

Е. А. Калаева¹, О. А. Землянухина¹, В. Н. Калаев¹, К. А. Ефимова¹, А. Е. Черницкий²,
Н. Н. Каверин¹, Е. А. Двурекова³

Фенотипы гаптоглобина как маркеры стабильности показателей клеточного иммунитета у телят в период новорожденности

Аннотация. Определение фенотипов гаптоглобина (Hr) и их связей с показателями гомеостаза организма имеет важное теоретическое и практическое значение, так как дает возможность проводить эффективный мониторинг состояния здоровья крупного рогатого скота, устанавливать хозяйственную ценность животных и перспективы их использования. Возможность однозначного определения фенотипов белка, их постоянство в течение жизни, независимость от условий среды, наследование в строгом соответствии с менделевским распределением стали основанием для их использования в качестве генетически обусловленных маркеров предрасположенности к тем или иным патологиям. Нами были установлены фенотипы Hr новорожденных телят голштинской красно-пестрой породы и его содержание в сыворотке крови на 1, 7, 14 и 28 сутки после рождения. Был проведен анализ лейкограмм животных в указанные сроки. Проанализированы связи между фенотипом гаптоглобина и показателями вариации долей лейкоцитов различных типов. Содержание Hr в сыворотке крови телят в первый месяц жизни составляло от 1,9 до 3,9 г/л. Изменений исследуемого показателя на протяжении 28 дней не было выявлено. Наиболее распространенным фенотипом Hr у телят красно-пестрой голштинской породы является Hr1-1. Лейкограмма периферической крови животных характеризовалась выраженной нейтропенией и лимфоцитозом, количество остальных типов лейкоцитов не выходило за границы возрастной нормы. Статистически достоверных различий лейкоцитарных формул у телят с фенотипами Hr1-1 и Hr2-1 не было выявлено. Гомозиготный фенотип Hr1-1 сопряжен с относительной нестабильностью лейкограммы в течение 1 месяца жизни; фенотип Hr2-1 — с большей устойчивостью показателей клеточного звена иммунитета. Таким образом, телята с фенотипом Hr2-1 должны демонстрировать иммунный ответ в рамках стандартной нормы реакции. У телят с фенотипом Hr1-1 может формироваться неадекватная силе и характеру воздействия реакция, поэтому они требуют индивидуального подхода и тщательного наблюдения в период новорожденности.

Ключевые слова: гаптоглобин; лейкоцитарная формула; лимфоциты; нейтрофилы; фенотип.

Авторы:

Калаева Елена Анатольевна — кандидат биологических наук, доцент кафедры биофизики и биотехнологии медико-биологического факультета; e-mail: kalaeva@gmail.com;

Землянухина Ольга Александровна — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник ботанического сада им. проф. Б. М. Козо-Полянского; e-mail: oz54@mail.ru;

Калаев Владислав Николаевич — доктор биологических наук, профессор кафедры генетики, цитологии и биоинженерии медико-биологического факультета; e-mail: dr_huixs@mail.ru;

Ефимова Ксения Андреевна — аспирант кафедры генетики, цитологии и биоинженерии медико-биологического факультета; e-mail: xenia.ephimova@gmail.com;

Черницкий Антон Евгеньевич — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патобиохимии; e-mail: cherae@mail.ru;

Каверин Николай Николаевич — кандидат биологических наук, ассистент кафедры физиологии человека и животных медико-биологического факультета; e-mail: deanery@bio.vsu.ru;

Двурекова Евгения Александровна — кандидат биологических наук, доцент кафедры медико-биологических, естественно-научных и математических дисциплин; e-mail: eugenia.dvurekova@yandex.ru;

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет», Россия, г. Воронеж, Университетская площадь, 1;

- ² Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Российской академии сельскохозяйственных наук, Россия, г. Воронеж, ул. Ломоносова, д.114, к. Б;
- ³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный институт физической культуры», Россия, г. Воронеж, ул. Карла Маркса, д. 59.

Введение. Белки в живых организмах выполняют все основные функции, кроме хранения и передачи наследственной информации.

Защитную функцию выполняют, главным образом, белки глобулиновой фракции сыворотки крови: α_1 , α_2 , β и γ -глобулины. α_2 -глобулины преимущественно включают белки острой фазы воспаления — α_2 -макроглобулин, гаптоглобин (Hr), церулоплазмин, аполипопротеин В. Белки «острой фазы» являются надежными индикаторами патологических процессов в организме: колебания их содержания менее подвержены влиянию факторов неинфекционной и нетравматической природы [1].

Гаптоглобин — гликопротеид α_2 -глобулиновой фракции белков сыворотки крови. Его основной функцией является образование комплексов с гемоглобином, высвобождающимся при гемолизе эритроцитов. Это предотвращает потери белка и железа и повреждение почек свободным Hb. Показано, что Hr и его комплексы с гемоглобином играют важную роль в контроле местных воспалительных процессов. Hr обладает высокой пероксидазной активностью, ингибирует катепсин В и модулирует активность и пролиферацию лейкоцитов в очаге воспаления [1]. Комплексообразование гемоглобина с Hr предотвращает стимуляцию последним пероксидного окисления липидов и образование гидроксильных радикалов в участках воспаления [2]. По мнению С. Г. Нехаева [3], высокий уровень Hr может защищать ткани от повреждающего действия избыточного количества протеиназ. Hr относят к природным бактериостатическим агентам при инфекциях, вызываемых Fe-зависимыми бактериями (например, *E. coli*) [4, 5, 6].

Hr встречается у позвоночных в виде нескольких молекулярных форм. Впервые это было установлено в 1946 г. M-F. Jayly и O. Judas [7]. У человека известны три основных (Hr1-1, Hr2-1 и Hr2-2) и около 20 редких типов гаптоглобина [8]. У лошади, собаки, крысы и кролика найдено только по одному типу этого гликопротеида; у свиней выявлено восемь генетически обусловленных типов Hr; у серебристо-черных и красных лисиц и цыплят найдено по 2, у рыб — 3 варианта Hr [8]. У крупного рогатого скота чаще всего обнаруживается 3 варианта гаптоглобина — Hr1-1; Hr2-2; Hr2-1 [9].

В состав молекулы гаптоглобина входят α - и β -субъединицы. β -субъединица имеет молекулярную массу около 40 кДа и идентична у всех фенотипов гаптоглобина. Полиморфизм белка обусловлен входящими в его состав α -субъединицами и степенью полимеризации. Молекула гаптоглобина Hr1-1 состоит из 2 субъединиц подтипа α_1 (молекулярная масса около 9 кДа) и 2 субъединиц β ($(\alpha_1\beta)_2$). Молекулы гаптоглобина Hr2-2 содержат до 6 субъединиц подтипа α_2 (молекулярная масса около 16 кДа) и 6 субъединиц β ($(\alpha_2\beta)_n$). В состав молекул Hr2-1 входят субъединицы обоих подтипов и субъединицы β ($(\alpha_1\beta)_2$) + ($(\alpha_2\beta)_n$) [10, 11].

Содержание Hr в сыворотке крови телят 1–3 месячного возраста составляет от 1,5 до 6,0 г/л [12]. Описаны случаи, когда Hr не обнаруживался у человека и животных в раннем возрасте и начинал синтезироваться по мере взросления или под действием некоторых специфических факторов [13].

В медицинской генетике особое внимание уделяется вопросу связи фенотипа белка с предрасположенностью к каким-либо заболеваниям [14, 15, 16, 17]. Возможность четкого определения фенотипов Hr у взрослых особей, их постоянство в течение жизни, независимость от условий среды, наследование в соответствии с менделевским распределением стали основанием для их использования в качестве генетически обусловленных маркеров предрасположенности к тем или иным патологиям [11, 14–18]. Так, например, при анализе фенотипов церулоплазмينا и гаптоглобина показано, что коровы с фенотипом СрВВ Hr2-2 обладают повышенной жизнеспособностью и длительным сроком хозяйственного использования [19], устойчивы к образованию кист яичников [9].

Таким образом, определение фенотипов Hr и их связей с другими показателями гомеостаза организма дает возможность проводить эффективный мониторинг состояния здоровья крупного рогатого скота, устанавливать их хозяйственную ценность и перспективы использования.

В связи с изложенным выше целью нашей работы явилось выявление связи фенотипов гаптоглобина с показателями лейкограммы телят в первый месяц жизни.

Материалы и методы исследования. Исследования проводили в ООО «Воронежпищепродукт»

Новоусманского района Воронежской области на телятах голштинской красно-пестрой породы. Всего было обследовано 30 голов.

Забор крови проводили на 1, 7, 14, 28-е сутки в утренние часы до кормления путем пункции яремной вены. Для забора крови использовали вакуумные пробирки без антикоагулянта для получения сыворотки крови, с ЭДТА-Na — для образцов цельной крови.

Концентрацию Нр в сыворотке крови определяли по образованию комплекса Нр-Нб при добавлении гемоглобина риваноловым методом [20].

Фенотипы гаптоглобина устанавливали с помощью выявления количества и положения зон пероксидазной активности на электрофореграммах. Проводили электрофорез образцов сыворотки крови в пластинах 7,5% ПААГ по стандартной методике Дэвиса при 4°C с последующим выявлением зон пероксидазной активности [21]. Окрашивающую смесь готовили по методу Х. С. Рафикова [22].

Лейкограмму периферической крови телят рассчитывали стандартным методом после окрашива-

ния мазков по Романовскому-Гимза. На каждом препарате анализировали не менее 200 клеток.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ «Stadia». Процедура группировки данных и их обработка изложены в нашей работе [23]. Сравнение медиан выборок осуществляли с использованием Х-критерия рангов Ван-дер-Вардена. Влияние факторов «тип гаптоглобина» и «день взятия пробы» на показатели лейкограммы рассчитывали с использованием двухфакторного дисперсионного анализа с фиксированным эффектом. Силу влияния факторов (%) определяли по Снедекору.

Результаты и обсуждение. Концентрация Нр в сыворотке крови телят колебалась от $1,9 \pm 1,0$ до $3,9 \pm 0,3$ г/л, статистически достоверных различий между образцами, взятыми в 1, 7, 14 и 28 суток жизни, не было выявлено (табл. 1). Полученные результаты не противоречат данным других авторов [12].

При электрофоретическом разделении белков сыворотки крови телят были идентифицированы фенотипы гаптоглобина Нр1-1, Нр2-1 и Нр2-2. Идентификация фенотипов белка была проведена по аналогии с таковой для гаптоглобина человека (рис. 1) [10, 21].

Наиболее часто встречающимся фенотипом был Нр1-1, представленный 2 ярко выраженными зонами пероксидазной активности. На электрофореграммах Нр2-1 было выявлено 3 отчетливых полосы (рис. 2). Особое место принадлежит Нр2-2. На некоторых дорожках геля не было обнаружено зон специфического окрашивания, однако перед проведением электрофореза гаптоглобин количественно определялся во всех образцах сыворотки риваноловым методом. Это позволило сделать предположение, что изоформы гаптоглобина типа 2-2 более чувствительны к условиям разделения, чем остальные фенотипы, и могут утрачивать функциональную активность в ходе эксперимента.

Таким образом, Нр типа 1-1 был идентифицирован у 56,7% (17 особей), Нр2-1 — у 30,0% (9 особей), Нр2-2 — у 13,3% (4 особи) из обследованной группы животных.

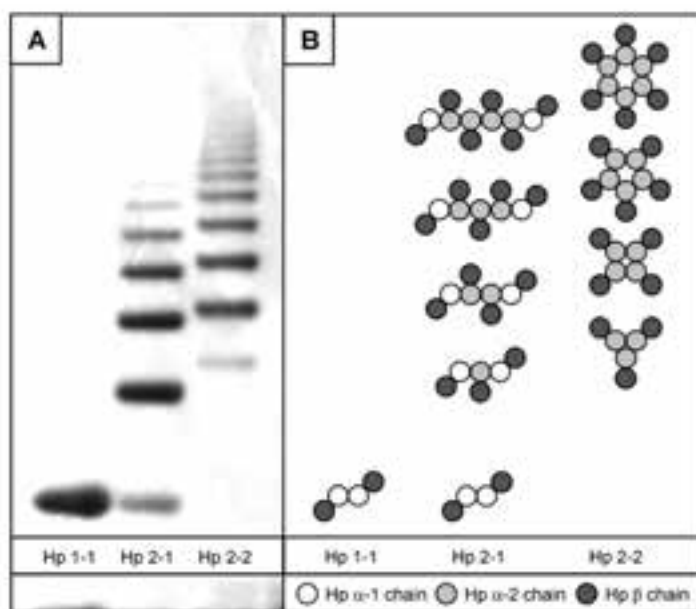


Рис. 1. Определение фенотипов гаптоглобина человека с помощью одномерного электрофореза в ПААГ [10, 11].

Обозначения: А — электрофореграммы гаптоглобинов Нр1-1, Нр2-1 и Нр2-2 человека; В — строение молекул гаптоглобина фенотипов Нр1-1, Нр2-1 и Нр2-2

Таблица 1. Содержание гаптоглобина в сыворотке крови телят голштинской красно-пестрой породы в первый месяц после рождения

Сутки после рождения	Содержание гаптоглобина (г/л)
1	$3,8 \pm 0,7$
7	$3,5 \pm 0,7$
14	$1,9 \pm 1,0$
28	$3,9 \pm 0,3$

Поскольку группа телят с фенотипом Нр2-2 была очень малочисленной (4 особи), из дальнейшего исследования она была исключена из-за невозможности проведения корректной статистической обработки, и взаимосвязь типов гаптоглобина и показателей лейкограммы была проанализирована только для животных с фенотипами Нр1-1 и Нр2-1. Результаты анализа лейкограмм телят в разные периоды новорожденности представлены в табл. 2.

У телят первого месяца жизни были отмечены нейтропения и лимфоцитоз. Количество моноцитов, базофилов и эозинофилов находилось в пределах возрастной нормы. В первые сутки наблюдения показатели лейкограммы телят с фенотипом Нр2-1 отличались большей вариабельностью по сравнению с таковыми особей с фенотипом Нр1-1. Доля лимфоцитов достоверно увеличивалась на 7–28 сутки, что сопровождалось снижением числа сегментоядерных нейтрофилов, у обеих групп животных. Статистически значимых различий между

количеством отдельных форм лейкоцитов у телят с Нр1-1 и Нр2-1 выявлено не было. Однако была обнаружена следующая закономерность: показатели лейкоцитарной формулы у животных с фенотипом Нр1-1 характеризовались большими коэффициентами вариации, чем аналогичные признаки у телят с фенотипом 2-1 (рис. 3) на 7, 14 и 28 сутки.

Динамика изменений в течение 28 суток относительного количества нейтрофилов и лимфоцитов у телят с фенотипом Нр1-1 носила более выраженный характер (рис. 4–6).

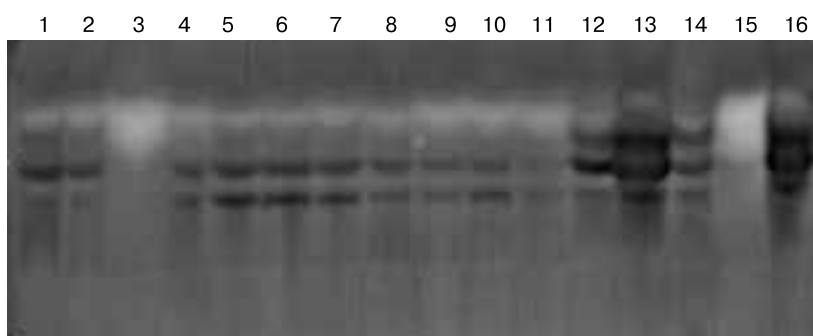


Рис. 2. Электрофореграммы гаптоглобинов сыворотки крови телят.

Обозначения: Нр1-1: дорожки 1, 2, 4-11; Нр2-1: дорожки 12-14, 16; Нр2-2: дорожки 3, 15

Таблица 2. Лейкограммы крови телят в динамике в период новорожденности

ТипНр	ПАН	САН	ЛФ	Мон	ЭФ	БФ
1 сутки						
Норма [24–26]	12-15	32-40	40-50	0-5	0-3	0-1
Нр1-1	7,7±1,0	29,3±1,9	59,8±2,3	1,0±0,3	1,9±0,7	0,2±0,1
Сv, %	58,96	29,59	17,53	132,94	157,34	309,97
Нр2-1	6,4±1,7	24,5±3,5	67,3±4,1	1,1±0,6	1,4±0,8	0,3±0,3
Сv, %	79,82	43,34	18,48	163,89	177,26	299,97
7 сутки						
Норма [24–26]	10-24	20-40	30-70	0-6	0-5	0-1
Нр1-1	3,5±0,6**	16,5±1,8***	77,4±2,0***	1,7±0,4	0,7±0,3	0,2±0,2
Сv, %	77,90	48,97	11,68	111,24	188,10	447,21
Нр2-1	3,5±0,8	15,3±1,8*	73,3±5,5	3,8±1,6	2,8±1,7	0
Сv, %	68,88	34,79	22,31	127,56	181,58	—
14 сутки						
Норма [24–26]	1-10	25-40	40-70	1-6	0-5	0-1
Нр1-1	3,4±0,7**	13,7±2,0***	80,9±2,6***	1,6±0,3	0,2±0,1	0
Сv, %	78,33	65,74	14,20	77,65	319,11	—
Нр2-1	4,1±2,6	14,4±2,6*	78,7±3,7*	1,9±0,7	1,1±0,6	0
Сv, %	63,20	53,55	14,15	115,09	153,70	—
28 сутки						
Норма [24–26]	1-10	25-40	40-70	1-6	0-5	0-1
Нр1-1	3,6±0,5**	15,1±1,7***	79,3±2,1***	1,1±0,3	1,9±0,8	0,1±0,1
Сv, %	65,97	51,59	11,81	116,65	181,92	447,21
Нр2-1	3,4±0,6	13,5±1,9*	82,3±2,8*	0,6±0,6	1,6±0,8	0
Сv, %	51,68	40,74	10,17	282,88	130,33	—

Примечания: * — различия с 1 сутками достоверны ($P<0,05$); ** — $P<0,01$; *** — $P<0,001$.

Двухфакторный дисперсионный анализ выявил влияние факторов «тип Нр» и «день взятия пробы» на показатели лейкоцитарной формулы (табл. 3).

Заключение. В отсутствие достоверно значимого повышения концентрации Нр в сыворотке крови телят в период наблюдения говорить о протекании острого воспалительного процесса не пред-

ставляется возможным, поэтому изменения некоторых показателей лейкограммы, вероятно, отражали процессы становления клеточного звена иммунитета в период новорожденности. Выявленное влияние фактора «фенотип Нр» на показатели лейкоцитарной формулы может свидетельствовать о том, что колебания величин исследуемых признаков происходили не только вследствие возрастных изменений, но и зависели от генетически запрограммированных факторов.

Животные с фенотипом Нр2-1 обладали большей стабильностью клеточного звена иммунитета в течение 1 месяца жизни. Телята с фенотипом Нр1-1 характеризовались меньшей внутригрупповой однородностью по показателям «содержание нейтрофилов» и «содержание лимфоцитов» на 7, 14 и 28 сутки обследования, колебания долей указанных клеток в течение периода наблюдения носили более выраженный характер. Таким образом, при отсутствии статистически значимых различий между средними значениями показателей лейкограммы, гомозиготный фенотип Нр1-1 сопряжен с относительной нестабильностью состояния клеточного звена иммунитета.

Возможно, что животные с фенотипом Нр1-1, обладая более широкой нормой реакции, будут проявлять лучшую приспособляемость к условиям внешней среды и быстрее реагировать на воздействие разного рода инфекционных агентов, так как их иммунная система способна перестраиваться быстрее и в более широких пределах. С дру-

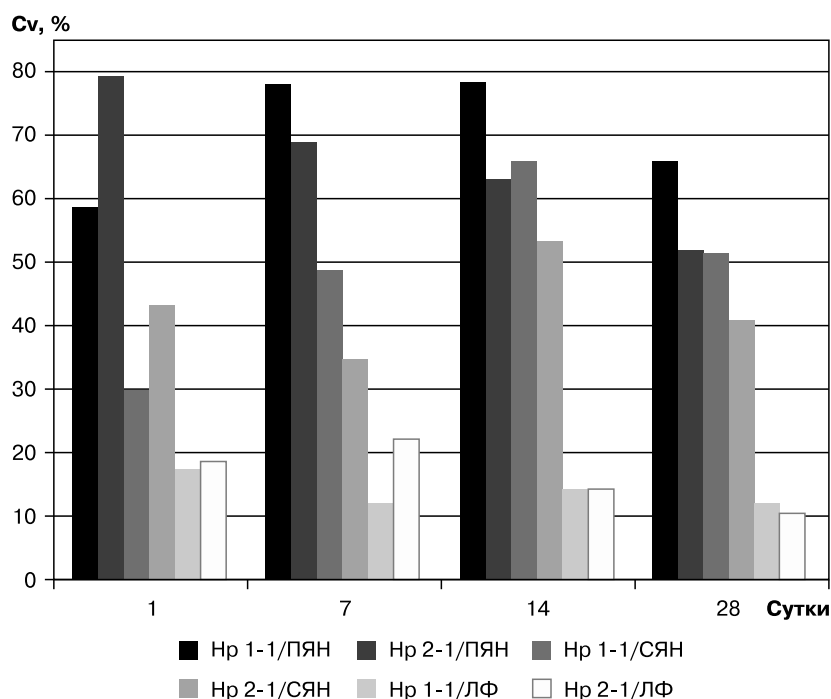


Рис. 3. Изменения коэффициентов вариации показателей лейкоцитарной формулы телят с Нрами типа 1-1 и 2-1.

Обозначения:

- Нр1-1/ПЯН — коэффициент вариации показателя «палочкоядерные нейтрофилы» у телят с Нр1-1;
- Нр2-1/ПЯН — коэффициент вариации показателя «палочкоядерные нейтрофилы» у телят с Нр2-1;
- Нр1-1/СЯН — коэффициент вариации показателя «сегментоядерные нейтрофилы» у телят с Нр1-1;
- Нр2-1/СЯН — коэффициент вариации показателя «сегментоядерные нейтрофилы» у телят с Нр2-1;
- Нр1-1/ЛФ — коэффициент вариации показателя «лимфоциты» у телят с Нр1-1;
- Нр2-1/ЛФ — коэффициент вариации показателя «лимфоциты» у телят с Нр2-1

Таблица 3. Влияние факторов «тип гаптоглобина» и «день взятия пробы» на лейкоцитарную формулу крови телят

Фактор	Показатель	Сила влияния, фактора, %	Значимость
Тип Нр	ЛФ	9,8%	P<0,001
	СЯН	9,7%	P<0,001
	ПЯН	9,8%	P<0,001
День взятия пробы	ЛФ	8,5%	P<0,001
	СЯН	8,0%	P<0,001
Межфакторное влияние	ЛФ	9,6%	P<0,01
	СЯН	9,3%	P<0,01
	ПЯН	9,7%	P<0,05

гой стороны, генетически детерминированная нестабильность клеточного звена иммунитета способна разбалансировать сложную многокомпонентную систему защиты в целом и может вызывать неадекватные реакции на внешние нейтральные воздействия (иммунодефицитные состояния, аллергические и аутоиммунные заболевания). Вероятно, телята с фенотипом Нр2-1 будут демонстрировать иммунный ответ в рамках стандартной нормы реакции, а у телят с фенотипом Нр1-1 может формироваться реакция, не соответствующая характеру и силе воздействия. Поэтому животные с фенотипом Нр1-1 требуют индивидуального подхода и тщательного наблюдения в период новорожденности, что практически неприемлемо в условиях крупных животноводческих хозяйств, хотя среди них могут быть отобраны особи, устойчивые к инфекционным заболеваниям.

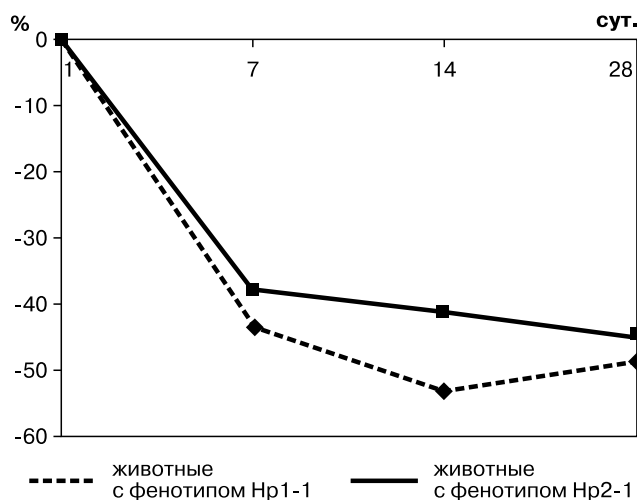


Рис. 5. Динамика изменения количества сегментоядерных нейтрофилов у телят в течение 1 месяца жизни

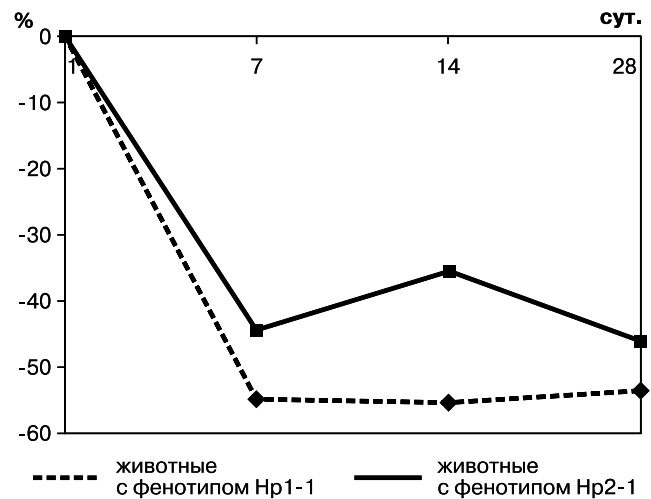


Рис. 4. Динамика изменения количества палочкоядерных нейтрофилов у телят в течение 1 месяца жизни

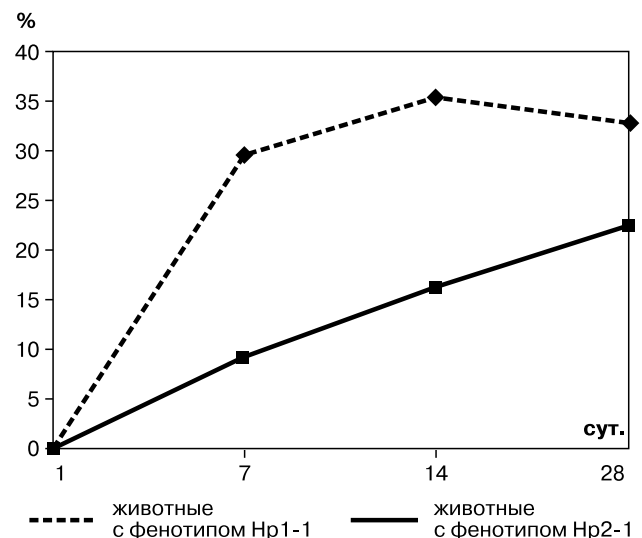


Рис. 6. Динамика изменения количества лимфоцитов у телят в течение 1 месяца жизни

Литература

1. Цитокины и белки острой фазы при тяжелом течении бактериальных менингитов у детей / Г. Ф. Железникова [и др.] // Российский иммунологический журнал. — 2016. — Т. 10(19), № 4. — С. 386–393.
2. Ярец Ю. И. Специфические белки: практическое пособие для врачей: в 2 частях. Часть I. Лабораторные тесты исследования специфических белков / Ю. И. Ярец. — Гомель : ГУ «РНПЦ РМиЭЧ», 2015. — 64 с.
3. Нехаев С. Г. Роль некоторых белков острой фазы в развитии интоксикационного синдрома / С. Г. Нехаев, Ю. И. Григорьев // Российский медико-биологический вестник им. академика И. П. Павлова. — 2009. — Т. 17. — № 2. — С. 1–5.
4. Верткин А. Л., Анемия: Руководство для практических врачей / А. Л. Верткин, Н. О. Ховасова, Е. Д. Ларюшкина. — М.: Эксмо, 2014. — 144 с.
5. Burtis C. A. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 7th Edition / C. A. Burtis, D. E. Bruns. — Saunders Elsevier Inc, 2015. — 1104 p.
6. Tietz Clinical guide to laboratory tests. 4th Edition / Ed. A. N. B. Wu. — USA: W. B. Saunders Company, 2006. — P. 1798.
7. Jayly M-F. Formule glycoproteidique du plasma sanguin / M-F. Jayly, O. Judas // Helv. Chim. Acta. — 1946. — V. 29. — P. 1310.

8. Бейсимбаева Р. У. Структурно-функциональная характеристика гаптоглобина овец: Дисс. ... д-ра биол. наук. Алма-Ата. 1984.
9. Ключникова Н. Ф., Ключникова Е. М., Ключников М. Т. Способ прогнозирования наследственной предрасположенности коров к образованию кист яичников: патент RU2255470.
10. Langlois M. R. Biological and clinical significance of haptoglobin polymorphism in humans / M. R. Langlois, J. R. Delanghe // *Clin Chem.*, 1996. — V. 42. — P. 1589–1600.
11. Haptoglobin phenotype is not a predictor of recurrence free survival in high-risk primary breast cancer patients / M.-C. W. Gast [et al.] // *BMC Cancer*, 2008. — Vol. 8. — P. 389. — URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2627917/> (дата обращения 04.10.2018).
12. Медведева М. А. Клиническая ветеринарная лабораторная диагностика. Справочник для ветеринарных врачей / М. А. Медведева. — М.: Аквариум-Принт, 2013. 416 с.
13. Полотнянко Л. И. Клиническая химия / Л. И. Полотнянко. — М.: Литрес, 2017. — 343 с.
14. Phenotypic polymorphism of haptoglobin: A novel risk factor for the development of infection in liver cirrhosis / Z. Vitalis [et al.] // *Human Immunology*. — 2011. — V. 72. — P. 348–354.
15. Wenzel S. Phenotypes and endotypes: emerging concepts on asthma heterogeneity. *Global Atlas of Asthma* / Ed. C. A. Akdis, I. Agache. — 2013. — P. 34–35.
16. Genetic analysis of haptoglobin polymorphisms with cardiovascular disease and type 2 diabetes in the diabetes heart study / J. N. Adams [et al.] // *Cardiovascular Diabetology*. — 2013. — V. 12, № 31. URL: <https://cardiab.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-2840-12-31> (дата обращения 04.10.2018).
17. Василевский И. В. Фенотипы гаптоглобина — биологические маркеры бронхиальной астмы / И. В. Василевский // *Международные обзоры: клиническая практика и здоровье*. — 2017. № 1. — С. 47–59.
18. Донник И. М. Поиск маркеров лейкоза крупного рогатого скота на основе цитогенетических исследований / И. М. Донник, О. В. Трофимов, И. В. Пак // *Ветеринария Кубани*. — № 1. — 2016. — электронный журнал. Режим доступа — <http://vetkuban.com> (дата обращения 17.09.2018).
19. Ключникова Н. Ф., Ключникова Е. М., Ключников М. Т. Способ прогнозирования жизнеспособности и продуктивного долголетия коров в условиях муссонного климата: патент RU 2308187.
20. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: в 2 т. / по ред. В. В. Долгова, В. В. Меньшикова. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012.
21. Землянухина О. А. Сравнительный анализ методов определения активности и изоферментного спектра пероксидаз различного происхождения / О. А. Землянухина, В. Н. Калаев, В. С. Воронина // *Успехи современного естествознания*. — 2017. — № 9. — С. 13–22.
22. Применение диск-электрофореза в линейном градиенте концентрации полиакриламидного геля для одновременного фракционирования суммарных белков сыворотки крови, гаптоглобинов и липопротеинов / Г. Х. Божко [и др.] // *Укр. биохим. журнал*. — 1983. — Т. 55. — № 3. — С. 318–324.
23. Калаева Е. А. Теоретические основы и практическое применение математической статистики в биологических исследованиях и образовании : учебник / Е. А. Калаева, В. Г. Артюхов, В. Н. Калаев; Воронежский государственный университет. — Воронеж: Издательский дом ВГУ, 2016. — 284 с.
24. Скорых Е. О. Обмен веществ у новорожденных телят в норме и при диспепсии. Дисс. канд. вет. наук. Барнаул, 2015. 126 с.
25. Морфологический состав крови новорожденных телят с низким адаптивным потенциалом / В. В. Роменский [и др.] // *Вестник МГОУ. Серия «Естественные науки»*. — 2014. — № 1. — С. 81–85.
26. Биологические основы ветеринарной неонатологии / Х. Б. Баймишев [и др.] — Самара: РИЦ СГСХА, 2013. — 452 с.

Kalaeva E.¹, Zemlyanukhina O.¹, Kalaev V.¹, Efimova K.¹, Chernitskiy A.², Kaverin N.¹, Dvurekova E.³

Haptoglobin phenotypes as markers of the stability of cellular immunity in calves in the newborn period

Abstract. *The determination of haptoglobin (Hp) phenotypes and their relationships with the indices of the homeostasis of the organism is of great theoretical and practical importance, since it makes it possible to conduct effective monitoring of the health status of cattle, to establish their economic value and prospects for use. The possibility of unambiguous determination of protein phenotypes, their constancy throughout life, independence from environmental conditions, and inheritance in strict accordance with the Mendelian distribution became the basis for their use as genetically determined markers of susceptibility to certain pathologies. We established the Hp phenotypes of newborn calves of Holstein red-motley breed and its content in blood serum at 1, 7, 14 and 28 days after birth. The analysis of leukograms in the specified time frame was performed. The relationships between haptoglobin phenotype and indices of variation in the leukocytes of various types were analyzed. The content of Hp in the serum of calves in the first month of life ranged from 1.9 to 3.9 g/l. Changes in the studied index for 28 days were not identified. The most common Hp phenotype in red-motley Holstein calves is Hp1-1. The leukogram of the peripheral blood of animals was characterized by severe neutropenia and lymphocytosis, the number of other types of leukocytes did not go beyond the age norm. No statistically significant differences in leukocyte formulas in calves with phenotypes Hp1-1 and Hp2-1 were found. Homozygous phenotype Hp1-1 is associated with relative instability of leukogram during the 1st month of life; phenotype Hp2-1 — with greater stability of leukogram indicators. Thus, calves with the Hp2-1 phenotype should demonstrate an immune response within the standard reaction rate. In calves with the Hp1-1 phenotype, reaction that is inadequate to the strength and nature of the impact may be formed; therefore, they require an individual approach and careful observation during the neonatal period.*

Keywords: haptoglobin; leukocyte formula; lymphocytes; neutrophils; phenotype.

Authors:

Kalaeva E. — Ph.D. (Biol. Sci.), assistant professor of the Department of Biophysics and Biotechnology; e-mail: kalaevae@gmail.com (corresponding author);

Zemlyanukhina O. — Ph.D. (Biol. Sci.), Leading Research Scientist of the botanical garden named by prof. B. M. Kozo-Polyanskiy; e-mail: oz54@mail.ru;

Kalaev V. — Dr. Habil (Biol. Sci.), professor of the Genetic, Cytology and Bioengineering Department; e-mail: Dr_Huixs@mail.ru;

Efimova K. — post-graduate student of the Genetic, Cytology and Bioengineering Department; e-mail: xenia.ephimova@gmail.com;

Chernitskiy A. — Ph.D. (Biol. Sci.), Senior Research Scientist of the Laboratory of Pathological Biochemistry; e-mail: cherae@mail.ru;

Kaverin N. — Ph.D. (Biol. Sci.), Assistant of the Department of Human and Animal Physiology, e-mail: deanery@bio.vsu.ru;

Dvurekova E. — Ph.D. (Biol. Sci.), assistant professor of the Department of Medical and Biological, Natural-scientific and Mathematical Disciplines; e-mail: eugenia.dvurekova@yandex.ru.

¹ Voronezh State University, Russia, Voronezh, University sq., 1;

² State Scientific Institution All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Russia, Voronezh, Lomonosov str., 114, bild. B;

³ Voronezh State Institute of Physical Culture, Russia, Voronezh, Karl Marx str., 59.

References

1. Cytokines and proteins of the acute phase in the severe course of bacterial meningitis in children / G. F. Zheleznikova [et al.] // Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal. — 2016. — Vol. 10(19), № 4. — P. 386–393.
2. Yarets Yu. I. Specific proteins: a practical guide for doctors: in 2 parts. Part I. Laboratory tests for the study of specific proteins / Yu. I. Yarets. — Gomel: State Institution «RSPC RMiECh», 2015. — 64 p.

3. Nekhaev S. G. Role of some acute phase proteins in the development of intoxication syndrome / S. G. Nekhaev, Yu. I. Grigor'ev // Rossiiskii mediko-biologicheskii vestnik im. akademika I. P. Pavlova. — 2009. — Vol. 17. — № 2. — P. 1–5.
4. Vertkin A. L. Anemia: A guide for practitioners / A. L. Vertkin, N. O. Khovasova, E. D. Laryushkina. — M.: Eksmo, 2014. — 144 p.
5. Burtis C. A. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 7th Edition / C. A. Burtis, D. E. Bruns. — Saunders Elsevir Inc, 2015. — 1104 p.
6. Tietz Clinical guide to laboratory tests. 4-th ed. / Ed. A. N. B. Wu. — USA: W. B. Saunders Company, 2006. — P. 1798.
7. Jayly M-F. Formule glycoproteidique du plasma sanguin / M-F. Jayly, O. Judas // Helv. Chim. Acta. — 1946. — Vol. 29. — P. 1310.
8. Beisimbaeva R. U. Structural and functional characteristics of sheep haptoglobin: dissertation for the degree of Doctor of Sciences in Biology. Alma-Ata. 1984.
9. Klyuchnikova N. F., Klyuchnikova E. M., Klyuchnikov M. T. A method for predicting the hereditary predisposition of cows to the formation of ovarian cysts: patent RU2255470.
10. Langlois M. R. Biological and clinical significance of haptoglobin polymorphism in humans / M. R. Langlois, J. R. Delanghe // Clin. Chem., 1996. — Vol. 42. — P. 1589–1600.
11. Haptoglobin phenotype is not a predictor of recurrence free survival in high-risk primary breast cancer patients / M.-C. W. Gast [et al.] // BMC Cancer, 2008. — Vol. 8. — P. 389. — Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2627917/> (accessed 04.10.2018).
12. Medvedeva M. A. Clinical veterinary laboratory diagnostics. Handbook for veterinarians / M. A. Medvedeva. — M.: Aquarium-Print, 2013. — 416 p.
13. Polotnyanko L. I. Clinical chemistry / L. I. Polotnyanko. — M.: Liters, 2017. — 343 p.
14. Vitalis Z. Phenotypic polymorphism of haptoglobin: A novel risk factor for the development of infection in liver cirrhosis / Z. Vitalis [et al.] // Human Immunology. — 2011. — Vol. 72. — P. 348–354.
15. Wenzel S. Phenotypes and endotypes: emerging concepts on asthma heterogeneity. Global Atlas of Asthma / Ed. C. A. Akdis, I. Agache. — 2013. — P. 34–35.
16. Genetic analysis of haptoglobin polymorphisms with cardiovascular disease and type 2 diabetes in the diabetes heart study / J. N. Adams [et al.] // Cardiovascular Diabetology. — 2013. — V. 12, № 31. URL: <https://cardiab.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-2840-12-31> (дата обращения 04.10.2018).
17. Vasilevsky I. V. The haptoglobin phenotypes — biological markers of asthma / I. V. Vasilevsky // International reviews: clinical practice and health. — 2017. — № 1. — P. 47–59.
18. Donnik I. M. Search for markers of leukemia of cattle on the basis of cytogenetic studies / I. M. Donnik, O. V. Trofimov, I. V. Pak // Veterinariya Kubani. — № 1. — 2016. — Available at: <http://vetkuban.com> (accessed 17.09.2018).
19. Klyuchnikova N. F., Klyuchnikova E. M., Klyuchnikov M. T. The way to predict the viability and productive longevity of cows in a monsoon climate : patent RU 2308187.
20. Clinical laboratory diagnostics: national leadership: in 2 vol. / Ed. V. V. Dolgov, V. V. Menshikov. — M.: GEOTAR-Media, 2012.
21. Zemlyanukhina O. A. Comparative analysis of methods for determining the activity and isozyme spectrum of peroxidases of different origin / O. A. Zemlyanukhina, V. N. Kalaev, V. S. Voronina // Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya. — 2017. — № 9. — P. 13–22.
22. The use of disk-electrophoresis in linear gradient of the concentration of polyacrylamide gel for simultaneous fractionation of total proteins of blood serum, haptoglobins and lipoproteins / G. Kh. Bozhko [et al.] // Ukr. biokhim. zhurnal. — 1983. — Vol. 55. — № 3. — P. 318–324.
23. Kalaeva E. A. Theoretical bases and practical application of mathematical statistics in biological research and education: a textbook / E. A. Kalaeva, V. G. Artyukhov, V. N. Kalaev; Voronezh State University. — Voronezh: Publishing house VSU, 2016. — 284 p.
24. Skorykh E. O. Metabolism in newborn calves is normal and with dyspepsia dissertation for the degree of PhD in veterinary / E. O. Skorykh. — Barnaul, 2015. 126 p.
25. Morphological composition of blood of newborn calves with low adaptive potential / V. V. Romenskii [et al.] // Vestnik MGOU. Seriya «Estestvennye nauki». — 2014. — № 1. — P. 81–85.
26. Biological basis of veterinary neonatology / Kh. B. Baimishev [et al.] — Samara: RITs SGSKhA, 2013. — 452 p.