

УДК 612.2:591.11:577.11

Мудрак Д. І., к.вет.н., **Вищур О. І.**, д.вет.н., старший науковий співробітник,
Брода Н. А., к.б.н., старший науковий співробітник,
Лешовська Н.М., к.вет.н., **Рацький М. І.**, к.вет.н. (daramydrak@ukr.net)
Інститут біології тварин НААН. м. Львів. Україна
Голубець О.В., к.с-г н., ст.н.сп., **Шкаруба С.М.**, к.с-г н., н.сп. ©
*Науково-методична лабораторія хроматографічних досліджень ДП
"Укрметртестстандарт"*

СТАН Т- І В-КЛІТИННОЇ ЛАНКИ ІМУНІТЕТУ В КРОВІ ТІЛЬНИХ КОРІВ-ПЕРВІСТОК ЗА ДІЇ ВІТАМІННО-МІНЕРАЛЬНОГО КОМПЛЕКСУ «ОЛІГОВІТ»

У статті наведено дані щодо впливу введення коровам-первісткам в останній місяць тільності комплексного вітамінно-мінерального препарату «Оліговіт» на активність Т- і В-клітинної ланки імунітету. Показано, що внутрішньом'язове введення коровам препарату «Оліговіт», що містить вітаміни А, D₃, РР, Е, В₁, В₂, В₄, В₅, В₆, В₈, В₁₂, мікроелементи — Со, Mg, Си, Zn, Mn та амінокислоту метіонін спричиняє активуючий вплив на кількість і функціональну активність Т- і В-лімфоцитів та їх регуляторних субпопуляцій. Зокрема, у крові корів за 1–2 доби до отелення та на 8 добу після родів виявлено більшу кількість Т-лімфоцитів (загальних, «активних» і теофілін-резистентних) і В-лімфоцитів, що свідчить про активацію Т- і В-клітинної ланки специфічного імунітету. Ці зміни у складі вказаних популяцій клітин відбувалися за рахунок зростання числа Т-лімфоцитів із низькою та середньою авідністю і зменшення кількості «нульових» клітин. Такий перерозподіл авідності рецепторного апарату імунокомпетентних клітин у крові корів, яким вводили препарат «Оліговіт», вказує на підвищення їх функціональної активності і зростання імунного потенціалу організму.

Ключові слова: велика рогата худоба, кров, лімфоцити, вітаміни, мікроелементи

УДК 612.2:591.11:577.11

Мудрак Д. І., к.вет.н.
Вищур О. І., д.вет.н., старший науковий співробітник
Брода Н. А., к.б.н., старший науковий співробітник
Лешовская Н.М., к.вет.н., **Рацкий М. И.**, к.вет.н.
Інститут біології тварин, г. Львів, Україна
Голубец А.В., к.с-х н., **Шкаруба С.М.**, к.с-х н.
*Научно-методическая лаборатория хроматографических исследований ГП
"Укрметртестстандарт"*

СОСТОЯНИЕ Т- И В-КЛЕТОЧНОГО ЗВЕНА ИММУНИТЕТА В КРОВИ СТЕЛЬНЫХ КОРОВ-ПЕРВОТЕЛОК ПРИ ДЕЙСТВИИ ВИТАМИННО- МИНЕРАЛЬНОГО КОМПЛЕКСА «ОЛИГОВИТ»

В статье приведены данные о влиянии введения коровам-первотелкам в последний месяц стельности комплексного витаминно-минерального препарата «Олиговит» на активность Т- и В-клеточного звена иммунитета. Показано, что внутримышечное введение коровам препарата «Олиговит», который содержит витамины А, D₃, РР, Е, В₁, В₂, В₄, В₅, В₆, В₈, В₁₂,

© Мудрак Д. І., Вищур О. І., Брода Н. А., Лешовська Н.М., Рацький М. І., Голубець О.В., Шкаруба С.М., 2014

микроэлементы - Co, Mg, Cu, Zn, Mn и аминокислоту метионин производит активизирующее влияние на количество и функциональную активность T- и B-лимфоцитов и их регуляторных субпопуляций. В частности, в крови коров за 1-2 суток до отела и на 8 сутки после родов выявлено большее количество T-лимфоцитов (общих, «активных» и теофиллин-резистентных) и B-лимфоцитов, что свидетельствует об активации T- и B-клеточного звена специфического иммунитета. Эти изменения в составе указанных популяций клеток происходили за счет увеличения числа T-лимфоцитов с низкой и средней avidностью и уменьшение количества «нулевых» клеток. Такое перераспределение avidности рецепторного аппарата иммунокомпетентных клеток в крови коров, которым вводили препарат «Олиговит», указывает на повышение их функциональной активности и рост иммунного потенциала организма.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, кровь, лимфоциты, витамины, микроэлементы.

UDC 612.2:591.11:577.11

Mudrak D., Vishchur O., Broda N., Leshovska N., M. I. Ratskiy.

Institute of Animal Biology, Lviv, Ukraine

Holubets O., Shkarubo S.

Research laboratory of chromatographic research enterprise "Ukrmetrteststandard"

STATE T-AND B-CELL IMMUNITY IN PARTS IN THE BLOOD OF PREGNANT FIRST-CALVING COWS AND THEIR CALVES UNDER ACTION OF VITAMINS AND MINERALS REMEDY «OLIHOVIT»

The article presents data on the impact of the introduction of cow's of first calving in the last month of pregnancy complex vitamin and mineral preparations "Olihovit" the activity of T-and B-cell immunity. It is shown that the intramuscular introduction to cows of "Olihovit", which contains vitamins A, D₃, PP, E, B₁, B₂, B₄, B₅, B₆, B₈, B₁₂, minerals - Co, Mg, Cu, Zn, Mn and amino acid methionine causes an activating effect on the functional activity of T and B lymphocytes and their regulatory subpopulations. In particular, in the blood of cows for 1-2 days before calving and on day 8 after birth revealed a greater number of T lymphocytes (general, "active" and theophylline-resistant) and B-lymphocytes, indicating that the activation of T-and B-cell level of specific immunity. These changes in these cell populations occurred due to the increase in the number of T-lymphocytes with an average avidity and reduce the number of "zero" cells. Such redistribution avidity receptor system of immune cells in the blood of cows injected drug "Olihovit" indicates the elevation of functional activity of immunity and growth potential.

Key words: *cattle, blood, red blood cells, T- and B-lymphocytes, vitamins, minerals.*

Вступ. Відомо, що останній місяць тільності є одним із критичних періодів у корів, що характеризується фізіологічною імуносупресією організму [1, 2]. До того ж в умовах інтенсифікації тваринництва посилюється негативний вплив стрес-факторів різної природи, які призводять до порушення фізіологічних функцій і біохімічних процесів в організмі тварин. Під час тільності, плацента і плід виробляють особливі білкові фактори та речовини, що

пригнічують імунну реакцію у відповідь на наявність чужорідного організму і не допускають реакції відторгнення зародка. Тільність зазвичай не розглядається як імунологічно «скомпроментований» процес, однак вона пов'язана зі складними імунологічними змінами, що можуть призвести до підвищення ризику захворювань [3, 4].

Ключова роль у функціонуванні специфічного (адаптивного) імунітету належить Т- і В-лімфоцитам крові. Під час тільності відбувається сенсibiliзація цитотоксичних Т-лімфоцитів матері до успадкованих від батька антигенів тканинної сумісності, що завжди супроводжується імунодепресією. Пригнічення активності імунної системи проявляється зниженням абсолютної й відносної кількості Т-клітин при частковому підвищенні відносної кількості «активних» Т-лімфоцитів. За виникнення імунопатологічного процесу у регуляції імунологічної рівноваги під час тільності бере участь найбільш давня система імунної відповіді, система цитотоксичних НК-клітин, що інактивуються під час тільності. Тому актуальним є дослідження особливостей функціонування клітинного компаркменту імунітету у корів-первісток в останній період гестації та розробка ефективних способів корекції імунного потенціалу організму.

Для підвищення імунобіологічної реактивності організму корів в останні роки з успіхом використовуються вітаміни, амінокислоти, мікроелементи, які мають імуномодулюючі властивості. У зв'язку з цим вивчення імуотропної дії нових комплексних препаратів, які містять вітаміни, амінокислоти і мікроелементи, особливо у корів-первісток в останній період тільності є актуальним як у науковому так і практичному значенні.

Мета досліджень полягала у з'ясуванні впливу парентерального введення коровам-первісткам в останній місяць тільності вітамінно-мінерального комплексу «Оліговіт» на стан Т- і В-клітинної ланки імунітету.

Матеріал і методи. Дослідження проводилися у зимово-весняний період у ДГДП «Оброшине», Пустомитівського району Львівської області на двох групах корів-первісток української чорно-рябої молочної породи останнього місяця тільності, які за принципом аналогів були розділені на контрольну та дослідну групи по 5–7 тварин у кожній. Коровам дослідної групи за 14 діб до передбачуваних родів внутрішньом'язово вводили вітамінно-мінеральний комплекс «Оліговіт» (KELA, Бельгія) дозою 0,5 мл на 10 кг маси тіла тварини, коровам контрольної групи відповідно — фізрозчин дозою 10 мл на тварину. Препарат «Оліговіт» містить вітаміни А, D₃, РР, Е, В₁, В₂, В₄, В₅, В₆, В₈, В₁₂, мікроелементи — Со, Mg, Cu, Zn, Mn, а також незамінну амінокислоту метіонін.

Зразки крові для досліджень брали з яремної вени у корів до ранішньої годівлі за 14 діб і за 1–2 доби до передбачуваних родів та на восьму добу після отелення. У стабілізованій гепарином крові визначали: загальну кількість Т-лімфоцитів (TE-РУЛ) – у реакції спонтанного розеткоутворення (Jondal M. et al., 1972), їх субпопуляції – Т-хелпери (Th-РУЛ; Суровас В. М. с соавт., 1980); «активні» Т-лімфоцити (TA-РУЛ; Wansbrough-Jones M. et al., 1979); кількість Т-клітин з переважно супресорною активністю (Ts-РУЛ) – відніманням числа теофілін-резистентних Т-клітин від загальної кількості Т-лімфоцитів, В-лімфоцити (EAC-РУЛ) – у реакції комплементарного розеткоутворення

(Чернушенко Е. Ф. с соавт., 1979). При підрахунку кількості Т- і В-лімфоцитів і їх регуляторних субпопуляцій на фіксованих і фарбованих мазках крові визначали лімфоцити із низькою, середньою та високою щільністю рецепторів.

Одержані цифрові дані опрацьовано статистично з використанням програмного пакету Microsoft Excel для персональних комп'ютерів.

Результати дослідження. Важливим етапом у розвитку імунної відповіді організму тварин на дію чужорідних чинників є міграція Т- і В-лімфоцитів із тимусу і кісткового мозку. Кількість Т- і В-лімфоцитів і їх регуляторних субпопуляцій у крові тварин характеризує функціональну активність імунної системи [5]. Результати досліджень відносної кількості Т- і В-лімфоцитів у периферичній крові досліджуваних корів наведені в таблиці. Із цих даних бачимо, що загальна кількість Т-лімфоцитів у крові корів контрольної групи за 1–2 доби до отелення була більшою ($p < 0,05$), а на 8-му добу після родів на 8,8 % меншою, ніж за 14 днів до отелення. При цьому у крові корів контрольної групи за 1–2 доби до отелення виявлено меншу кількість «нульових» Т-лімфоцитів ($p < 0,01$) і встановлено тенденцію до підвищення кількості Т-супресорів, що призвело до зниження імунорегуляторного індексу.

Введення коровам дослідної групи препарату «Оліговіт» призводить до вірогідного збільшення у крові відносної кількості Т-лімфоцитів («активних» і теофілін-резистентних) за 1–2 доби до отелення та ТЕ- і Th РУЛ на 8 добу після отелення, що свідчить про активацію Т-клітинної ланки специфічного імунітету. Ці зміни у складі вказаних популяцій Т-клітин відбувалися за рахунок вірогідного зростання числа Т-лімфоцитів із низькою та середньою авідністю і зменшення кількості недиференційованих у функціональному відношенні клітин.

В-лімфоцити значною мірою забезпечують гуморальний імунітет організму, оскільки синтезують специфічні антитіла (імуноглобуліни), а також впливають на активність деяких популяцій Т-лімфоцитів, беручи участь у реакціях клітинного імунітету [6-8].

При дослідженні кількості В-лімфоцитів у крові корів нами виявлені подібні зміни, що і при дослідженні Т-лімфоцитів. Зокрема, у крові корів, яким за 14 днів до передбачуваних родів внутрішньом'язово вводили вітамінно-мінеральний комплекс «Оліговіт», відносна кількість В-лімфоцитів за 1–2 доби до родів і на 8-му добу після отелення була більша ($p < 0,05$; $p < 0,01$), ніж у контролі. Ці зміни у крові корів відбувались за рахунок вірогідного зростання кількості В-лімфоцитів із низькою щільністю рецепторів і зменшенням числа «нульових» ЕАС-РУЛ.

Отже, проведені дослідження показали, що введення коровам в останній період тільності вітамінно-мінерального комплексу «Оліговіт» спричиняє підвищення у крові кількості Т- і В-лімфоцитів та сприяє зростанню їх функціональної активності за рахунок перерозподілу рецепторного апарату імунокомпетентних клітин. Вказані зміни ймовірно можуть бути зумовлені комплексною адитивною дією компонентів досліджуваного препарату на ефекторні ланки адаптивної імунної відповіді.

Таблиця

Динаміка відносної кількості Т- і В-лімфоцитів та їх субпопуляцій у крові корів-первісток ($M \pm m$, $n=5$)

Показники	Групи	Період досліджень		
		14 дів до отелення	1-2 доби до отелення	8 дів після отелення
ТЕ-РУЛ, 0	К	41,8±1,46	37,6±0,74 [°]	46,4±1,74
	Д	36,2±0,86	36,2±1,49	39,8±0,46**
3-5	К	34,0±1,0	39,6±0,67	36,8±0,58
	Д	35,4±0,50	37,4±0,50	35,0±0,70
6-10	К	22,6±1,81	20,8±1,24	14,4±1,50
	Д	27,8±0,58	25,0±1,84	24,8±0,86***
М	К	1,6±0,4	2,0±0,44	2,4±0,50
	Д	1,0±0	1,75±0,47	1,0±0,33*
%	К	58,2±1,46	62,4±0,74 [°]	53,6±1,74
	Д	63,8±0,86	63,8±1,49	60,2±1,46*
ТА-РУЛ, 0	К	69,4±0,68	68,6±0,67	66,4±1,20
	Д	67,8±1,01	63,8±0,66**	68,2±0,58
3-5	К	21,0±1,58	22,0±0,54	22,0±0,70
	Д	21,2±0,58	27,8±0,58***	22,0±0,31
6-10	К	8,8±1,46	9,0±0,44	11,0±0,44
	Д	10,8±0,37	9,0±0,31	9,6±0,50
М	К	1,0±0,33	1,0±0,33	1,0±0,33
	Д	1,0±0,33	1,0±0,33	1,0±0,33
%	К	30,6±0,74	31,0±0,63	33,6±1,20
	Д	32,2±1,01	37,2±0,66***	31,8±0,58
Th, 0	К	66,8±1,01	67,6±2,11	69,4±1,20
	Д	63,8±0,48	59,0±0,54**	62,0±0,83***
3-5	К	23,4±1,07	22,8±1,65	21,0±0,70
	Д	26,8±0,86	29,0±0,70***	28,2±0,86***
6-10	К	9,0±0,44	9,2±0,86	8,8±0,58
	Д	8,6±0,50	11,4±0,50	8,6±0,81
М	К	1,33±0,33	1,5±0,5	1,0±0,33
	Д	1,33±0,33	1,5±0,5	1,5±0,28
%	К	33,2±1,01	32,4±0,48	30,6±1,20
	Д	36,2±0,48	41,0±0,54***	38,0±0,83***
Ts, %	К	25,0±1,67	30,0±2,42	23,0±2,19
	Д	27,6±1,07	22,6±1,86*	22,2±1,42
ІРІ	К	1,3±0,16	1,0±0,11	1,3±0,18
	Д	1,3±0,22	1,8±0,34	1,7±0,17
ЕАС-РУЛ, 0	К	73,6±0,92	71,4±0,4	75,2±0,37
	Д	70,2±2,51	69,0±0,77	70,2±1,01**
3-5	К	17,4±0,92	20,4±0,50	17,6±0,50
	Д	22,6±2,24	22,8±0,73	21,0±0,70*
6-10	К	8,8±0,58	8,0±0,63	7,2±0,58
	Д	7,2±0,66	8,0±0,44	8,6±0,50
М	К	-	0,67±0,33	-
	Д	1,00±0,33	1,00±0,33	1,00±0,33
%	К	26,4±0,92	28,6±0,4	24,8±0,37
	Д	29,8±2,51	31,0±0,75*	29,8±1,01**

Висновки. Введення коровам за 14 діб до передбачуваних родів комплексу вітамінів та мікроелементів у формі препарату «Оліговіт» призводить до вірогідного збільшення у крові відносної кількості Т-лімфоцитів (загальних, «активних» і теофілін-резистентних) і В-лімфоцитів. При цьому встановлено підвищення їх функціональної активності за рахунок перерозподілу рецепторного апарату імунокомпетентних клітин – зростання числа Т-лімфоцитів із низькою та середньою авідністю і зменшення кількості «нульових» клітин.

Перспективи подальших досліджень. З'ясування впливу вітамінно-мінерального комплексу на біохімічний профіль крові у корів-первісток.

Література

1. Віщур О.І. Розеткоутворюючі клітини крові телят при вакцинації та застосуванні препарату “Антоксан” / О. І. Віщур, // Ветеринарна біотехнологія: Бюл. ІВМ УААН. – Київ, 2004. – № 5. – С. 9–15.
2. Лешовська Н.М., Брода Н.А., Мудрак Д.М., Рацький М.І. Вплив вітамінів А, D₃, Е, селеніту натрію та інтерферону на вміст вітамінів А та Е у плазмі крові корів і телят. Біологія тварин. — 2010. — Т. 12 № 2. — С. 156–159.
3. Дементьева Е. С. Показатели иммуноморфологического статуса у коров в разные сроки стельности / Е. С. Дементьева, О. М. Горшкова // Вестник НГАУ. — Новосибирск, 2010. — № 3 — С. 93–97.
4. Vinuesa C.G., C. de Lucas, Cook M.C. Clinical implications of the specialised B cell response to polysaccharide encapsulated pathogens// Postgrad. Med. J. — 2001. — Vol. 77. — P. 562-569.
5. Брода Н. А. Вплив препарату «Оліговіт», введенного коровам-первісткам в останній місяць тільності, на якість молозива / Н. А. Брода // Ветеринарна біотехнологія. — 2012. — № 21. — С. 199–202.
6. Брода Н. А., Віщур О. І., Рацький М. І., Лешовська Н. М., Крушельницька З. І. Гуморальні фактори захисту організму корів та їх телят за дії препарату «Оліговіт» // Біологія тварин. — 2011.
7. Імунодефіцити у тварин та їхня профілактика / І.В. Кичун, О.І. Віщур, І.В. Скорохід, В.Г. Квачов // Тваринництво України. – 2001. – № 9–10. – С. 18–19.
8. Oberdan Leo, Cunningham A., Stern P. L. Vaccine immunology // Understanding Modern Vaccines: Perspectives in Vaccinology. — Ch. 2. — 2011. — Vol. 1, Issue 1. — P. 25-59.

Рецензент – д.вет.н., професор Гуфрій Д.Ф.