

УДК 619:618:591.2:577.175.1

**ПАРАЩЕНКО І.В.**, канд. вет. наук  
*Сумський національний аграрний університет*

## **УМІСТ ІНТЕРЛЕЙКІНУ-1 ТА ІНТЕРЛЕЙКІНУ-4 У КРОВІ КОРІВ ЗА РІЗНИХ СТАДІЙ СТАТЕВОГО ЦИКЛУ ТА СТАНУ СТАТЕВОЇ ФУНКЦІЇ**

У статті проаналізовано динаміку інтерлейкіну-1 та інтерлейкіну-4 в крові корів дослідних господарств під час прояву статевої циклічності, а також залежно від стану статевої функції. Показана роль інтерлейкіну-1 та інтерлейкіну-4 в механізмі формування стадії збудження. Встановлена достовірна різниця їх показників у крові корів під час різних стадій і феноменів статевого циклу, а також виявлена достовірна різниця їх рівня відносно стану статевої функції.

**Ключові слова:** корова, стадія збудження, статева охота, ендометрит, затримання посліду, інтерлейкін-1, інтерлейкін-4.

**Постановка проблеми.** Ендометрій корів протягом статевого циклу зазнає істотної тканинної перебудови, яка супроводжується швидкими змінами його клітинної маси та функціональної активності. Регуляторами цих процесів є гормони, що діють через тканинні фактори росту та цитокіни [1].

За умов фізіологічної перебудови ендометрію упродовж статевого циклу, в результаті гормонального впливу, виникає каскад цитокінових реакцій, через які відбувається специфічна регенерація функціонального шару слизової оболонки матки. Саме цитокінові реакції через прямі клітинні контакти забезпечують координаційну взаємодію складових компонентів ендометрію протягом естрального циклу, тоді як розлади їх взаємодії зумовлюють дисфункцію статевої циклічності [2, 3].

Оскільки цитокіни виконують роль регуляторів молекулярних механізмів проліферації та диференціювання тканин ендометрію, то виникає виправдана зацікавленість щодо вивчення цитокінового профілю крові у корів за різних стадій статевого циклу.

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Морфогенез фізіологічної перебудови ендометрію під час статевого циклу ініціюється факторами росту й цитокінами, через координацію між-клітинної взаємодії, що забезпечує збалансовану дію гормонів і простагландинів [1, 2].

Система цитокінів відіграє важливу роль у міжклітинній взаємодії ендометрію та визначає повноцінність нідації зиготи, оскільки під впливом специфічних антигенів у тканинах слизової оболонки матки відбувається диференціювання Т-лімфоцитів на дві субпопуляції: Т-лімфоцити I і II класів (Th-1 і Th-2), що продукують окремі класи цитокінів. Th-1 синтезують переважно прозапальні цитокіни: інтерлейкін-1, фактор некрозу пухлин, які беруть участь у диференціюванні та рості клітин імунного захисту, тоді як Th-2 синтезують інтерлейкіни-4, 5, 10, що забезпечують гуморальну реакцію, гемопоез, ангиогенез [3–5].

В ендометрії інтерлейкін-1 секретується макрофагоцитами та епітеліальними клітинами і бере участь у специфічній імунній відповіді організму, є одним із головних медіаторів запальної реакції, індукує трансформацію епітеліальних клітин та стромальних фібробластів ендометрію в децидуальні клітини під час підготовки до імплантації [5].

Зв'язування інтерлейкіну-1 із рецепторами клітин материнської плаценти забезпечує нідацію зиготи через підвищення адгезивних властивостей трофобласту, проліферацію клітин плацентарного бар'єру, ембріогенез, збільшує відсоток зигот, які досягають стадії бластоцисти [6].

Також інтерлейкін-1 здатен стимулювати процес синтезу стероїдних гормонів та простагландинів ендометрію, а його гіперпродукція – ініціювати процес передчасного відторгнення плода. Зокрема, з'ясовано, що збільшення секреції інтерлейкіну-1 $\alpha$ , за одночасного зниження рівня інтерлейкіну-1 $\beta$ , ініціює розвиток спонтанного аборту, оскільки інтерлейкін-1 $\beta$  є проангіогенним цитокіном і його дефіцит зумовлює порушення гестації за рахунок неповноцінності кровоносних судин плаценти [7, 8].

Інтерлейкін-4 належить до протизапальних цитокінів, а його головна функція полягає у контролі проліферації, диференціювання та функції В-лімфоцитів.

Імуногістохімічними дослідженнями було з'ясовано, що інтерлейкін-4 міститься у фагоцитах строми ендометрію й активно регулює проліферацію стовбурових клітин індукуванням мітогенактивованих протеїнкіназ. Останні здійснюють передачу внутрішньоклітинного сигналу, який стимулює диференціювання клітин, зміни метаболізму, апоптозу та лютеїнові клітини до інкреції прогестерону [9].

Відомо, що нідація зиготи відбувається за умов експресії прозапальних цитокінів – інтерлейкіну-1, 6, фактору некрозу пухлин, проте надалі вагітність перебігає фізіологічно в разі зміщення цитокінового балансу в бік імуносупресорних цитокінів (інтерлейкін-4, 10), оскільки останні інгібують реакції клітинного імунітету [10–12].

Водночас, рівень інтерлейкіну-4 за фізіологічної вагітності різко знижується, на відміну від вагітності, яка перебігає патологічно й завершується абортom. Значне підвищення рівня інтерлейкіну-4 свідчить про порушення периферійної толерантності й зміщення локальної імунної відповіді в бік Th-1, що зумовлює неплідність [5].

Оцінка рівня цитокінів сироватки крові (прозапального інтерлейкіну-1 та регуляторного інтерлейкіну-4, що є індуктором активації клітинного ланцюга імунної системи), відображає динаміку міжклітинної взаємодії та характер патологічного процесу. Гіперфункція Th-1 може спричинити порушення міжклітинної взаємодії та як наслідок – неплідність через надмірно виражений розвиток запальної реакції ендометрію під час стадії збудження [13, 14]. Отже, фізіологічна нідація зиготи можлива за умов врівноваження імуномодулювальних та імуносупресивних ефектів ендометрію, в реалізації яких беруть безпосередню участь компоненти цитокінової системи і, зокрема інтерлейкін-1 та інтерлейкін-4 [14, 15].

Дослідження сироваткового співвідношення інтерлейкіну-1 та інтерлейкіну-4 доводять, що цитокіновий баланс є прогностичним показником оцінки перебігу вагітності. За умов збільшення концентрації інтерлейкіну-1 на тлі зниження інтерлейкіну-4 виникає звичний аборт, тоді як корекція цього співвідношення в бік зниження концентрації інтерлейкіну-1 на тлі збільшення інтерлейкіну-4 зумовлює ініціацію вагітності [16, 17].

**Мета і завдання дослідження** – визначити зміни вмісту інтерлейкіну-1 та інтерлейкіну-4 в сироватці крові корів за різних стадій статевого циклу, оскільки з'ясування особливостей експресії цих цитокінів залежно від статевої циклічності і відповідно проліферативної перебудови ендометрію дозволить розробити обґрунтовані методи корекції статевої функції.

**Матеріал і методика дослідження.** Дослідження проводились у ВАТ ПЗ «Михайлівка» Лебединського району Сумської області на коровах чорно-рябої та швіцької порід, а також в СФГ «Віталія» Буринського району Сумської області на коровах симентальської та бурої мо-лочних порід.

З метою визначення динаміки інтерлейкіну-1 та інтерлейкіну-4 у сироватці крові корів за різних стадій статевого циклу тварини віком 3–10 років були поділені на групи. До 1-ї групи (n=11) увійшли корови, в яких реєстрували охоту (прояв рефлексу нерухомості), 2-ї (n=20) – тварини на 7–8-й день статевого циклу (формування жовтого тіла), а до 3-ї (n=19) – корови на 17–18-й день (початок стадії збудження наступного статевого циклу). Окрім цього, нами було сформовано дві групи клінічно здорових корів, що мали в анамнезі метрит (n=17) та затримання посліду (n=14) і знаходились у стані анафродизії.

У сироватці крові тварин дослідних груп визначали концентрацію інтерлейкіну-1 (IL-1) та інтерлейкіну-4 (IL-4) методом твердофазного імуноферментного *ELISA* аналізу з використанням тест-системи *Peninsula laboratories Inc (USA)*. Отриманий цифровий матеріал оброблено методами варіаційної статистики із використанням параметричного t-критерію Стьюдента.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Дані, наведені в таблиці 1, свідчать, що вміст інтерлейкіну-1 у сироватці крові корів під час охоти був вірогідно більшим на 52,8 % (p<0,01), порівняно з 7–8 добою, та на 49,1 % (p<0,01) у тварин відносно 17–18 доби статевого циклу. Не було виявлено вірогідної різниці у тварин із передбачуваною стадією збудження порівняно з показником 7–8-го дня статевого циклу.

Зростання вмісту інтерлейкіну-1 в сироватці крові корів під час охоти пояснюється тим, що він індукує трансформацію епітеліальних клітин та стромальних фібробластів ендометрія в децидуальні клітини під час підготовки до імплантації через активацію біосинтезу естрогенів та інших стероїдних гормонів [6, 7], що в цілому деталізує процес ремоделювання міжклітинного матриксу під час охоти та оптимізує умови для нідації зиготи [8].

Таблиця 1 – Динаміка вмісту інтерлейкіну-1 та інтерлейкіну-4 у сироватці крові корів за різних стадій статевого циклу

Показ-ники	Клінічно здорові			Тварини, що перехворіли		P <sub>1</sub> <	P <sub>2</sub> <	P <sub>3</sub> <	P <sub>4</sub> <	P <sub>5</sub> <
	Статева охота (n=11) (1 група)	7–8 доба статевого циклу (n=20)	17–18 доба статевого циклу (n=19)	на ендометрит (n=17)	Затримання посліду (n=14)					
IL-1, pg/ml	1693,4±123,8	798±83,1	861,7±65,3	826,6±226,9	914,1±294,3	0,001	0,001	0,5	0,01	0,01
IL-4, pg/ml	84,9±5,8	63,03±7,3	34,8±2,4	35,6±12,6	38,44±13,8	0,5	0,001	0,01	0,01	0,05

**Примітки:** p<sub>1</sub> – I група порівняно із 2-ю; p<sub>2</sub> – I група порівняно із 3-ю; p<sub>3</sub> – II група порівняно із 3-ю групою; p<sub>4</sub> – I група порівняно із групою корів, що перехворіли на ендометрит; p<sub>5</sub> – I група порівняно з групою корів, що мали затримання посліду.

За даними С. Simon [6], зростання інтерлейкіну-1, як і фактору некрозу пухлин, спостерігається під час формування жовтого тіла, тобто на початку стадії гальмування, тоді як G.C. Fantuzzi [18] вказує на максимальне збільшення IL-1 в ендометрії під час фолікулярної фази.

Водночас, нашими попередніми дослідженнями [19] було встановлено, що за жовтого тіла та в період передбачуваної стадії збудження в сироватці крові уміст іншого прозапального цитокіну – фактору некрозу пухлин, навпаки, зазнає істотного зростання відносно показника корів під час охоти, що, очевидно, пов'язане із функціональною перебудовою та ремоделюванням ендометрію за цієї стадії статевого циклу.

Відсутність вірогідної різниці вмісту інтерлейкіну-1 у тварин на 17–18-ту добу статевого циклу, порівняно із показником 7–8-го дня, на нашу думку, характеризує згасання в цей час притаманної ендометрію тимчасової запальної реакції під час охоти й зміщення цитокінового балансу в сторону імуносупресорних цитокінів, що створює оптимальні умови для нідації зиготи.

Уміст інтерлейкіну-1 у тварин, що мали затримання посліду і перехворіли ендометритом, був вірогідно нижчим на 49,1 (p<0,01) та 46,0 % (p<0,01) відповідно за аналогічний показник корів в охоті. Це пояснюється відсутністю індукції трансформації епітеліальних клітин та стромальних фібробластів ендометрія в децидуальні клітини, а відтак підготовки його до нідації [11, 12].

Тенденція до зростання рівня інтерлейкіну-1 в сироватці крові тварин, що перехворіли на ендометрит та затримання посліду, порівняно із показником корів під час формування жовтого тіла на 3,5 та 12,7 %, відповідно, на нашу думку, пояснюється процесами дезорганізації сполучнотканинного матриксу ендометрія, що певно підтверджується зниженням концентрації в плазмі крові сполучнотканинних маркерів – глікопротеїнів та глікозаміногліканів [20]. Інтерлейкін-1 завдяки своїй здатності до стимулювання експресії генів рилізінг-факторів впливає на гомеостаз підвищенням рівня кортикотропін-рилізінг-фактора, адренкортикотропного гормону та інших. Вивільнення гіпоталамічних моноамінів та нейропептидів під впливом ендogenous інтерлейкіну-1 зумовлює порушення синтезу гонадотропних та статевих гормонів, що зумовлює стан анафродизії [21].

Уміст інтерлейкіну-4 у сироватці крові корів під час охоти лише проявляв тенденцію до зростання відносно 7–8-ї доби статевого циклу на 25,8 %, проте був вірогідно більшим на 59 % (p<0,01) відносно показника тварин на 17–18-ту добу статевого циклу. Вірогідну різницю реєстрували також у тварин із передбачуваним проєструсом, порівняно з показником 7–8 дня статевого циклу (зниження рівня інтерлейкіну-4 на 44,8 %).

Зростання вмісту інтерлейкіну-4 у сироватці крові корів під час охоти можна пояснити тим, що цей цитокін здійснює інгібуючу дію відносно прозапальних цитокінів, кількість яких в цей час істотно збільшується, чим оптимізує умови для нідації зиготи [13, 14].

Рівень інтерлейкіну-4 у тварин, що перехворіли на ендометрит та затримання посліду, був нижчим на 58,0 та 54,75 % відносно аналогічного показника корів під час охоти. Це, очевидно, пов'язано з відсутністю активної проліферації та диференціації клітин слизової оболонки матки, а також низькою здатністю ендометрію до нідації [12–14].

Нами також визначався індекс співвідношення між інтерлейкіном-1 та інтерлейкіном-4 як умовний інтегральний показник тканинного балансу прозапальних та протизапальних інтерлейкінів та є об'єктивним критерієм для прогнозування типу регенерації тканини [22, 23]. У разі виникнення їх локального дисбалансу механізм регенерації зазнає патофізіологічного зсуву й зумовлює дефекти тканинної ремодуляції [24].

Встановлено, що співвідношення між інтерлейкіном-1 та інтерлейкіном-4 під час охоти в корів становить 0,05, тоді як на 17–18-ту добу статевого циклу – 0,08, а під час формування жовтого тіла – 0,04. Таким чином, наведені зміни співвідношення інтерлейкінів у сироватці крові корів деталізують процес регенеративно-відновлювальних реакцій ендометрія та відображають його функціональну активність за різних стадій статевого циклу [23].

Співвідношення інтерлейкіну-1 та інтерлейкіну-4 в сироватці крові тварин, що перехворіли на ендометрит та затримання посліду, становив 0,04 для обох груп корів та був вищим у 2 рази за аналогічний показник на 7–8-му добу статевого циклу у корів, які не мали в анамнезі акушерської патології, що, очевидно, пов'язано з істотним зниженням метаболічної та секреторної активності ендометрія в постморбідному періоді, а відтак і відсутністю регенеративно-відновлювальних реакцій ендометрія.

Таким чином, перспективою подальших досліджень є необхідність з'ясувати роль інтерлейкіну-1 та інтерлейкіну-4 за розвитку неплідності корів та розробки обґрунтованих методів корекції статевої циклічності корів.

**Висновки.** 1. Під час охоти через активацію біосинтезу стероїдних клітин ендометрія спостерігається максимальне зростання концентрації інтерлейкіну-1 та інтерлейкіну-4 у сироватці крові корів.

2. У корів, що перехворіли на ендометрит і затримання посліду та знаходяться в стані анафродизії, рівень інтерлейкіну-1 та інтерлейкіну-4 у сироватці крові залишається істотно нижчим відносно показника корів під час статевої охоти, що, очевидно, пов'язане зі зниженням метаболічної та секреторної активності ендометрія в постморбідному періоді.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Останин А.А. Роль цитокинов в регуляції репродуктивної функції / А.А.Останин, Б.И. Айзинович, И.В. Айзинович // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2007. – Вып. 143, № 1. – С. 81–85.
2. Никитина Л.А. Роль матричных белков, цитокинов и факторов ангиогенеза маточно-плацентарного комплекса в регуляции имплантации и плацентации / Л.А. Никитина, Е.М. Демидова, В.Е. Радзинский // Акушерство и гинекол. – 2007. – № 3. – С. 5–10.
3. Orsi N.M. Murine serum cytokines throughout the estrous cycle, pregnancy and post – partum period / N.M. Orsi, N.J. Gopichandran, U.V. Ekbote // Anim. Reprod. Sci. – 2005. – Vol. 96. – P. 5–12.
4. High and low BMI increase the risk of miscarriage after IVF/ICSI and FET / Veleva Z., Tiitinen A., Vilska S. [et al.] // Human Reproduction – 2008. – Vol. 23. – P. 878–884.
5. Bornstein S.R. Cytokines and steroidogenesis / S.R. Bornstein, H.I. Rutkowski, I.R. Vrezas // Mol Cell Endocrinol. – 2004. – Vol. 215, № 1–2. – P. 135–141.
6. Simon C. The immune mediator interleukin-1 receptor antagonist (IL-1ra) prevents embryonic implantation / [C. Simon, A. Frances, G. Piquette et al.] // Endocrinology. – 1994. – Vol. 134. – P. 521–528.
7. Klentzeris L. The endometrial profile of women with recurrent implantation failure following embryo transfer in an IVF programme / L. Klentzeris, V. Moran, R. Turner // Human Reproduction. – 1997. – Vol. 12. – P. 35–43.
8. Kauma S.W. Cytokines in implantation / S.W. Kauma // J. Reprod. Fert. Suppl. – 2000. – Vol. 55. – P. 31–42.
9. Krasnow J.S. Implantation and early pregnancy: Endometrial Th2 cytokine expression throughout the menstrual cycle and early pregnancy / J.S. Krasnow // Human Reproduction. – 1996. – Vol. 11. – P. 1747–1754.
10. Itzkowitz S.H. Colorectal cancer in inflammatory bowel disease: the role of inflammation / S.H. Itzkowitz // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 2004. – Vol. 287. – P. 7–17.
11. Nasu K. Effects of interleukin-4 on the in-vitro production of cytokines by human endometrial stromal cells / [K. Nasu, T. Sugano, K. Fujisawa et al.] // Molecular human reproduction. – 2001. – Vol. 7 – P. 265–270.
12. Casart Y. Serum levels of interleukin-6, interleukin-1beta and human chorionic gonadotropin in pre-eclamptic and normal pregnancy / Y. Casart, K. Tarrazzi, M. Camejo // Gynec Endocr. – 2007. – Vol. 23. – P. 300–320.
13. Савченко Т.Н. Цитокиновый профиль и активность нейтрофильной эластазы у женщин с невынашиванием беременности и наличием генитального кандидоза на ранних сроках гестации / Т.Н. Савченко, М.Х. Точиева, Л.О. Протопопова // Российский вестник акушера-гинеколога. – Москва. – 2007. – Т.7, № 4. – С. 3–5.
14. Sakumoto R. Expression of mRNAs for interleukin-4, interleukin-6 and their receptors in porcine corpus luteum during the estrous cycle / R. Sakumoto, T. Komatsu, E. Kasuya [et al.] // Domest. Anim. Endocrinol. – 2006. – Vol. 31 (3). – P. 246–257.
15. Маринкин И.О. Влияние предгравидарной подготовки на профиль цитокинов и состояние эндометрия у пациенток с привычным невынашиванием беременности / И.О. Маринкин, Н.А. Илизарова, В.М. Кулешов // Материалы III Междуна. конгресса по репродуктивной медицине. – Москва, 2009. – С. 100.
16. Андосова Л.Д. Уровни цитокинов как фактор прогнозирования течения беременности / [Л.Д. Андосова, К.Н. Конторщикова, Н.Ю. Каткова и др.] // Нижегородский мед. журнал. – 2006. – № 6. – С. 118–120.
17. Лысенко О.В. Оценка секреции провоспалительных цитокинов, sFas-лиганда и диагностической ценности ультразвукового исследования при гиперпластических процессах мио- и эндометрия / О.В. Лысенко, С.Н. Занько // Вестн. С.-Петерб. ун-та. – С-Пб., 2012. – Вып. 3. – С. 47–54.
18. IL-18 regulation of IFN-gamma production and cell proliferation as revealed in interleukin-1β converting enzyme-deficient mice / G.C. Fantuzzi, A.J. Puren, M.W. Livingston [et al.] // Blood. – 1998. – Vol. 91. – P. 2118–2132.
19. Парашенко І.В. Вміст фактору некрозу пухлин у крові корів за різних стадій статевого циклу та стану статевої функції / І.В. Парашенко, М.І.Харенко, В.Й. Любецький // Вет. медицина України. – 2012. – № 7. – С. 34–36.

20. Паращенко І.В. Динаміка гексоз, сполучених із білком, глікозаміногліканів та глікопротеїнів у плазмі крові корів за різних стадій статевого циклу та стану статевої функції / І.В. Паращенко // Вісник Сумськ. нац. аграр. ун-ту. – Суми, 2011. – № 2 (29). – С. 116–119.

21. Сімрок В.В. Взаємовідносини між цитокінами та гіпофізарно-яєчниковою системою у хворих з доброякісними процесами матки / В.В. Сімрок // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології: зб. наук. праць. – Київ-Луганськ-Харків, 1999. – Вип. 4 (24). – С. 302–311.

22. Лазоренко А.Б. Уміст інтерлейкіну-1 та інтерлейкіну-4 у сполучнотканинних утвореннях копит коней за ортопедичної патології / А.Б. Лазоренко // Вісник Сумськ. нац. аграр. ун-ту. – Суми, 2011. – № 2 (29). – С. 136–139.

23. Козлов В.А. Некоторые аспекты проблемы цитокинов / В.А. Козлов // Цитокины и воспаление. – 2002. – Т. 1, № 1. – С. 5–8.

24. Егоров В.В. Клинико-патогенетическая эффективность иммуномодуляции у пациентов с риском регенераторных нарушений после коррекции миопии методами ФРК и ЛАСИК / В.В. Егоров, И.В. Дутчин, Г.П. Смолякова // Рефракционная хирургия и офтальмология. – 2007. – Т. 7, № 3. – С. 18–24.

**Содержание интерлейкина-1 и интерлейкина-4 в крови коров относительно разных стадий полового цикла и состояния половой функции**

**І.В. Паращенко**

В статье проанализирована динамика интерлейкина-1 и интерлейкина-4 в крови коров исследуемых хозяйств во время проявления половой цикличности, а также в зависимости от состояния половой функции. Выяснена роль интерлейкина-1 и интерлейкина-4 в механизме формирования стадии возбуждения. Установлена достоверная разница их показателей в крови коров во время разных стадий и феноменов полового цикла, выявлена достоверная разница их уровня относительно состояния половой функции.

**Ключевые слова:** коровы, стадия возбуждения, половая охота, эндометрит, задержка последа, интерлейкин-1, интерлейкин-4.