



2024. Номер 10, С 110 – 126

Отримано: 23.09.2024 Прийнято: 17.10.2024 Опубліковано: 26.10.2024

DOI: 10.31890/vttp.2024.10.10

UDC 619:612.017.11/.12:636.22/.28

## SURVEY OF CELLULAR MECHANISMS OF NONSPECIFIC IMMUNITY IN NEWBORN CALVES WITH HYPOTROPHY

**V.M. Mogilyovsky, O.P. Tymoshenko, Yu.V. Sobakar**

*State Biotechnological University, Kharkiv, Ukraine,*

*E-mail: [vadymther@gmail.com](mailto:vadymther@gmail.com)*

**Annotation.** The own immune defense in newborn calves is represented mainly by phagocytosis and lymphocytic reactions. The aim of the study was to investigate the cellular mechanisms of nonspecific immunity in hypotrophic calves. The material of the study was blood cells of newborn calves with hypotrophy (experimental). The results were compared with those of physiologically developed calves (control). The study was conducted using unified hematological, immunological and cytochemical methods. Hypotrophy was diagnosed by clinical and morphological signs. The content of WBCs, phagocytic reaction of neutrophils, myeloperoxidase, neutrophil cationic proteins and their general bactericidal activity (NBT) were determined. The results obtained in calves with hypotrophy were compared with similar data in healthy calves. Hypotrophics had more ( $p<0.05$ ) banded neutrophils (%) on day 1 – by 27.7; day 3 – by 31.2, day 6 – by 22.0 and day 9 – by 25.6, as well as segmented neutrophils, on day 1 – by 26.1 and on day 6 – by 69.6. The number of phagocytic neutrophils in hypotrophics was lower ( $p<0.05$ ), on day 1 – by 55.7; day 3 – by 58.2; day 6 – by 66.2; day 9 – by 67.5 and day 12 – by 40.3%. The maximum decrease in myeloperoxidase activity in hypotrophics was found on day 3 - by 40 % ( $p<0.05$ ). The content of cationic proteins in both groups of calves was lower than the norms, and in hypotrophics it was lower ( $p<0.05$ ) than in the control, respectively, on day 6 - by 33.3; on day 9 - by 57.1 and on day 12 - by 40 %. The values of the unstimulated NBT were significantly lower ( $p<0.05$ ) on day 6 – by 35.9 and on day 9 – by 24.3 %. The minimal decrease was found on day 6 –  $7.3\pm 0.5$  units, and on day 12 the index exceeded the relevant value in control animals by 30.9% ( $p<0.05$ ). Indicators of the stimulated NBT in hypotrophics were lower ( $p<0.05$ ) on day 3 – by 34.7; on day 6 – by 48.1; on day 9 – by 49.8 and on day 12 – by 36 %.

Thus, the nonspecific resistance of hypotrophic calves is characterised by a decrease in the basic enzymatic activity of neutrophils and their stimulation reserves.

**Key words:** *resistance, neutrophil, phagocytosis, myeloperoxidase, cationic proteins, NBT-test.*

## ДОСЛІДЖЕННЯ КЛІТИННИХ МЕХАНІЗМІВ НЕСПЕЦИФІЧНОГО ІМУНІТЕТУ В НОВОНАРОДЖЕНИХ ТЕЛЯТ ЗА ГІПОТРОФІЇ

**В.М. Могільовський, О.П. Тимошенко, Ю.В. Собакар**  
Державний біотехнологічний університет, м. Харків, Україна,  
E-mail: [vadymther@gmail.com](mailto:vadymther@gmail.com)

**Анотація.** Метою дослідження було визначення стану клітинних механізмів неспецифічного імунітету в телят-гіпотрофіків. Матеріалом досліджень були показники крові новонароджених телят з ознаками гіпотрофії (дослідна група) і фізіологічно розвинених телят (контрольна група). Дослідження виконували за уніфікованими гематологічними, імунологічними та цитохімічними методиками. Гіпотрофію діагностували за клінічними і морфологічними ознаками. Визначали морфологічні показники крові, фагоцитарну реакцію нейтрофільних лейкоцитів, їх мієлопероксидазу, катіонні білки та їх загальну бактерицидність (НСТ-тест). Одержані показники у телят за гіпотрофії порівнювали з такими здорових телят.

За результатами досліджень встановлено, що кров телят-гіпотрофіків характеризувалась достовірно меншим вмістом паличкаядерних нейтрофілів на 1 добу – на 27,7 %; 3 добу – на 31,2 %; на 6 – на 22,0 % і 9 – на 25,6 %, а також сегментоядерних нейтрофілів, на 1 добу – на 26,1 % і на 6 добу – на 69,6 %. Також достовірно меншою була і кількість фагоцитуючих нейтрофілів: на 1 добу – на 55,7 %; 3 добу – на 58,2 %; 6 добу – на 66,2 %; на 9 добу – на 67,5 % і на 12 добу – на 40,3 %. Максимальне зниження (на 40 % ( $p < 0,05$ )) активності мієлопероксидази у гіпотрофіків встановлено на 3 добу. Уміст катіонних білків в нейтрофільних лейкоцитах крові телят обох груп був меншим за нормативи, а у гіпотрофіків меншим ( $p < 0,05$ ) за контроль, відповідно, на 6 добу – на 33,3 %; на 9 добу – на 57,1 % і на 12 добу – на 40 %. Показники нестимульованого НСТ-тесту були вірогідно меншими ( $p < 0,05$ ) на 6 добу – на 35,9 % і на 9 добу – на 24,3 %. Мінімальне значення цього показника встановлено на 6 добу, який становив  $7,3 \pm 0,5$  од., а на 12 добу він перевищував відповідне значення тварин контрольної групи на 30,9 % ( $p < 0,05$ ). Порівняно з контролем, показники стимульованого НСТ-тесту у телят-гіпотрофіків були достовірно меншими на 3 добу – на 34,7 %; на 6 добу – на 48,1 5; на 9 добу – на 49,8 5 і на 12 добу – на 36 %. На підставі виконаних досліджень зроблено висновок про низьку базисну ферментативну активність нейтрофільних лейкоцитів та недостатність резервів їх стимуляції, що характеризують стан неспецифічної резистентності телят-гіпотрофіків.

**Ключові слова:** *резистентність, нейтрофільний лейкоцит, фагоцитоз, мієлопероксидаза, катіонні білки, НСТ-тест.*

**Вступ.** *Актуальність теми.* Вирощування молодняка сільськогосподарських тварин і збереження їх здоров'я належать до найбільш актуальних проблем тваринництва (Харута et al., 1997; Homer, 2024). Одним з найбільш відповідальних періодів онтогенезу є період новонародженості. Він характеризується значною напруженістю метаболізму, а також високим ступенем ризику порушень адаптаційних механізмів, спричинених різкою зміною навколишнього середовища (Quigley & Drewry, 1998; Заборонюк & Івасенко, 2022).

Частота виникнення неонатальних патологій, що призводить до значного відходу молодняка, зумовлена порушеннями в годівлі і утриманні тільних корів (Маринюк et al., 2014; Тао et al., 2019). Недостатнє забезпечення плода поживними, енергетичними, біологічно активними речовинами та киснем у критичні періоди вагітності порушує розвиток кісткової, м'язової, травної, дихальної систем, у тяжких випадках – печінки та серцево-судинної системи (Godfrey & Barker, 2000; Kambur et al., 2012; Speer et al., 2024). Гіпотрофія новонароджених або «фізіологічна незрілість» є вродженою патологією плода і

виникає як патофізіологічна реакція на недостатнє забезпечення нутрієнтами або за порушення їх засвоюваності. Ця патологія завдає господарствам значних економічних збитків, пов'язаних із втратою живої маси і племінних якостей, загибеллю та вимушеною вибраковкою тварин, погіршенням якості м'яса та зниженням прибутку (Carroll et al., 2022; Meesters et al., 2024; Sedó et al., 2024).

Для новонароджених телят-гіпотрофіків характерні порушення окисно-відновних процесів і кисневе голодування тканин. Недоокислені продукти проміжного обміну надходять у кров, спричиняючи трофічні розлади різних органів і систем, спазми периферичних судин, тахікардію. Вроджена гіпотрофія телят супроводжується розвитком вторинної імунної недостатності, що посилює вікову імунну недостатність. Зниження імунної реактивності, у свою чергу, посилює перебіг гіпотрофії. Природна резистентність тварин значною мірою зумовлена генетичними факторами, проте її рівень у гіпотрофіків знижений, що призводить спочатку до підвищення чутливості тварин до несприятливих факторів довкілля, а потім до імунних та метаболічних порушень і розвитку захворювань (Коленченко, 2023; Sedó et al., 2024). У новонароджених телят синтез гуморальних факторів захисту є недостатнім і компенсується їх надходженням з молозивом матері (Quigley & Drewry, 1998; Puvogel et al., 2008; Silva et al., 2024), а власний імунний захист представлений головним чином факторами фагоцитозу і клітинними реакціями системи Т-лімфоцитів (Quigley, 2005; Todorov et al., 2024). На думку багатьох дослідників, проблема народження телят зі зниженою життєздатністю внаслідок пренатальних порушень формування плода є основною причиною їх неонатальної патології. Враховуючи важливість захисних природних клітинних механізмів неспецифічного імунітету в новонароджених телят визначення їх стану є актуальною задачею.

*Аналіз останніх досліджень і публікацій.* Поліетиологічність захворювань телят-гіпотрофіків зумовлює певні відмінності в патогенезі та клінічному прояві залежно від сформованого комплексу факторів їх виникнення (Murray & Leslie, 2013; Kambur et al., 2023). Питання функціонального дослідження імунологічної реактивності в новонароджених телят вважається одними з найскладніших у клінічній практиці, що пояснюється різноманітними проявами та резервними властивостями організму тварин (Barrington & Parish, 2001; Meade, 2015; Zhelavskiy, et al., 2022). У публікаціях повідомляється про дослідження природної резистентності та імунологічної реактивності у телят за шлунково-кишкових захворювань. Автори відмічають недостатність клітинної та гуморальної ланок імунної системи у хворих на абомазоентерит телят, зумовленої зниженням бактерицидної активності сироватки крові (БАСК), лізоцимної активності сироватки крові (ЛАСК) та показників фагоцитарної активності нейтрофілів (ФАН) (Zinko, 2017; Slivinska et al., 2021).

Опубліковані результати досліджень гемоцитопоезу та резистентності організму функціонально активних новонароджених телят і телят, що народилися з ознаками гіпоксії та в імпринтинг-період. Установлено, що в тварин, які народились з ознаками гіпоксії і порушеннями процесу першого вдиху та дихання суттєво порушуються процеси формування фагоцитарного профілю крові, активність лейкоцитів, а відповідно і резистентність організму. Показано негативний вплив гіпоксії на процеси гемоцитопоезу та резистентність організму телят у період після народження та в імпринтинг-період (Коленченко, 2023).

Дослідники зазначають, що особливості розвитку телят за гіпотрофії і висока летальність зумовлюють необхідність більш ранньої індивідуальної оцінки життєздатності новонароджених телят для прогнозування захворювань і розробки схеми лікувально-профілактичних заходів з урахуванням спрямованості на виявлені порушення (Quigley, 2005; Маринюк, 2014; Lora, 2019).

*Мета роботи.* Метою досліджень було визначення динаміки імунологічних клітинних механізмів неспецифічного імунітету, зокрема фагоцитарної активності і

внутрішньоклітинних бактерицидних систем нейтрофільних лейкоцитів у новонароджених телят за гіпотрофії.

*Завдання дослідження:* порівняно з фізіологічно розвиненими телятами, визначити лейкограму та кілінгову активність поліморфноядерних лейкоцитів у телят-гіпотрофіків за такими показниками: фагоцитарна активність нейтрофілів (ФАН), здатність гранулоцитів до внутрішньоклітинного руйнування токсичного перекису водню за активністю фермента мієлопероксидази (МПА), активність киснево незалежних мікробіцидних систем фагоцита за лізосомально-катіонними білками (ЛКБ-тест), загальну кисневозалежну бактерицидність клітин та можливість її стимуляції в тесті відновлення нітросинього тетразолію (НСТ-тест).

**Матеріал і методи досліджень.** Дослід проводили в науково-виробничого центру ДБТУ, на двох групах новонароджених телят української молочної чорно-рябої породи (n=10). 1 (дослідну) групу було сформовано з новонароджених телят-гіпотрофіків, 2 (контрольну) групу – з фізіологічно розвинених телят. Гіпотрофію у телят діагностували за комплексом ознак: за коефіцієнтом життєздатності за масою тіла при народженні, ступенем сформованості і часом прояву безумовних рефлексів (рефлекси руху і смоктання), а також основними клінічними (температура, пульс, дихання), гематологічними (кількість еритроцитів, лейкоцитів, лейкоформула, уміст гемоглобіну) і біохімічними (уміст загального білка, глюкози, загального кальцію) показниками. Коефіцієнт життєздатності визначали за формулою:

$$Кж = (M_c - M_f) / M_c \times 100,$$

де Кж – коефіцієнт життєздатності, %;

M<sub>c</sub> – маса тіла відповідно до породних вимог, кг;

M<sub>f</sub> – фактично встановлена маса тіла при народженні, кг.

До гіпотрофіків відносили телят, в яких коефіцієнт недостатності маси тіла був більше, ніж 25 % (24,2±0,37 кг – середній ступінь антенатального недорозвинення). При цьому в таких тварин шкіра була сухою, зморшкуватою; її еластичність і тургор, а також м'язів були різко послабленими, підшкірна жирова клітковина слабо вираженою або відсутньою. Дихання було прискореним (41,7±1,83 дих. рух за хв), самі дихальні рухи поверхневими, пульс становив 128,3±1,72 уд. за хв., слабо прощупувався; тони серця були глухими, слизові оболонки блідими або синюшними. Температура тіла становила 37,7±0,23 °С, що було на нижній межі норми; дистальні ділянки кінцівок були холодними. Тактильна, больова чутливість була слабкою або не вираженою. У фізіологічно незрілих телят встановлений низький м'язовий тонус, поява смоктального рефлексу затримувалась до 77,8±6,8 хв, він був слабо вираженим, відзначали гальмування реалізації пози стояння (40,1±3,15 хв). Очні яблука були запалими, шерсть – тьмяною, погано утримувалась, молочні різці – хиткими, слабо укріпленими. За результатами лабораторного дослідження морфологічного і біохімічного профілю крові встановлено, що в крові телят-гіпотрофіків була зменшена кількість еритроцитів і гемоглобіну, загального білка, глюкози і кальцію.

Експеримент тривав упродовж перших 12 діб життя телят. Для визначення гематологічних показників на 1, 3, 6, 9 і 12-ту добу життя в новонароджених телят відбирали зразки венозної крові. У лабораторії кафедри внутрішніх хвороб і клінічної діагностики тварин проводили гематологічні і біохімічні дослідження крові, а також цитохімічні дослідження функціонального стану нейтрофільних лейкоцитів з визначенням фагоцитарної активності (ФАН) та її показників – фагоцитарного числа (ФЧ) та фагоцитарного індексу (ФІ), активності мієлопероксидази (МПО), вмісту катіонних білків (ЛКБ-тест), а також функціонально-метаболічної активності і здатності клітин до стимулювання (тест відновлення нітросинього тетразолію, НСТ-тест).

Підрахунок кількості еритроцитів і лейкоцитів проводили за уніфікованою методикою на гемоцитометрі кондуктометричному ГЦМК-3, лейкограму визначали уніфікованими методами фіксації, фарбування та мікроскопічного дослідження на забарвлених мазках периферичної крові диференційованим підрахунком 100 лейкоцитів за

методом Філіпченка. Підрахунок проводили на великому збільшенні мікроскопа (90<sup>×</sup>) під імерсійним об'єктивом (Левченко et al., 2002).

Для імунологічних досліджень нейтрофільних лейкоцитів проводили їх виділення методом сепарації з отриманням лейкоконцентрату. Кров, узятую в кількості 5-6 мл шляхом венепункції з гепарином із розрахунку 20 ОД гепарину на 1 мл крові, відстоювали протягом 30 хв за 37 °С і 15 хв за кімнатної температури. Плазму, збагачену мононуклеарами, відбирали для інших досліджень. Клітини, що залишилися, центрифугували 10-15 хв за 1000 об/хв і збирали плівку, збагачену нейтрофільними лейкоцитами у пластикову пробірку. Лейкоцити розводили фізіологічним розчином у 2 рази (до концентрації 5-6×10<sup>9</sup> кл/л), (Меньшиков et al., 1987).

Дослідження проводили в моношарі клітин за методикою приготування мазків, ґрунтуючись на здатності фагоцитів адгезуватися до чистої скляної поверхні (Меньшиков et al., 1987).

Унутрішньоклітинну кілінгову активність поліморфноядерних лейкоцитів, що характеризує здатність клітин до захоплення і перетравлення мікроорганізмів, визначали за фагоцитарною активністю нейтрофілів (ФАН). За методикою дослідження (Меньшиков et al., 1987; Nielsen et al., 1995) *in vitro* проводили інкубацію моношару фагоцитів із суспензією мікроорганізмів стандартизованої культури (1,0 млрд/од. мікробних клітин за оптичним стандартом мутності) упродовж 3 год. за 37 °С. У якості об'єкта фагоцитозу використовували живі добові культури колекційного штаму золотистого стафілокока *St. aureus* 209-Р (АТСС 6538-Р) з лабораторної колекції «Центру дитячої імунології» УкрНДІпротезування, м. Харків. Мазок лейкоконцентрату з фагоцитуючими нейтрофілами фіксували метанолом і забарвлювали за Романовським-Гімзою.

Диференційованим підрахунком 100 клітин під імерсійним об'єктивом (90<sup>×</sup>) і окуляром (10<sup>×</sup>) світлового мікроскопа визначали показники фагоцитозу. Встановлювали ФЧ<sub>120</sub> (фагоцитарне число) – середню кількість мікробних тіл, поглинутих одним активним нейтрофілом за 120 хв., а також ФІ<sub>120</sub> (фагоцитарний індекс) – кількість нейтрофілів із порохованих, які містили захоплені мікробні клітини за 120 хв.

Здатність нейтрофілів до внутрішньоклітинного руйнування токсичного перекису водню оцінювали за активністю кисеньзалежного фермента мієлопероксидази (МПО, К.Ф. 1.11.1.7) в мазках з лейкоконцентрату за методом Graham-Knoll (Шафран et al., 1979; Viollier et al., 1986; Меньшиков et al., 1987). Свіжі мазки фіксували 4% формаліново-спиртовим розчином протягом 30 с. Промивали у проточній воді та висушували, потім заливали реактивом на пероксидазу (10 мл 40% етанолу, 40 мг бензидину і краплі 3% перекису водню) на 5 хв. Після цього промивали у проточній воді та висушували, ядра клітин дофарбовували барвником Романовського-Гімзи. Пероксидаза при цьому виявляється в цитоплазмі клітин у вигляді буро-коричневих гранул. У разі відсутності реакції гранули в цитоплазмі не спостерігаються.

Отримані результати оцінювали напівкількісним методом, з обчисленням середнього цитохімічного коефіцієнта (СЦК). При проведенні мікроскопії в мазку крові вибирали клітини, що містять досліджувану речовину. Відсутність забарвлення цитоплазми приймали за нульовий ступінь (0 %), а наявність у цитоплазмі невеликої забарвленої ділянки, що займає 25 % всієї цитоплазми, відносили до інтенсивності реакції 1-го ступеня (А). Забарвлення 75 % цитоплазми приймали за 2-й ступінь насичення (В). За 3-го ступеня інтенсивності реакції досліджувана речовина заповнює всю цитоплазму (100 %). Потім, як під час підрахунку лейкоцитарної формули, у різних ділянках мазка підраховували 100 однотипних клітин і розраховували відносний вміст клітинних елементів із різною інтенсивністю реакції. Показник активності в умовних одиницях обчислювали за формулою: 3С + 2В + А (Astaldi & Verga, 1957). Середній цитохімічний коефіцієнт (СЦК) розраховували за формулою СЦК = А+2В+3С/100 (Kaplow, 1955). Для розрахунку показника активності клітини з інтенсивністю реакції 0 виключали, до кількості клітин з інтенсивністю 1 (А) додавали кількість клітин з інтенсивністю 2 (В), помножений на

коефіцієнт 2, і кількість клітин з інтенсивністю 3 (С), помножена на коефіцієнт 3. Показник активності виражали в умовних одиницях (од. СЦК) (Хейхоу & Кваглино, 1983).

Активність кисеньнезалежних мікробіцидних систем фагоцитів і динаміку запального процесу визначали за В.Е. Пигаревським. Цей метод (ЛКБ-тест) ґрунтується на здатності аніонних барвників (бромфенолового синього, міцного зеленого) за рН 8,1-8,2 вибірково забарвлювати тільки катіонні білки (Пигаревський, 1979; Пигаревский & Мазинг, 1981; Меньшиков et al., 1987). Свіжовисушені мазки лейкоконцентрату фіксували 1-1,5 хв у 5% сульфасаліцилової кислоті, ретельно промивали у дистильованій воді та висушували. Фарбували мазок у 0,1% розчині бромфенолового синього протягом 1-2 хв, тричі промивали у трьох змінах боратного буфера по 1-2 хв і висушували. У мазку з лейкоконцентрату рахували 100 нейтрофілів з умістом у цитоплазмі забарвлених бромфеноловим синім неферментних лізосомальних катіонних білків, визначаючи відносний вміст клітин, що містили сині гранули катіонних білків, і за наведеною методикою розраховували СЦК.

Функціональний стан нейтрофільних лейкоцитів і їх кисневозалежну бактерицидність досліджували в мазках з лейкоконцентрату візуальним цитохімічним методом відновлення нейтрофілами нітросинього тетразолію (НСТ-тест). Метод заснований на здатності гранулоцитів фагоцитувати безбарвний барвник тетразолієвого ряду – НСТ і потім відновлювати його в нерозчинний формазаан темно-синього кольору за допомогою НАД Н- та НАДФ•Н-оксидаз (Park et al., 1968; Меньшиков et al., 1987).

НСТ-тест ставили у двох варіантах: нестимульованому (спонтанному), (НСТнестим) та стимульованому (індукованому) (НСТстим) з антигеном зимозаном. Нестимульований НСТ-тест віддзеркалює ступінь функціонального подразнення нейтрофілів *in vivo*, будучи своєрідним дзеркалом гомеостазу. Стимульований НСТ-тест характеризує потенційну здатність нейтрофільних лейкоцитів відповісти «респіраторним вибухом» на адекватне подразнення. Відношення показників НСТстим до НСТнестим тесту віддзеркалює біохімічний критерій готовності нейтрофіла до завершеного фагоцитозу (повного знищення об'єкта). Його визначають як функціональний резерв або індекс стимуляції (ІС), а за різницею цих показників тесту судять про величину фагоцитарного резерву клітин (ФРК) (Меньшиков et al., 1987; Damle et al., 2022).

Під час виконання дослідження в лунки полімерного планшета для імунологічних реакцій вносили: для нестимульованого тесту по 20 мкл суспензії лейкоцитів, фізіологічного розчину і 0,1% розчину нітросинього тетразолію; для стимульованого тесту змішували по 20 мкл суспензії лейкоцитів, робочої суспензії зимозану і 0,1% розчину нітросинього тетразолію. Потім суміш інкубували 30 хв у термостаті за 37 °С. Після чого клітини акуратно ресуспензували і з них робили мазки на предметних скельцях. Після висихання на повітрі мазки фіксували 96° етанолом, забарвлювали 0,1% розчином нейтрального червоного 10-15 хв. Мазки мікроскопували під імерсійним об'єктивом із збільшенням 90<sup>x</sup>, враховуючи кількість формазаан-позитивних нейтрофілів і ступінь заповнення їх цитоплазми гранулами формазаану. Підраховували по 100 нейтрофілів, розраховували СЦК за вищенаведеною формулою, де А – кількість клітин із вмістом гранул від 1 до 3 (25 %), В – кількість клітин із вмістом від 3 до 8 гранул (75 %), С – кількість клітин із кількістю гранул, більшою за 8 (100 %).

Отриманий цифровий матеріал обробляли статистично за допомогою комп'ютерної програми «IBM-SPSS-Statistics 27.0.1» з визначенням середнього значення (М), стандартного відхилення ( $\sigma$ ) та вірогідності різниці (р) між середніми арифметичними двох варіаційних рядів за критерієм вірогідності (t) Стьюдента. Різницю між двома величинами вважали вірогідною за  $p < 0,05$ .

**Результати досліджень та їх обговорення.** Нейтрофільні лейкоцити, як найбільш поширений вид зернистих лейкоцитів, є неоднорідною клітинною популяцією з високою функціональною пластичністю, які діють як перша лінія захисту імунної системи, що має потужну силу та ефективність для визначення та знищення патогенних інфекцій. Вони є

одним із видів фагоцитів вродженої імунної системи, проте, вони також відіграють важливу регуляторну роль і в адаптивній імунній відповіді (Li et al., 2019).

За результатами наших досліджень встановлено, що в телят за гіпотрофії вміст паличкоядерних нейтрофілів був більшим, ніж у фізіологічно розвинених тварин, починаючи з 1 доби – на 27,7 % ( $p < 0,05$ ), на 3 добу – на 31,2 % ( $p < 0,05$ ), на 6 – на 22,0 % ( $p < 0,05$ ) і 9 – на 25,6 % ( $p < 0,05$ ), (табл.), що відображало морфофункціональну недорозвиненість їх кровотворних органів в неонатальний період.

У телят-гіпотрофіків подібними змінами відзначались і показники вмісту сегментоядерних нейтрофілів. На 1 добу цих клітин було більше ( $p < 0,05$ ) на 26,1 % і на 6 добу – на 69,6 % ( $p < 0,05$ ) ніж у телят контрольної групи. Упродовж спостереження показник умісту нейтрофілів в крові телят обох груп мав тенденцію до зменшення.

Порівняно з контролем, вміст лімфоцитів у крові телят дослідної групи при народженні був меншим на 28,4 % ( $p < 0,05$ ), на 6 добу – на 13,6 % ( $p < 0,05$ ), а на 12 добу був більшим на 17,9 % ( $p < 0,05$ ), що, як відомо, характерно для першого вікового імунодефіциту (Мельничук & Грищенко, 2015).

Показники вмісту моноцитів у крові телят-гіпотрофіків упродовж усього періоду спостережень були вірогідно ( $p < 0,05$ ) меншими, ніж у фізіологічно розвинених, а з 3 доби – меншими порівняно з референтними значеннями.

Як відомо, в новонароджених телят, впродовж першого тижня життя, у нормі реєструється нейтрофільний профіль крові (Кондрахин, 2004; Kulberg, 2004), що визначається за співвідношенням Л/Н – відношення вмісту лімфоцитів до нейтрофілів (суми нейтрофілів усіх ядерних форм) у лейкограмі (Кудрявцев, & Кудрявцева, 1974; Godlevsky & Savolyuk, 2015; Радзиховський et al., 2018).

Таблиця

**Показники лейкоцитарної формули телят контрольної і дослідної груп (M $\pm$  $\sigma$ , n=10)**

Показники,%			Дні дослідження				
			1	3	6	9	12
Нейтрофіли	Паличкоядерні	дослід	10,6 $\pm$ 0,6*	8,0 $\pm$ 0,7*	7,2 $\pm$ 0,3*	8,3 $\pm$ 0,2*	6,4 $\pm$ 0,6
		контр	8,3 $\pm$ 0,4	6,1 $\pm$ 0,6	5,9 $\pm$ 0,2	6,6 $\pm$ 0,4	7,6 $\pm$ 0,6
	Сегментоядерні	дослід	46,9 $\pm$ 2,3*	39,5 $\pm$ 1,4	35,1 $\pm$ 1,7*	32,4 $\pm$ 1,0	30,1 $\pm$ 1,4
		контр	37,2 $\pm$ 1,6	34,5 $\pm$ 1,7	20,7 $\pm$ 1,8	35,4 $\pm$ 2,0	36,3 $\pm$ 2,5
Лімфоцити		дослід	38,8 $\pm$ 1,7*	50,0 $\pm$ 2,2	56,6 $\pm$ 1,6*	56,7 $\pm$ 2,0	61,7 $\pm$ 1,5*
		контр	49,8 $\pm$ 2,5	56,4 $\pm$ 2,9	64,3 $\pm$ 2,6	53,0 $\pm$ 1,2	50,6 $\pm$ 1,1
Моноцити		дослід	2,2 $\pm$ 0,2*	1,5 $\pm$ 0,2*	0,3 $\pm$ 0,1*	1,1 $\pm$ 0,2*	0,5 $\pm$ 0,1*
		контр	4,7 $\pm$ 0,3	3,0 $\pm$ 0,2	4,1 $\pm$ 0,3	3,7 $\pm$ 0,5	4,0 $\pm$ 0,4

Примітка. \*  $p < 0,05$  – різниця показників статистично достовірна.

Динаміка змін показників нейтрофілів у дослідних телят, на наш погляд, пов'язана із порушеннями обміну речовин і неблагополучним станом корів-матерів та адаптаційним підвищенням вмісту нейтрофілів у крові плодів за стресу, оскільки функціональна неповноцінність нейтрофільних лейкоцитів новонароджених певною мірою компенсується їх підвищеним умістом. Нейтрофілія в обох групах телят супроводжувалась збільшенням умісту паличкоядерних клітин, при цьому загальна кількість лейкоцитів була в межах референтних значень, що є ознакою регенеративного зрушення ядра і спостерігається за легкої форми інфекційних та запальних процесів з відносно сприятливим перебігом (Кондрахин, 2004).

Моноцитопенія у телят-гіпотрофіків може вказувати на початкову стадію гострих запальних процесів, інфекційних захворювань, а також є ознакою пригнічення функції мононуклеарної фагоцитарної системи (Левченко, 2010). У фізіологічно розвинених телят зміни в динаміці моноцитів характеризувалась коливаннями показників. Після народження їх кількість була максимальною і становила 4,7 $\pm$ 0,3 %, на 3 добу знижувалась до 3,0 $\pm$ 0,2 %, на 6 добу зростала до 4,1 $\pm$ 0,3 %, на 9 добу знизилась до 3,7 $\pm$ 0,5 %, на 12 добу зростала до 4,0 $\pm$ 0,4 %.

на 6 добу – підвищувалась до  $4,1 \pm 0,3$  %, на 9 добу знов знижувалась до  $3,7 \pm 0,5$  %, а на 12 добу – знов підвищувалась до  $4,0 \pm 0,4$  %, що є характерним для новонароджених тварин (Кондрахин, 2004; Левченко, 2010).

Фагоцитоз, як найбільш давня в філогенетичному відношенні імунна реакція, розвивається раніше за гуморальні механізми, а тому лейкоцити відіграють важливу роль у формуванні імунної реактивності (Deniset & Kubes, 2016).

Нами встановлено суттєве зменшення показників ФАН у телят-гіпотрофіків порівняно з фізіологічно розвиненими телятами впродовж всього експерименту. Так, на 1 добу, кількість фагоцитуючих нейтрофілів у гіпотрофіків була меншою ніж у нормотрофіків на 55,7 % ( $p < 0,05$ ), на 3 добу – на 58,2 % ( $p < 0,05$ ), 6 добу – на 66,2 % ( $p < 0,05$ ), на 9 добу – на 67,5 % ( $p < 0,05$ ) і на 12 добу – на 40,3 % ( $p < 0,05$ ) (рис. 1).

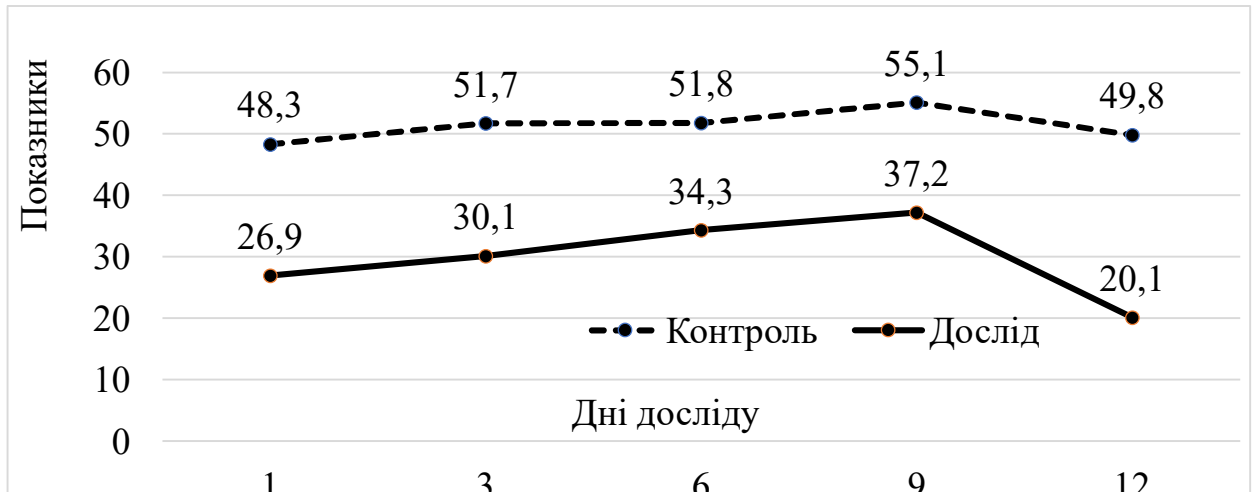


Рисунок 1. Динаміка показників ФІ<sub>120</sub> у телят контрольної і дослідної груп упродовж дослідження

У телят за гіпотрофії менша кількість активних фагоцитів супроводжувалась і низькими показниками їх фагоцитарної активності. Установлено, що у гіпотрофіків, порівняно з фізіологічно розвиненими телятами, показники ФЧ<sub>120</sub> були меншими, відповідно на 6 добу – на 30 % ( $p < 0,05$ ), на 9 добу – на 40,6 % ( $p < 0,05$ ), на 12 добу – на 40,8 % ( $p < 0,05$ ) (рис. 2).

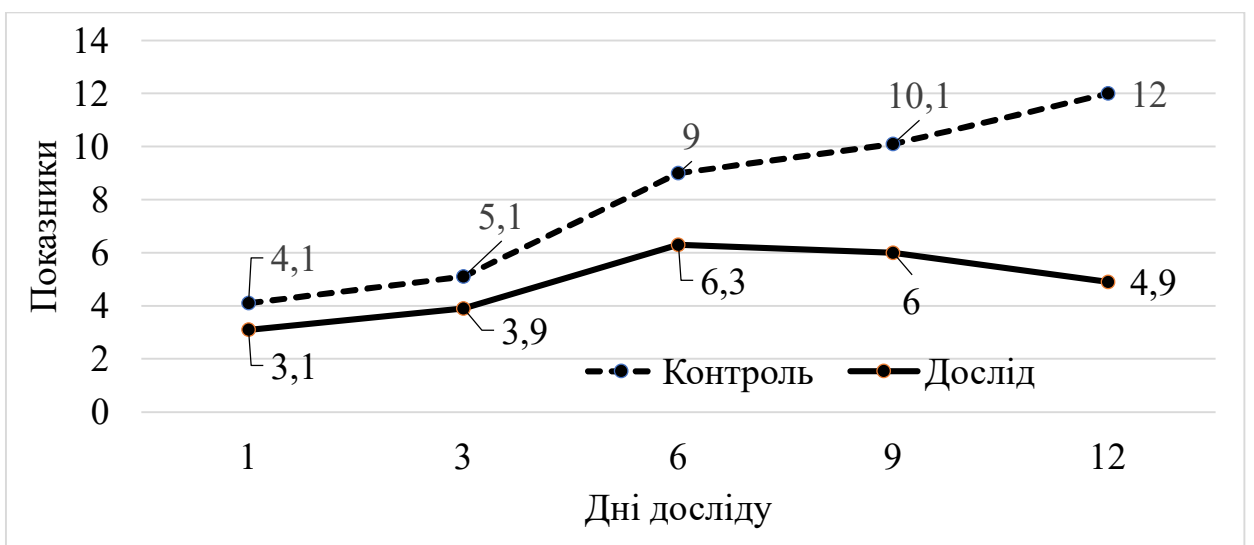


Рисунок 2. Динаміка змін показників ФЧ<sub>120</sub> у телят контрольної і дослідної груп упродовж дослідження



Хоча у крові телят-гіпотрофіків і спостерігали більший вміст нейтрофілів ніж у нормотрофіків, проте зменшення показників  $\Phi I_{120}$  і  $\Phi Ч_{120}$ , на нашу думку, зумовлене низькою активністю внутрішньоклітинних бактерицидних систем.

Нейтрофільні лейкоцити, являючись центральними клітинами вродженого імунітету, забезпечують протимікробний захист організму з використанням двох принципово різних механізмів. Перший здійснюється системою генерування нейтрофілами активних форм кисню, провідним ферментом якої є мієлопероксидаза, що міститься в їх азурофільних гранулах. Другий механізм цих лейкоцитів є кисеньнезалежним, він реалізується неферментними катіонними білками (КБ) – дефензимами, які також локалізовані в їх специфічних і азурофільних гранулах (Depreester et al., 2017).

Таким чином, одним з провідних бактерицидних ферментів фагоцитів є мієлопероксидаза (МПО). Дослідники вказують на визначальну роль МПО, що утворюють активні нейтрофіли в формуванні та прогнозах серцево-судинної (Harder et al., 2007; Meuwese et al., 2007), легеневої й онкопатології (Mocatta et al., 2007). Цей фермент визначається у 100 % нейтрофільних та еозинофільних лейкоцитах. У моноцитах активність ферменту проявляється майже у всіх клітинах, але порівняно з нейтрофілами вона є невисокою. У лімфоцитах, плазмоцитах і червоних клітинах крові активність мієлопероксидази не виявляється (Меньшиков et al., 1987; Depreester et al., 2017).

Нами встановлено знижену активність МПО у цитоплазмі нейтрофільних лейкоцитів телят-гіпотрофіків, яка чітко корегувала зі зменшенням бактерицидної активності цих клітин по відношенню до стафілококів (рис. 3).

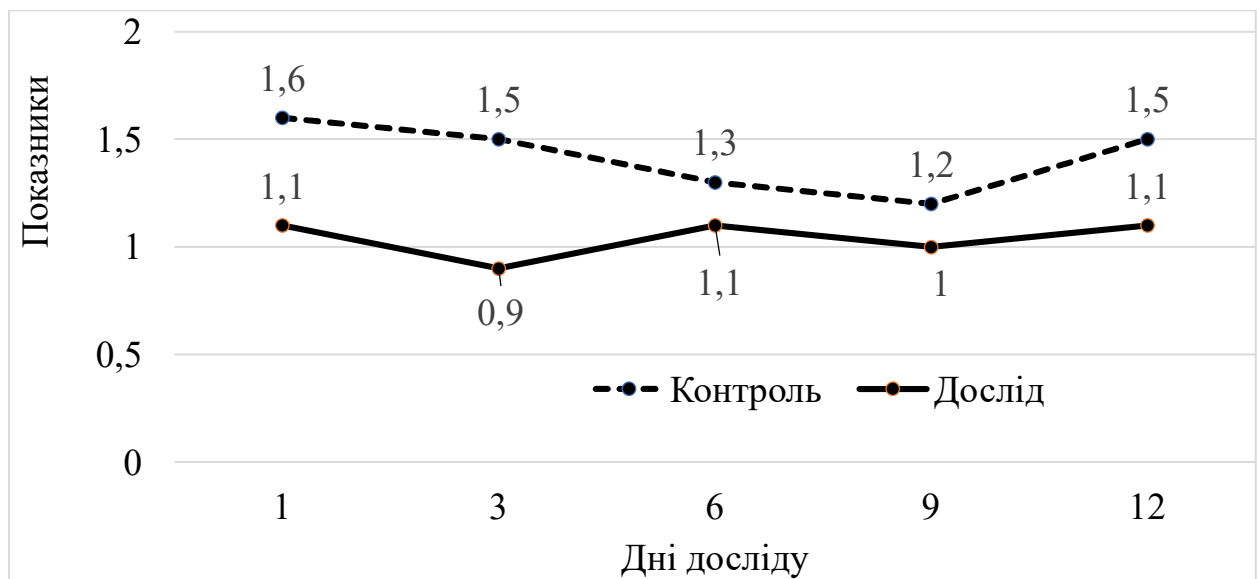


Рисунок 3. Динаміка показників активності МПО (од. СЦК) у телят контрольної і дослідної груп упродовж дослідження

У гіпотрофіків, порівняно з нормотрофіками, встановлено максимальне зниження показника активності МПО на 3 добу – на 40 % ( $p < 0,05$ ). Це може бути наслідком вродженого дефіциту внутрішньоклітинного вмісту цього фермента в гіпотрофіків і свідчить про зниження цитотоксичного потенціалу нейтрофілів у цих телят та їх низький рівень неспецифічного клітинного захисту.

Лізосомально-катіонні білки (ЛКБ) нейтрофільних лейкоцитів є протимікробними пептидами широкого спектра дії. Вони становлять більше 50 % загального білка азурофільних гранул (Vorregaard & Cowland, 1997) (рис.4).

Реалізації фагоцитарної функції (кілінгу) клітин-фагоцитів сприяють локалізовані в їх лізосомах еозинофільні неферментні катіонні білки. Бактерицидна дія ЛКБ забезпечується їхньою здатністю зв'язуватися з негативно зарядженою мембраною мікробної клітини й змінювати її проникність. Крім того, ЛКБ забезпечують організацію

запалення, зв'язок клітинної та гуморальної ланки вродженого та адаптивного імунітету (Scott & Hancock, 2000).

Уміст катіонних протеїнів у нейтрофільних лейкоцитах телят-гіпотрофіків був меншим у порівнянні з нормотрофіками і впродовж експерименту мав тенденцію до зниження, що є прогностичним показником, оскільки свідчить про недостатній вміст цих білків в нейтрофілах і, на нашу думку, є ознакою гіпотрофії, що характеризує її перебіг та свідчить про низький рівень неспецифічної резистентності. Показники вмісту катіонних білків у нейтрофільних лейкоцитах телят піддослідних груп представлено на рис. 5.

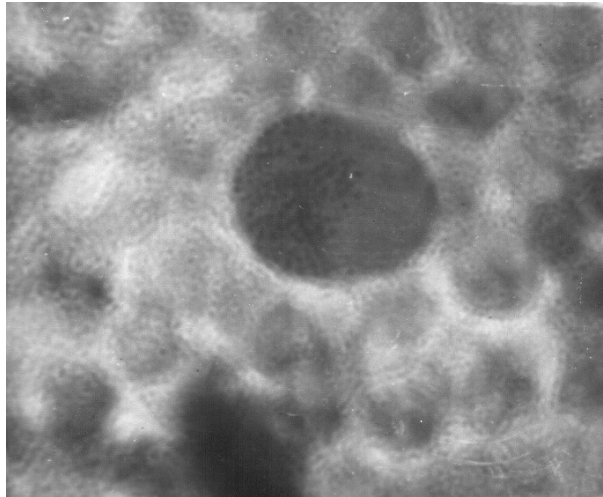


Рисунок 4. Лізосомально-катіонні білки в цитоплазмі нейтрофільного лейкоцита

Мазок крові 10-денного теляти. Лізосомально-катіонний тест (ЛКБ-тест). Активність реакції +++ . Об'єктив – 90,0 $\times$ .

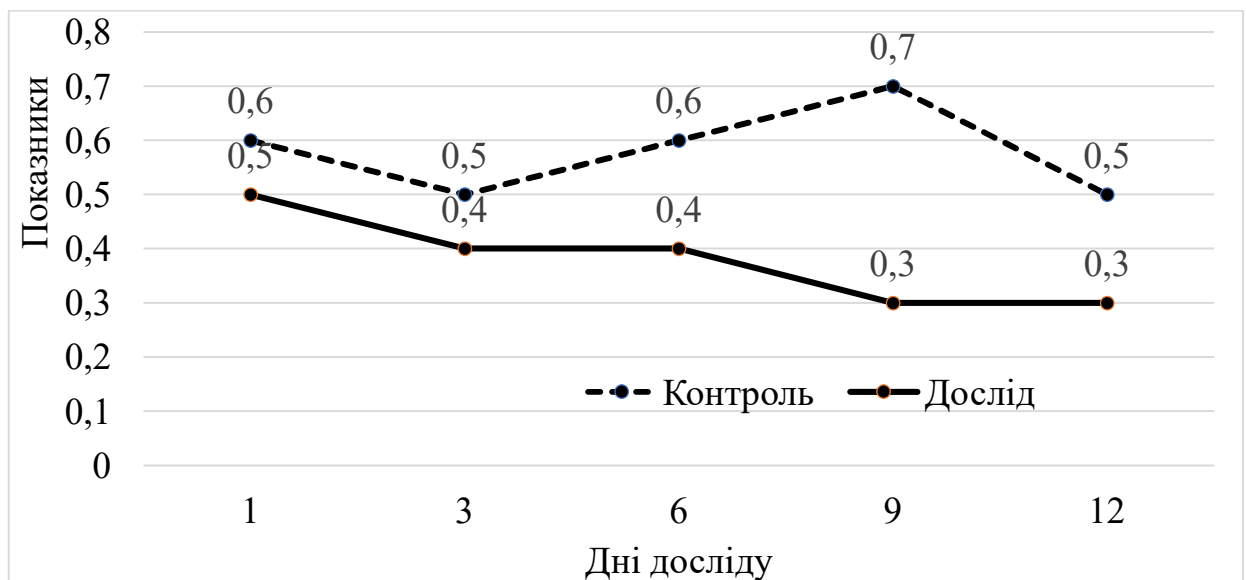


Рисунок 5. Динаміка показників ЛКБ-тесту (од. СЦК) контрольної і дослідної груп упродовж дослідження

Установлено, що показники тесту в обох групах були нижче референтних значень (<1,4, (1,3-1,5), (Пигаревский & Мазинг, 1981). Встановлено вірогідне зменшення показників ЛКБ-тесту в нейтрофільних лейкоцитах телят-гіпотрофіків, порівняно з нормотрофіками на 6 добу на 33,3 % ( $p < 0,05$ ), на 9 добу – на 57,1 % ( $p < 0,05$ ) і на 12 добу – на 40 % ( $p < 0,05$ ).

Дані зміни свідчать про недостатність кисеньнезалежних бактерицидних систем нейтрофілів у новонароджених телят, а отже і їх адаптаційних можливостей. Також пояснюють зменшення ФАН у телят-гіпотрофіків та вказують на більш глибоке зниження активності стану неспецифічної резистентності їх організму порівняно з здоровими телятами.

Таким чином, за результатами власних досліджень було зроблено висновок про те, що активність катіонних білків нейтрофільних лейкоцитів можна використовувати як індикатор стану неспецифічного імунітету у телят.

Як відомо, універсальною реакцією в організмі, що супроводжує стресові навантаження, є реакція оксидативного стресу, який характерний для новонароджених тварин (Godovanets, 2017). За умов оксидативного стресу адаптація новонародженого залежить від балансу ланок прооксидантної та антиоксидантної систем, тоді як остання в новонародженого ще не повністю сформована. Ці особливості є одними з причин зниження загальної імунної резистентності та розвитку патологічних станів у ранньому віці через вплив інфекції, запалення, мальабсорбції, стресу, метаболічних та екологічних чинників, а також посиленого окислювального стресу (Aydin et al., 2022). Надлишок активних форм кисню, таких як супероксидні радикали, гідроксильні радикали та перекис водню може пошкодити важливі білки, ліпіди та ДНК клітин. Це запускає процеси, які призводить до клітинної дисфункції та, зрештою, до їх дегенерації. Дослідження впливу окисного стресу на ці розлади має вирішальне значення для розробки нових методів лікування і профілактики захворювань.

Тест на відновлення нітросинього тетразолію (НСТ) широко використовується для оцінки оксидативного стресу в клітинних лініях упродовж більше чотирьох десятиліть. Кількість відновленого НСТ прямо пропорційна кількості кисневих радикалів, що продукуються фагоцитами під час «окислювального вибуху». Визначення НСТ дає стабільну реакцію в будь-якому біологічному зразку, який може містити  $\bullet\text{O}^{2-}$  (Nestor & Bancroft, 2008; Verma et al., 2019).

Нами встановлено, що впродовж дослідів показники нестимульованого НСТ-тесту (рис. 6) у фізіологічно розвинених телят мали тенденцію до зменшення і були мінімальними на 12 добу ( $8,7 \pm 0,81$  од. СЦК), що, скоріше, зумовлено вродженою недостатністю нейтрофільних механізмів фагоцитоза. Показники цього тесту в телят-гіпотрофіків, у порівнянні з нормотрофіками, були меншими на 6 добу на 35,9 % ( $p < 0,05$ ) і на 9 добу – на 24,3 % ( $p < 0,05$ ). Мінімальне значення цього показника було встановлено на 6 добу, яке становило  $7,3 \pm 0,5$  од. Також було відмічено і зростання цього показника на 12 добу, який перевищував відповідне значення контролю на 30,9 % ( $p < 0,05$ ), що ми пов'язуємо з рівнем опсонізації нейтрофілів і збільшеним антигенним навантаженням у телят за гіпотрофії.

Результати стимульованого НСТ-тесту дали нам змогу оцінити здатність нейтрофілів крові телят до активації *in vitro*. Цей тест проводили за зниженої кількості спонтанних НСТ-позитивних клітин, щоби виявити наявність або відсутність окисного метаболізму (рис. 7).

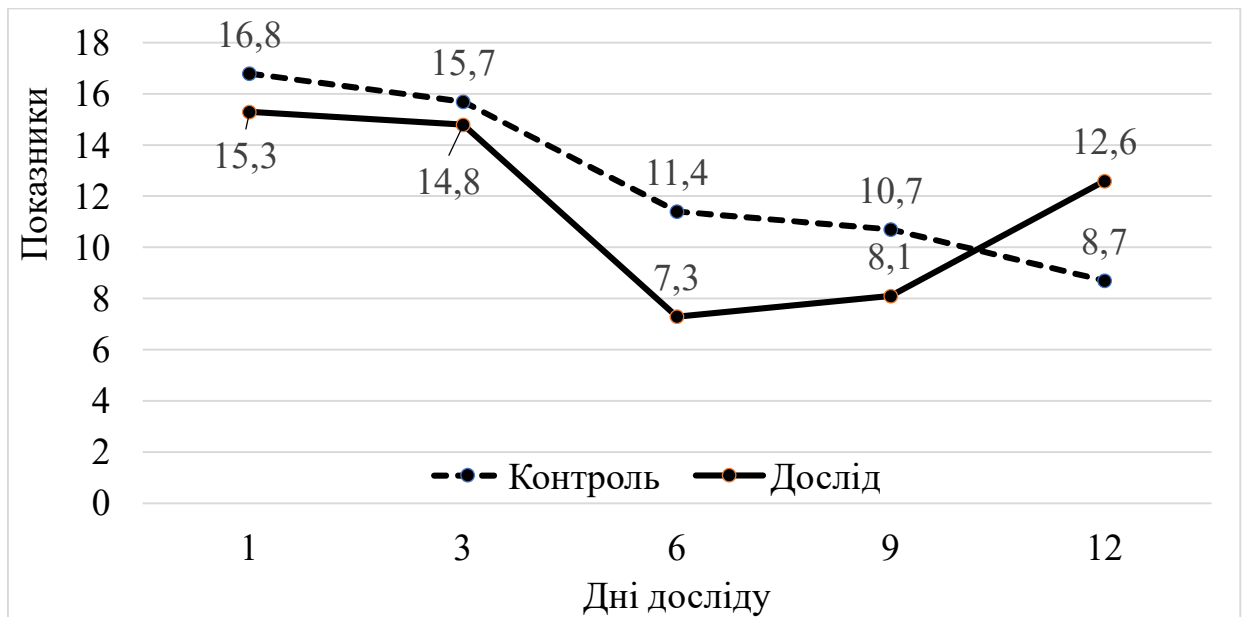


Рисунок 6. Динаміка показників нестимульованого НСТ-тесту (од. СЦК) у телят контрольної і дослідної груп упродовж досліді

Як видно з рис. 6, у телят-гіпотрофіків динаміка показників тесту впродовж спостереження відзначалась відносною стабільністю з незначними коливаннями. Максимальне значення цього показника було зафіксоване на 1 добу, яке становило  $30,1 \pm 1,84$  од. СЦК, а мінімальне значення –  $25,2 \pm 1,09$  од. було встановлено на 6 добу. При цьому, показники тесту в гіпотрофіків були меншими референтних значень (40-82 од. СЦК; 47-82 од. СЦК, (Park et al., 1968; Меньшиков et al., 1987).

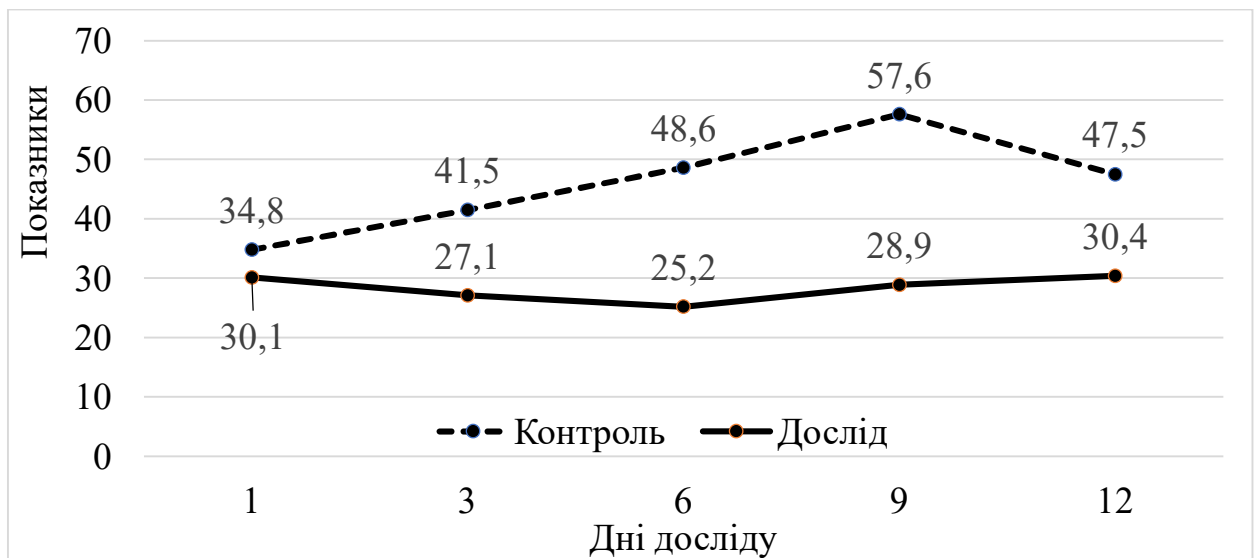


Рисунок 7. Динаміка показників стимульованого НСТ-тесту (од. СЦК) у телят контрольної і дослідної груп упродовж досліді

Установлено, що порівняно з контролем, у телят-гіпотрофіків показники тесту були достовірно меншими на 3 добу на 34,7 %, на 6 добу – на 48,1 %, на 9 добу – на 49,8 %, і на 12 добу – на 36 %. У телят за гіпотрофії такі показники свідчать про низький рівень природної імунорезистентності, зниження бактерицидності нейтрофілів внаслідок встановленого дефіциту мієлопероксидази, відповідальної за нормальний фагоцитоз та обмежені резерви стимуляції цих клітин. Отримані результати ми пов'язуємо з посиленням антигенним навантаженням при інфікуванні гіпотрофіків різними патогенними

мікроорганізмами і, як наслідок, розвиток шлунково-кишкових та інших захворювань, що узгоджується з даними Park et al. (1968); Garcia et al. (2021); Sedó et al. (2024).

Отже рівень стійкості телят-гіпотрофіків відзначався значущими зниженнями базисної (спонтанної) ферментативної активності нейтрофільних гранулоцитів.

Динаміка показників тесту у фізіологічно розвинених телят характеризувалась їх збільшенням з 1 по 9-й день; на 12 добу ці показники були меншими. Мінімальний показник був встановлений на 1 добу і становив  $34,8 \pm 1,52$  од., що було менше референтних значень, а максимальний – на 9 добу і становив  $57,6 \pm 0,47$  од. Більш високі показники тесту у телят-нормотрофіків свідчать про можливість суттєвого поліпшення або нормалізації основних клітинних факторів вродженого імунітету, а зниження резервів бактерицидності нейтрофілів у них на 12 добу, ймовірно, пов'язані з проявами вікового імунодефіциту, який розвивається у телят на 7-14 день і характеризується зменшенням вмісту клітинних і гуморальних факторів резистентності (Чумаченко et al., 2004).

Зазначимо, що на думку Gutuj et al. (2017); Zinko (2017) порушення імунної системи, які характеризуються зниженням активності клітинного імунітету, ймовірно, пов'язані з окислювальною деструкцією рецепторів на поверхні мембран лімфоцитів під впливом активних форм Оксигену. Залежність показників клітинного імунітету від інтенсивності процесу пероксидації, можливо, пов'язане з тим, що рецептори Т- і В-лімфоцитів на поверхні біологічної мембрани підлягають окислювальній деструкції.

За повідомленнями Gödl (1976) підвищені тільки абсолютні значення НСТ не повинні використовуватися для встановлення діагнозу бактеріальної інфекції. У таких випадках цей результат може вказувати на стан дисфункції нейтрофілів під час важкого системного захворювання. У той же час, результати досліджень Kölmel & Egri (1980) свідчать, що тест НСТ є загальним, неспецифічним індикатором стимуляції гранулоцитів. Він відображає здатність гранулоцитів реагувати на стресову ситуацію організму. Бактеріальна інфекція призводить до появи помітно великої кількості стимульованих (тобто НСТ-позитивних) гранулоцитів.

Підсумовуючи результати дослідження, слід зазначити, що в нейтрофільних лейкоцитах периферичної крові телят за гіпотрофії у порівнянні з фізіологічно розвиненими телятами виявлено суттєві зміни вмісту компонентів фагоцитарної захисної системи. Вони, безсумнівно, є показниками зниження функціонального стану захисних клітин і загальної неспецифічної резистентності організму. Зменшення показників фагоцитарної активності нейтрофільних лейкоцитів в крові новонароджених телят за гіпотрофії супроводжувалось зменшенням вмісту лізосомальних катіонних білків, активності мієлопероксидази та резервів бактерицидності цих клітин.

### **Висновки.**

1. Параклінічними ознаками несприятливого перебігу антенатальної гіпотрофії в новонароджених телят можуть бути зменшення показників фагоцитарної активності нейтрофільних лейкоцитів, їх оксидазного метаболізму та внутрішньоклітинного вмісту в них таких основних цитотоксичних речовин, як катіонні протеїни (менше 1,4 од. СЦК) та пероксидаза (менше 1,7 од. СЦК).

2. Для діагностики і оцінки перебігу гіпотрофії телят, а також порушень механізмів адаптації в неонатальному періоді доцільно визначати показники вільнорадикального окиснення та антиоксидантної системи неспецифічного клітинного захисту, що покращить прогнозування перебігу патології і дозволить оптимізувати профілактичні та лікувальні заходи.

### **References**

Astaldi, G., & Verga, L. (1957). The glycogen content of the cells of lymphatic leukaemia. *Acta Haematologica*, 17(3), 129–135. <https://doi.org/10.1159/000205237>

- Aydin, O., Nergis, U., Aydin, G., Sümeyye B., Ozge K., & Mustafa, S. (2022). Investigation of hemogram, oxidative stress, and some inflammatory marker levels in neonatal calves with escherichia coli and coronavirus diarrhea. *Microbial Pathogenesis*, 173, 105802–10502. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105802>
- Barrington, G., & Parish, S. (2001). Bovine neonatal immunology. *Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice*, 17(3), 463–476. [https://doi.org/10.1016/s0749-0720\(15\)30001-3](https://doi.org/10.1016/s0749-0720(15)30001-3)
- Borregaard, N., & Cowland, J. (1997). Granules of the Human Neutrophilic Polymorphonuclear Leukocyte. *Blood*, 89(10), 3503–3521. [https://doi.org/10.1182/blood.v89.10.3503.3503\\_3503\\_3521](https://doi.org/10.1182/blood.v89.10.3503.3503_3503_3521)
- Carroll, A., Bleach, E., & Williams, L. (2022). The influence of birth weight on dairy Holstein heifer calf health and growth prior to weaning. *Animal - Science Proceedings*, 13(1), 63–64. <https://doi.org/10.1016/j.anscip.2022.03.092>
- Damle, V., Wu, K., Arouri, D., & Schirhagl, R. (2022). Detecting free radicals post viral infections. *Free Radical Biology and Medicine*, 191, 8–23. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2022.08.013>
- Deniset, J., & Kubes, P. (2016). Recent advances in understanding neutrophils. *F1000Research*, 5, 2912–2912. <https://doi.org/10.12688/f1000research.9691.1>
- Depreester, E., Meyer, E., Demeyere, K., Mieke, V., Miel, H., & Geert, O. (2017). Flow cytometric assessment of myeloperoxidase in bovine blood neutrophils and monocytes. *Journal of Dairy Science*, 100(9), 7638–7647. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12186>
- Garcia, J., Pempek, J., Hengy, M., Hinds, A., Dubraska Diaz-Campos, & Habing, G. (2021). Prevalence and predictors of bacteremia in dairy calves with diarrhea. *Journal of Dairy Science*, 105(1), 807–817. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19819>
- Godfrey, K., & Barker, D. (2000). Fetal nutrition and adult disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71(5), 1344S–1352S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/71.5.1344s>
- Gödl, I. (1976). Der Nitroblau-Tetrazolium-Test in der Diagnostik der Meningitis purulenta [The nitroblue tetrazolium test in the diagnosis of purulent meningitis (author's transl)]. *Infection*, 4(4), 212–214. <https://doi.org/10.1007/BF01638927>
- Godlevsky, A., & Savolyuk, S. (2015). Diagnostika ta monitoring endotoksikozu u xirurgichnix xvorix [Diagnosis and monitoring of endotoxemia in surgical patients] Vinnitsa: The New Book (in Ukrainian).
- Godovanets, O. (2017). Особливості механізмів антиоксидантного захисту у передчасно народжених дітей за умов пологового оксидативного стресу. *Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина*, 7(3(25)), 43–50. <https://doi.org/10.24061/2413-4260.VII.3.25.2017.7>
- Golub, R., & Cumano, A. (2013). Embryonic hematopoiesis. *Blood Cells Molecules and Diseases*, 51(4), 226–231. <https://doi.org/10.1016/j.bcmed.2013.08.004>
- Gutyj, B., Leskiv, K., Shcherbatyy, A., Pritsak, V., Fedorovych, V., Fedorovych, O., Rusyn, V., & Kolomiets, I. (2017). The influence of Metisevit on biochemical and morphological indicators of blood of piglets under nitrate loading. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 8(3), 427–432. <https://doi.org/10.15421/021766>
- Harder, J., Gläser, R., & Schröder, J. (2007). Review: Human antimicrobial proteins – effectors of innate immunity. *Journal of Endotoxin Research*, 13(6), 317–338. <https://doi.org/10.1177/0968051907088275>
- Homer, E. (2024). A holistic approach to sustainability starts with youngstock. *Animal - Science Proceedings*, 15(1), 55–55. <https://doi.org/10.1016/j.anscip.2024.02.051>
- Kambur, M., Zamazii, A., & Piven, S. (2012). Pokaznyky lipidnoho metabolizmu v krvi plodiv velykoi rohatoi khudoby ta amniotychnii ridyni na riznykh misiatsiakh hestatsii [Indicators of lipid metabolism in the blood of cattle and amniotic fluid in different months of gestation]. *Visnyk Sumskoho natsionalnoho ahrarnoho universytetu*, 7(31), 18–22 [in Ukrainian].

- Kambur, M., Zamazyi, A., Kolenchenko, V., Demydko, O., & Livoshchenko, Ye. (2023). Cow haemostasis and resistance of calves under hypoxia conditions. *Scientific Horizons*, 26(9), 9–20. <https://doi.org/10.48077/scihor9.2023.09>
- Kaplow, L. (1955). A histochemical procedure for localizing and evaluating leukocyte alkaline phosphatase activity in smears of blood and marrow. *Blood*, 10(10), 1023–1029.
- Kölmel, H., & Egri, T. (1980). The Significance of the nitroblue-tetrazolium test in cerebrospinal fluid granulocytes in bacterial and abacterial meningitis. *Infection*, 8(4), 142–146. <https://doi.org/10.1007/BF01639120>
- Kulberg, S. (2004). Reference values for relative numbers of natural killer cells in cattle blood. *Developmental & Comparative Immunology*, 28(9), 941–948. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2004.02.004>
- Li, Y., Wang, W., Yang, F., Xu, Y., Feng, C., & Zhao, Y. (2019). The regulatory roles of neutrophils in adaptive immunity. *Cell Communication and Signaling*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s12964-019-0471-y>
- Lora, I., Gottardo, F., Bonfanti, L., Stefani, A. L., Soranzo, E., Dall’Ava, B., ... & Barberio, A. (2019). Transfer of passive immunity in dairy calves: the effectiveness of providing a supplementary colostrum meal in addition to nursing from the dam. *Animal*, 13(11), 2621–2629. <https://doi.org/10.1017/s1751731119000879>
- Meade, K. (2015). Advances in bovine immunology. New tools and new insights to tackle old foes. *Frontiers in Immunology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00071>
- Meesters, M., Eetvelde, M., Verdru, K., Govaere, J., & Geert, O. (2024). Small for gestational age calves: Part I — Concept and definition, Contributing prenatal factors and neonatal body morphometrics in holstein friesland calves. *Animals*, 14(14), 2125–2125. <https://doi.org/10.3390/ani14142125>
- Meuwese, M., Stroes, E., Hazen, S., van Miert, J., Kuivenhoven, J., Schaub, R., ... & Boekholdt, S. (2007). Serum myeloperoxidase levels Are associated with the future risk of coronary artery disease in apparently healthy individuals. *Journal of the American College of CardIOlogy*, 50(2), 159–165. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2007.03.033>
- Mocatta, T., Pilbrow, A., Cameron, V., Revathy S., Frampton, C., Richards, A., & Winterbourn, C. (2007). Plasma concentrations of myeloperoxidase predict mortality after myocardial infarction. *Journal of the American College of CardIOlogy*, 49(20), 1993–2000. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2007.02.040>
- Murray, C., & Leslie, K. (2013). Newborn calf vitality: Risk factors, characteristics, assessment, resulting outcomes and strategies for improvement. *The Veterinary Journal*, 198(2), 322–328. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.06.007>
- Nestor, S., & Bancroft, J. (2008). Enzyme histochemistry and its diagnostic applications. *Elsevier EBooks*, 405–432. <https://doi.org/10.1016/b978-0-443-10279-0.50027-0>
- Nielsen, S., Black, F., Storgaard, M., & Obel, N. (1995). Evaluation of a method for measurement of intracellular killing of *Staphylococcus aureus* in human neutrophil granulocytes. *APMIS*, 103(1-6), 460–468. <https://doi.org/10.1111/j.1699-0463.1995.tb01132.x>
- Park, B., Fikrig, S., & Smithwick, E. (1968). Infection and nitroblue-tetrazolium reduction by neutrophils. A diagnostic acid. *Lancet (London, England)*, 2(7567), 532–534. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(68\)92406-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(68)92406-9)
- Puvogel, G., Baumrucker, C., & Blum, J. (2008). Plasma vitamin A status in calves fed colostrum from cows that were fed vitamin A during late pregnancy. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 92(5), 614–620. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2007.00757.x>
- Quigley, J. (2005). *Passive Immunity in Newborn Calves*. Retrieved from [https://www.researchgate.net/publication/255653431\\_Passive\\_Immunity\\_in\\_Newborn\\_Calves](https://www.researchgate.net/publication/255653431_Passive_Immunity_in_Newborn_Calves)
- Quigley, J., & Drewry, J. (1998). Nutrient and immunity transfer from cow to calf pre- and postcalving. *Journal of Dairy Science*, 81(10), 2779–2790. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(98\)75836-9](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(98)75836-9)

- Scott, M., & Hancock, R. (2000). Cationic antimicrobial peptides and their multifunctional role in the immune system. *Critical Reviews in Immunology*, 20(5), 407–431. Retrieved from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11145218/>
- Sedó, S., Winder, C., Perry, K., Caswell, J., Mee, J., MacNicol, J., & Renaud, D. (2024). Herd-level occurrence and risk factors associated with respiratory and enteric pathogens from dairy calves in Ontario: A cross-sectional study. *Journal of Dairy Science*. <https://doi.org/10.3168/jds.2024-25199>
- Silva, F., Silva, S., Pereira, A., Cerqueira, J., & Conceição, C. (2024). A Comprehensive review of bovine colostrum components and selected aspects regarding their impact on neonatal calf physiology. *Animals*, 14(7), 1130. <https://doi.org/10.3390/ani14071130>
- Slivinska, L., Zinko, H., Vlizlo, V., Lychuk, M., Shcherbatyy, A., Lukashchuk, B., & Fedorovucj, V. (2021). Correction of natural resistance indicators in calves with abomazoenteritis. *Naukovij Visnik Veterinarної Medicini*, 2(168), 117–125. <https://doi.org/10.33245/2310-4902-2021-168-2-117-125>
- Speer, H., Wilke, K., & Drewnoski, M. (2024). Effects of vitamin A supplementation on liver retinol concentrations of beef cows and their calves managed in confinement. *Applied Animal Science*, 40(5), 619–626. <https://doi.org/10.15232/aas.2024-02564>
- Tao, S., Dahl, G., Laporta, J., Bernard, J., Orellana, R., & Marins, T. (2019). PHYSIOLOGY SYMPOSIUM : Effects of heat stress during late gestation on the dam and its calf. *Journal of Animal Science*, 97(5), 2245–2257. <https://doi.org/10.1093/jas/skz061>
- Todorov, M., Kushnir, V., Franchuk-Kryva, L., & Ulyzko, S. (2024). Antenatal prophylaxis of acute digestive disorders in calves. *BIO Web of Conferences*, 114, 01023. <https://doi.org/10.1051/bioconf/202411401023>
- Verma, N., Alyethodi, R., Kathuria, A., Alex, R., Hussain, S., Singh, U., ... & Prakash, B. (2019). Effect of heat stress on superoxide anion production in native and crossbred cattle under in vitro whole blood culture model. *Journal of Thermal Biology*, 87, 102457–102457. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2019.102457>
- Viollier, A., Weschler, D., Viollier, M., & Viollier, E. (1986). Der Myeloperoxidase-Defekt--Schönheitsfehler oder Krankheit? Eine Auswertung von 60, 337 Differentialblutbildern [Myeloperoxidase deficiency--blemish or disease? Evaluation of differential blood pictures]. *Schweizerische medizinische Wochenschrift*, 116(43), 1487–1488.
- Zhelavskiy, M., Kernychnyi, S., Dmytriv, O., & Betlinska, T. (2022). Cellular aging and immunity. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 5(1), 8–16. <https://doi.org/10.32718/ujvas5-1.02>
- Zinko, H. (2017). Immune status of calves sick with gastroenteritis. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Veterinary Sciences*, 19 (82), 61–65. <https://doi.org/10.15421/nvlvet8213>
- Заборонок О., & Івасенко Б. (2022). Профілактика пренатальної гіпотрофії телят. *Матеріали Міжнар. наук.-практ. конф. магістрантів та молодих вчених «Наукові пошуки молоді у XXI столітті. Актуальні проблеми ветеринарної медицини»*. БНАУ, Біла Церква, 3–4.
- Коленченко, В. (2023). Резистентність організму телят після народження та у імпринтинг-періоді залежно від функціонального стану. *Bulletin of Sumy National Agrarian University. The Series: Veterinary Medicine*, 1(60), 46–50. <https://doi.org/10.32782/bsnau.vet.2023.1.8>
- Кондрахин, И. (2004). Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: Справочник. М., Колос, 520.
- Кудрявцев, А., & Кудрявцева, Л. (1974). Клиническая гематология животных. М., Колос, 399.
- Левченко, В., Головаха, В., Кондрахин, І., ... & Чуб, О. (2010) Методи лабораторної клінічної діагностики хвороб тварин. За ред. В.І. Левченка. К., Аграрна освіта, 445.



- Левченко, В., Соколюк, В., Безух, В.,... & Абдуллаєв, Ш. (2002). Дослідження крові тварин та клінічна інтерпретація отриманих результатів: Методичні рекомендації для студентів факультету ветеринарної медицини керівників та слухачів Інституту післядипломного навчання керівників і спеціалістів ветеринарної медицини. Біла Церква, 14–17.
- Маринюк, М., Голопура, С., Якимчук, О., Немова, Т., & Цвіліховський, М. (2014). Рівень колострального імунітету і розвиток розладів травлення у новонароджених телят. *Ветеринарна медицина України*, (5), 21–23.
- Мельничук, Д., & Грищенко, В. (2015). Прогнозування імунодефіциту в новонароджених телят. *Доповіді Національної Академії наук України: Науково-теоретичний журнал*. (11). 106–111.
- Меньшиков, В., Делекторская, Л., & Золотницкая, Р. (1987). Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник. Под ред. В. В. Меньшикова. М, Медицина, 310–311.
- Пигаревский, В. (1979). Лизосомально-катионный тест (методические рекомендации). М., 26.
- Пигаревский, В., & Мазинг, Ю. (1981). К методике применения лизосомально-катионного теста в лабораторной диагностике. *Лабораторное дело*. (10), 579582.
- Радзиховський, М., Горальський, П., Борисевич, Б., & Дишкант, О. (2018). Інтегральні індекси інтоксикації у собак за коронавірусного ентериту. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. (2), 13–19. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvvm\\_2018\\_2\\_4](http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvvm_2018_2_4).
- Харута Г., Івасенко Б., & Ордін Ю. (1997). Гіпотрофія новонароджених телят. *Ветеринарна медицина України*, (6), 28–29.
- Хейхоу, Ф., & Кваглино, Д. (1983). Гематологическая цитохимия. М., Медицина. 320.
- Чумаченко, В., Чумаченко, В., & Павленко, О. (2004). Дослідження імунної системи. Фактори, що впливають на резистентність тварин. *Ветеринарна медицина України*. 5, 33–37.
- Шафран, М., Пигаревский, В., & Блинова, Э. (1979). К цитохимическому определению пероксидазной активности в клетках крови и костного мозга. *Цитология*, 21(10), 1206–1208.