the organism as part of the immune response to inflammation, trauma, infection, stress, neoplasia. They trigger a complex systemic reaction in order to restore homeostasis recovery of the organism. Proinflammatory cytokines increase their activity in response to the effect of pathogenic microorganisms which are intense stimulants to the production of acute phase proteins. It is known that postpartum uterine contamination is common among many cows. Normally, infections and inflammations are eliminated by the immune response of the uterus. However, about 40% of dairy cattle develop clinical metritis. The aim of this study was to determine changes of C-reactive protein and haptoglobin concentration in healthy cows and with subclinical endometritis. The study was conducted at NNVTS "Komarnivskyy" Horodok district, Lviv region. Two groups of cows of Ukrainian black-and-white dairy breed, aged from 4 to 7 years old, were investigated. The control group included twenty ( $n = 20$ ) clinically healthy cows. Experimental group included twenty ( $n = 20$ ) cows with subclinical endometritis. It was found that in the blood serum of healthy cows C-reactive protein concentration was  $11,25 \pm 1,07 \mu\text{g/ml}$ . Significant increase ( $P < 0,001$ ) of C-reactive protein concentration in cows with subclinical endometritis ( $72,57 \pm 18,11 \mu\text{g/ml}$ ) was observed. In the blood serum of healthy cows haptoglobin concentration was  $22,5 \pm 5,50 \text{ mg/l}$ . Significant increase ( $P < 0,001$ ) of haptoglobin concentration in cows with subclinical endometritis ( $771,5 \pm 122,66 \text{ mg/l}$ ) was observed. The presented study shows that in cows with subclinical endometritis, increase of C-reactive protein and haptoglobin was observed. Determination of concentration of these proteins can be an informative indicator of subclinical inflammatory process in the uterus of cows. In future research it is important to determine change of IL and TNF- $\alpha$  expression depending on the condition of the uterus.

**Key words:** acute phase proteins, C-reactive protein, haptoglobin, subclinical endometritis, dairy cattle, uterus.



Copyright: © Басараб Т.П. та ін. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



Басараб Т.П.

ID <https://orcid.org/0000-0003-1200-2073>

Стефаник В.Ю.

ID <https://orcid.org/0000-0003-2349-4763>

Ивахів М.А.

ID <https://orcid.org/0000-0002-9825-5647>

Ніжанський В.

ID <https://orcid.org/0000-0003-1056-0784>