

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2023.1.85

УДК 619:612.12:616-08:618.11:636.2

ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУНО-БИОХИМИЧЕСКОГО СТАТУСА КРОВИ КОРОВ ПРИ КОРРЕКЦИИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ЯИЧНИКОВ ПРЕПАРАТОМ НА ОСНОВЕ ГМ-КСФ

Е.М. Степанов – мл. науч. сотр. лаборатории инновационных препаратов рекомбинантной протеомики (ORCID: 0000-0002-4068-7148), В.И. Михалёв – д.в.н., гл. науч. сотр. сектора болезней органов воспроизводства крупного рогатого скота (ORCID 0000-0001-9684-4045), Л.Ю. Сашнина – д.в.н., зав. лабораторией иммунологии (ORCID 0000-0001-6477-6156), Г.Г. Чусова – к.б.н., зав. лабораторией гематологии и биохимии (ORCID 0000-0003-1494-8807); ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии»

Ключевые слова: коровы, гипофункция яичников, иммуно-биохимические изменения.

Key words: cows, ovarian hypofunction, immunobiochemical changes.

Работа выполнена по гос. заданию 160. «Молекулярно-биологические и нанобиотехнологические методы создания биопрепаратов нового поколения, технологии и способы их применения с целью борьбы с особо опасными инфекционными, паразитарными и незаразными болезнями животных»



РЕФЕРАТ

Состояние иммуно-биохимического статуса крови коров при применении препарата, содержащего гм-ксф, изучено на 15 животных с гипофункциональным состоянием яичников, сопровождающимся явлениями янафродизии. Животные были разделены по принципу аналогов на три группы. Животных включали в опыт через 45-60 дней после отёла без признаков проявления половой цикличности. Коровам первой группы инъецировали препарат на основе гм-ксф (гранулоцитарно-макрофагальный колоние-стимулирующий фактор), второй – фоллимаг, третьи служили в качестве отрицательного контроля без введения препаратов. Оценка эффективности применения гонадотропных и рекомбинантных препаратов показала, что наиболее эффективным оказалось использование средства на основе гм-ксф по сравнению с фоллимагом и отрицательным контролем. После применения препарата рекомбинантных интерферонов содержание циркулирующих иммунных комплексов оказалось ниже на 30,9%, малонового диальдегида – на 17,1%, средних молекулярных пептидов – на 34,9%, ФНО α – на 21,0%, ИЛ-1 β – на 41,1%, ИЛ-2 – на 35,9%, при повышении бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови соответственно на 13,8% и 21,7%, фагоцитарного индекса – на 12,9%, фагоцитарного числа – на 18,4%, прогестерона – в 5,09 раза, эстрадиола – на 29,3%, дегидроэпиандростерона сульфата – на 78,9%, ИЛ-4 – на 44,6%, ИЛ-10 – на 20,3%, что свидетельствует об активизации гуморального звена общей неспецифической резистентности, повышении содержания противовоспалительных цитокинов, при снижении интенсивности процессов перекисного окисления липидов, уровня провоспа-

лительных цитокинов на фоне восстановления гормонопродуцирующей функции половых гонад. Применение препарата на основе гм-ксф сопровождалось активизацией функциональной деятельности яичников, проявлением животными полноценных половых циклов и плодотворным осеменением.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В настоящее время особую актуальность приобретает вопрос импортозамещения, в том числе и животноводческой продукции, что невозможно без максимального использования продуктивного и репродуктивного потенциала животных. В молочном животноводстве очень остро встает вопрос между продуктивностью и репродуктивным здоровьем коров. С повышением молочной продуктивности, определяющей уровень рентабельности, возрастает функциональная нагрузка на многие системы организма, в том числе органы воспроизводства. «Лактационная доминанта» способствует замедлению инволюционных процессов половых органов, снижению выработки половых гормонов, угнетению половой цикличности, что, в конечном итоге, приводит к бесплодию маточного поголовья [1, 2, 3].

Основной нозологической единицей, приводящей к развитию длительного бесплодия у молочного скота, является гипофункциональное состояние яичников, сопровождающейся анафродизией. Гипофункция яичников регистрируется у 15,8-26,7% бесплодных животных [4, 5, 6].

Послеродовую овариальную гипофункцию у коров следует рассматривать как гипоталамо-гипофизарно-гонадальную болезнь регуляции, связанную с функциональными сдвигами в нейро-эндокринной системе [7, 8, 9]. Данную патологию яичников наиболее часто диагностируют у коров-первотёлок, в крови которых значительно снижена концентрация инсулиноподобного фактора, инсулина, глюкозы, лептина при одновременном повышении кетонов, ненасыщенных жирных кислот, β -гидроксипутирата [10, 11, 12]. Одними из маркеров нарушения функциональной деятельности яичников, приводящие к супрессии их овуляторной функции, являются показатели содержания в крови и фолликулярной жид-

кости IL-1 β , IL-6, IL-8 [13, 14].

В ветеринарной гинекологической практике при дисфункциональных расстройствах яичников используется широкий арсенал средств различного фармакологического действия (гонадотропные, прогестагенные и другие препараты), однако их терапевтическая эффективность варьирует.

В связи с этим, при использовании препаратов различного механизма действия при гипофункции яичников у коров необходимо ориентироваться не только на достижение клинического эффекта, но и рассматривать вопросы изменения состояния морфо-биохимического статуса организма.

Цель исследований: изучить изменения показателей иммуно-биохимического статуса крови коров при коррекции функциональной деятельности яичников с применением препарата, содержащего в своём составе гм-ксф. Новизна данной работы заключается в том, что впервые изучены показатели биохимического и иммунологического статуса на фоне применения препарата рекомбинантных интерферонов с целью восстановления функциональной деятельности яичников у коров при их гипофункции.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ / MATERIALS AND METHOD

Исследования по изучению изменений иммуно-биохимического статуса коров при коррекции функциональной активности яичников проведены на 30 коровах. Перед проведением исследований коровы подвергались гинекологическому обследованию, по результатам которого они были разделены на три группы. В опыт включали животных через 45-60 дней после отёла с гипофункциональным состоянием яичников, сопровождающимся явлениями анафродизии. Животным опытных групп инъецировали препараты для коррекции функциональной деятель-

Таблица 1

Иммуно-биохимические показатели крови коров при коррекции гипофункционального состояния яичников

Показатели	Группы животных		
	проовулин	фоллимаг	контрольная
Общий белок, г/л	77,6±4,2	78,6±3,9	79,3±3,8
Общие липиды, г/л	4,78±0,29	4,72±0,41	4,69±0,31
Глюкоза, мм/л	3,08±0,14	3,01±0,22	2,81±0,16
Общие Jg, г/л	23,7±0,9	24,1±2,1	25,1±1,2
ЦИК, г/л	0,29±0,01**	0,40±0,03	0,42±0,03
БАСК, %	85,7±3,1*	78,6±5,5	73,3±2,6
ЛАСК, мкг/мл	1,57±0,07*	1,33±0,12	1,29±0,08
ФАЛ, %	73,4±6,1	70,3±3,9	70,6±3,9
ФИ	6,1±0,49	5,3±0,32	5,4±0,26
ФЧ	4,5±0,19	3,7±0,32	3,8±0,19
МДА, мкМ/л	1,41±0,08	1,66±0,12	1,70±0,09
NO _x , мкМ/л	19,8±1,2*	20,4±1,9*	14,1±0,9
СМП, у.е.	0,71±0,04**	1,05±0,08	1,09±0,09

Примечание: * - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$ – по сравнению с животными из группы отрицательного контроля

ности яичников: первой – препарат проовулин, содержащий гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (гм-ксф) двукратно с 7 дневным интервалом в дозе 10 мл, второй – фоллимаг однократно в дозе 1000 ИЕ/животное. Коровам третьей группы препараты не назначали.

Гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор - полипептидный цитокин, относится к группе гранулоцитарно-макрофагальных колониестимулирующих факторов вместе с интерлейкином 3 и интерлейкином 5, усиливает выработку гранулоцитов и моноцитов. Клинический контроль за всеми включёнными в опыт животными осуществлялся путём учёта проявления стадии возбуждения полового цикла, осеменения, оплодотворения с использованием визуальных, трансректальных пальпаторных и ультразвуковых исследований. Изучение изменений морфо-биохимического статуса проводили путём взятия проб крови перед началом и через неделю после окончания терапевтического курса. При этом была определена динамика содержания половых стероидов - прогестерона, эстрадиола, тестостерона,

ДЭАС, провоспалительных - ФНО α , ИЛ-1 β , ИЛ-2 и противовоспалительных - ИЛ-4, ИЛ-10 цитокинов. Кроме того, в крови изучены показатели иммунологического статуса коров при терапии гипофункциональных расстройств яичников – уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), бактерицидную активность сыворотки крови (БАСК), лизоцимную активность сыворотки крови (ЛАСК), фагоцитарную активность лейкоцитов (ФАЛ).

Обработку экспериментальных данных проводили с использованием прикладной статистической программы «Statistica 8.0» («Stat-Soft, Inc», USA). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В группе отрицательного контроля восстановление половой цикличности произошло у 40,0% животных, оплодотворение – у 30,0%. После применения фоллимага у 80,0% животных диагностированы полноценные половые циклы, у 70,0% - плодотворное осеменение. Двукратное введение проовулина сопровождалось восстановлением половой цикличности у 90,0% с последующим оплодотворением 80,0% животных.

Таблица 2

Содержание гормонов и цитокинов в крови коров при коррекции гипофункционального состояния яичников

Показатели	Группы животных		
	проовулин	фоллимаг	контрольная
Прогестерон, нМоль/л	11,7±0,71***	12,1±0,88***	2,3±0,15
Эстрадиол-17β, нМоль/л	0,53±0,01**	0,55±0,02**	0,41±0,02
Тестостерон, нМоль/л	1,72±1,4	1,61±1,3	1,66±0,09
ДЭАС, нМоль/л	0,34±0,01***	0,37±0,02***	0,19±0,01
ФНО _α , пг/мл	219,3±13,2**	268,9±19,5	277,7±14,1
ИЛ-2, пг/мл	70,1±4,2***	98,4±6,6	109,3±5,5
ИЛ-1β, пг/мл	18,9±1,2***	19,6±1,5***	32,1±1,6
ИЛ-4, пг/мл	68,4±3,8***	48,1±3,1	47,3±2,9
ИЛ-10, пг/мл	80,9±4,6*	70,3±5,7	67,2±3,9

Примечание: * - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$; *** - $P < 0,001$ – по сравнению с животными из группы отрицательного контроля

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что на фоне введения фоллимага установлено повышение уровня глюкозы на 7,1%, что превышает аналогичные показатели животных группы «контрольная», БАСК – на 7,2%, NOx – на 44,7% ($P < 0,05$). В то же время, использование препарата проовулин, содержащего гм-ксф, сопровождалось снижением уровня общих иммуноглобулинов на 5,6% по сравнению с животными из группы отрицательного контроля, циркулирующих иммунных комплексов – на 30,9% ($P < 0,01$), малонового диальдегида – на 17,1%, средних молекулярных пептидов – на 34,9% ($P < 0,01$), при повышении концентрации глюкозы на 9,6%, бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови соответственно на 13,8% ($P < 0,05$) и 21,7% ($P < 0,05$), фагоцитарного индекса – на 12,9%, фагоцитарного числа – на 18,4%, суммы стабильных метаболитов оксида азота – на 40,4% ($P < 0,05$), свидетельствующее об активизации гуморального и клеточного звена общей неспецифической резистентности, при снижении интенсивности процессов перекисного окисления липидов.

Концентрация половых стероидов и цитокинов в крови коров при тера-

пии гипофункциональных расстройств яичников представлена в таблице 2.

После применения коровам фоллимага содержание прогестерона выше, по сравнению с животными контрольной группы, в 5,26 раза ($P < 0,001$), эстрадиола-17β – на 34,1% ($P < 0,001$), ДЭАС – в 1,95 раза ($P < 0,001$), при снижении уровня ИЛ-1β на 38,9% ($P < 0,001$). Более существенные изменения иммуно-биохимического статуса установлены при введении коровам препарата, содержащего гм-ксф, приведшее к повышению уровня половых стероидов, в том числе прогестерона в 5,09 раза ($P < 0,001$), эстрадиола – на 29,3% ($P < 0,01$) и ДЭАС – на 78,9% ($P < 0,001$). Активизация гормонопродуцирующей функции яичников при применении проовулина объясняется тем, что входящий в его состав гм-ксф регулирует стероидогенез, активизирует развитие фолликулов, участвует в высвобождении гистамина во время овуляции, сохраняет пул примордиальных фолликулов. В норме гм-ксф продуцируется клетками гранулезы зрелых и овулирующих фолликулов.

Изменения цитокинового профиля крови коров под воздействием препарата рекомбинантных интерферонов характеризовались снижением уровня провоспа-

лительных цитокинов, в том числе ФНО α – на 21,0% ($P<0,01$), ИЛ-1 β – на 41,1% ($P<0,001$), ИЛ-2 – на 35,9% ($P<0,001$) при одновременном повышении противовоспалительных, в том числе ИЛ-4 – на 44,6% ($P<0,001$), ИЛ-10 – на 20,3% ($P<0,05$).

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, применение коровам с гипофункциональным состоянием яичников, проявляющимся анафродизией, препарата рекомбинантных интерферонов проовулин, содержащего гм-ксф, сопровождается активизацией их гуморального и клеточного звена общей неспецифической резистентности, повышением содержания противовоспалительных цитокинов, при снижении уровня провоспалительных цитокинов, интенсивности процессов перекисного окисления липидов на фоне восстановления гормонопродуцирующей функции половых гонад.

CHANGES IN THE INDICATORS OF IMMUNOBIOCHEMICAL BLOOD STATUS OF COWS DURING CORRECTION OF THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF THE OVARIES WITH A DRUG BASED ON GM-CSF

E.M. Stepanov, Junior Scientific Associate of the Laboratory of Innovative Preparations of Recombinant Proteomics (ORCID: 0000-0002-4068-7148), V.I. Mikhalev*, Doc. of Vet. Sciences, Chief Scientific Associate of the Sector of Diseases of Bovine Reproductive Organs (ORCID: 0000-0001-9684-4045), L.Yu. Sashnina, Doc. of Vet. Sciences, Head of the Laboratory of Immunology (ORCID: 0000-0001-6477-6156), G.G. Chusova, Cand. of Biol. Sciences, Head of the Laboratory of Hematology and Biochemistry (ORCID: 0000-0003-1494-8807).

FSBSI "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy",

The work was done according to the state task 160. "Molecular-biological and nanobiotechnological methods for creating new generation biological products, technologies and methods of their application in order to combat especially dangerous infectious, parasitic and non-contagious animal diseases"

ABSTRACT

The state of the immunobiochemical status of the blood of cows when using a drug containing gm-csf was studied on 15 animals with a hypofunctional state of the ovaries. The animals were divided according to the principle of analogues into three groups. The animals were included in the experiment 45-60 days after calving without signs of sexual cyclicity. The cows of the first group were injected with a drug based on gm-csf (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor), the cows of the second one - follimag, the third group served as a negative control without the introduction of drugs. Evaluation of the efficacy of the use of gonadotropic and recombinant drugs showed that the use of the agent based on gm-csf turned out to be the most effective in comparison with follimag and the negative control. After the use of the drug of recombinant interferons, the content of circulating immune complexes turned out to be lower by 30.9%, malon dialdehyde - by 17.1%, medium molecular peptides - by 34.9% TNF α - by 21.0%, IL-1 β - by 41.1%, IL-2 - by 35.9%, with an increase in serum bactericidal and lysozyme activity by 13.8% and 21.7%, respectively, phagocytic index - by 12.9%, phagocytic number - by 18.4%, progesterone - by 5.09 times, estradiol - by 29.3%, dehydroepiandrosterone sulfate - by 78.9%, IL-4 - by 44.6%, IL-10 - by 20.3%, which indicates activation the humoral link of general nonspecific resistance, an increase in the content of anti-inflammatory cytokines, with a decrease in the intensity of lipid peroxidation processes, the level of pro-inflammatory cytokines against the background of the restoration of the hormone-producing function of the sex gonads. Changes in the indicators of the immunobiochemical blood status of cows are reflected in the activation of the functional activity of the ovaries, the manifestation of full-fledged sexual cycles by animals and successful insemination.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Santos J.E.P., Bisinotto R.S., Ribeiro E.S. Mechanism underlying reduced fertility in anovular dairy cows. *Theriogenology*. 2016;86(1):254-262.

2. Порфирьев И.А. Бесплодие высокопродуктивных молочных коров. Ветеринария. 2006;10:39-41. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=9275603>.
 3. Горпиченко Е.А., Коба И.С., Лифенцова М.Н. Факторы, способствующие возникновению функциональных расстройств репродуктивного аппарата у коров. Научный журнал КубГАУ. 2016;121(07):1818-1827. DOI: 10.21515/1990-4665-121-113.
 4. Нежданов А.Г., Михалёв В.И., Скориков В.Н., Панфилова А.О. Эффективность гормональной коррекции воспроизводительной способности коров при гипопункции яичников. Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2014;3:124-127. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=22149093>.
 5. Нежданов А.Г., Лободин К.А., Богданова Н.Е. Восстановление плодовитости коров при гипопункции яичников. Ветеринария. 2007;7:39-45. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=9519015>.
 6. Gümen A., Guenther J.N., Witbank M.C. Follicular size and response to ovsynch versus detection of estrus in Anovular and Ovular Lactating Dairy Cows. J. Dairy Sci. 2004;86(10):3184 – 3194. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73921-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73921-6).
 7. Синёва А.М., Лукина В.А., Адодина М.И. Дегидроэпиандростерон, тестостерон и 17 β -эстрадиол в крови молочных коров при послеродовой гипопункции яичников. Ветеринарный фармакологический вестник. 2019;4:86-93. DOI: 10.17238/issn2541-8203.2019.4.77.
 8. Chebel R.S., Santos J.E.P., Cerri R.L.A. Reproduction in dairy cows following pre-synchronization and resynchronization. J. Dairy Sci. 2006;89:4205-4219. DOI: 10.3168/0022-0302(06)72466-3.
 9. Bachelot A., Binart N. Reproductive role of prolactin. Reproduction. 2007;133(2):361-369. DOI: 10.1530/REP-06-0299.
 10. Ortega H.H., Palomar M.M., Acosta J.C. Insulin-like growth factor I in sera, ovarian follicles and follicular fluid of cows with spontaneous or induced cystic ovarian disease. Res. Vet. Sci. 2008;84(3):419-427. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2007.05.010>.
 11. Vanholder T., Opsomer G., de Kruif A. A etiology and pathogenesis of cystic ovarian follicles in dairy cattle; a review. Reprod. Nutrition. Development. 2006;46(2):105-119. DOI: <https://doi.org/10.1051/rnd:2006003>.
 12. Silvestre F.T., Carvalho T.S.M., Crawford P.C. Effects of differential supplementation of fatty acids during the peripartum and breeding periods of Holstein cows: II Neutrophil fatty acids and function and acute phase proteins. J. Dairy Sci. 2011;94:2285-2301. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3370>.
 13. Lima F.S., Acosta D.A.V., Egan T.R. Steroidogenic, metabolic, and immunological markers in dairy cows diagnosed with cystic ovarian follicles at the beginning and middle of late lactation. Vet. Sci. 2019;Sep.26(6):324. DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00324>.
 14. Vernon R.G. Lipid metabolism during lactation: a review of adipose tissue-liver interactions and the development of fatty liver. J. Dairy Res. 2005;72:460-469. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0022029905001299>.
- REFERENCES**
1. Santos J.E.P., Bisinotto R.S., Ribeiro E.S. Mechanism underlying reduced fertility in anovular dairy cows. Theriogenology. 2016;86(1):254-262.
 2. Porfiriev I.A. Infertility of high yielding dairy cows. Veterinariya [Veterinary medicine]. 2006;10:39-41. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=9275603>.
 3. Gorpichenko E.A., Koba I.S., Lifentsova M.N. Factors contributing to the occurrence of functional disorders of the genitourinary apparatus in cows. Nauchnyj zhurnal KubGAU [Scientific journal KubSAU]. 2016;121(07):1818-1827. (InRuss.) DOI: 10.21515/1990-4665-121-113.
 4. Nezhdanov A.G., Mikhalev V.I., Skorikov V.N., Panfilova A.O. The efficacy of hormonal correction of the reproductive ability of cows with ovarian hypofunction. Voprosy normativno-pravovogo regulirovaniya v veterinarii [Normative-legal regulatory issues in veterinary medicine]. 2014;3:124-127. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=22149093>.
 5. Nezhdanov A.G., Lobodin K.A., Bog-

- danova N.E. Restoring the fertility of cows with ovarian hypofunction. *Veterinariya* [Veterinary medicine]. 2007;7:39-45. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=9519015>.
6. Gümen A., Guenther J.N., Witbank M.C. Follicular size and response to ovsynch versus detection of estrus in Anovular and Ovular Lactating Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 2004;86(10):3184 – 3194. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73921-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73921-6).
7. Sineva A.M., Lukina V.A., Adodina M.I. Dehydroepiandrosterone, testosterone and 17 β -estradiol in the blood of dairy cows with postpartum ovarian hypofunction. *Veterinarnyj farmakologicheskij vestnik* [Bulletin of Veterinary Pharmacology]. 2019;4:86-93. (InRuss.). DOI: 10.17238/issn2541-8203.2019.4.77.
8. Chebel R.S., Santos J.E.P., Cerri R.L.A. Reproduction in dairy cows following pre-synchronization and resynchronization. *J. Dairy Sci.* 2006;89:4205-4219. DOI:10.3168/0022-0302(06)72466-3.
9. Bachelot A., Binart N. Reproductive role of prolactin. *Reproduction*. 2007;133(2):361-369. DOI: 10.1530/REP-06-0299.
10. Ortega H.H., Palomar M.M., Acosta J.C. Insulin-like growth factor I in sera, ovarian follicles and follicular fluid of cows with spontaneous or induced cystic ovarian disease. *Res. Vet. Sci.* 2008;84(3):419-427. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2007.05.010>.
11. Vanholder T., Opsomer G., de Kruif A. A etiology and pathogenesis of cystic ovarian follicles in dairy cattle; a review. *Reprod. Nutrition. Development*. 2006;46(2):105-119. DOI:<https://doi.org/10.1051/rnd:2006003>.
12. Silvestre F.T., Carvalho T.S.M., Crawford P.C. Effects of differential supplementation of fatty acids during the peripartum and breeding periods of Holstein cows: II Neutrophil fatty acids and function and acute phase proteins. *J. Dairy Sci.* 2011;94:2285-2301. DOI:<https://doi.org/10.3168/jds.2010-3370>.
13. Lima F.S., Acosta D.A.V., Egan T.R. Steroidogenic, metabolic, and immunological markers in dairy cows diagnosed with cystic ovarian follicles at the beginning and middle of late lactation. *Vet. Sci.* 2019;Sep.26(6):324. DOI:<https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00324>.
14. Vernon R.G. Lipid metabolism during lactation: a review of adipose tissue-liver interactions and the development of fatty liver. *J. Dairy Res.* 2005;72:460-469. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0022029905001299>.