

## ВМІСТ ОКРЕМИХ КЛАСІВ ІМУНОГЛОБУЛІНІВ У КРОВІ ПОРОСЯТ, ХВОРИХ НА КОЛІЕНТЕРОТОКСЕМІЮ, ТА ПРИ ЗАСТОСУВАННІ $\gamma$ -ГЛОБУЛІНІВ

*М. І. Рацький, О. І. Віщур, І. В. Кичун, Н. А. Брода, Н. М. Лешовська, Д. І. Мудрак*

Інститут біології тварин НААН України

*Наведено результати досліджень вмісту загального білка, імуноглобулінів G і M у сироватці крові клінічно здорових і хворих на колієнтеротоксемію поросят та при застосуванні специфічних  $\gamma$ -глобулінів. Встановлено вірогідно менший вміст загального білка, Ig G і Ig M у сироватці крові поросят, хворих на колієнтеротоксемію, порівняно з клінічно здоровими. Парентеральне введення поросяттам дослідної групи специфічних  $\gamma$ -глобулінів призводить до підвищення вмісту загального білка, Ig G і Ig M у сироватці крові, що зумовлено стимулювальним впливом Fab- і Fc-фрагментів імуноглобулінів. Показано ефективність застосування поросяттам перед відлученням від свиноматок специфічних  $\gamma$ -глобулінів з метою підвищення гуморального імунітету та профілактики колієнтеротоксемії.*

**Ключові слова:** ПОРОСЯТА, КРОВ, АНТИТІЛО, ІМУНОГЛОБУЛІНИ, КОЛІЕНТЕРОТОКСЕМІЯ, АНТИГЕН, ІМУННА ВІДПОВІДЬ

Значне поширення шлунково-кишкових захворювань у молодняку тварин завдає значних економічних збитків тваринництву України. У більшості випадків це спричинено захворюваннями незаразної етіології, внаслідок недостатнього функціонування їх імунної системи, яка формує імунну відповідь організму молодняку на дію антигенного чинника [1].

Для новонароджених поросят характерний низький рівень імунної реактивності. Синтез власних антитіл у поросят починається лише з 7–14-добового віку. Однак до 4-тижневого віку він знаходиться на низькому рівні. Слабка гуморальна відповідь на антигенну стимуляцію в цей період зумовлена, з одного боку, з наявністю в організмі молодих тварин материнських антитіл, які блокують антигени, що поступають, а з другого — недостатнім розвитком В-системи імунітету, яка відповідає за синтез різних класів імуноглобулінів, що сприяє виникненню імунодефіцитів [1, 2].

У зв'язку з цим, актуальною науково-практичною проблемою є розробка ефективних способів стимуляції функції імунної системи у поросят [3]. За останні роки нагромадилось багато даних на користь гіпотези, згідно з якою одним з найбільш важливих регуляторних пептидів в організмі є імуноглобуліни. Відомо позитивний вплив введення імуноглобулінів поросяттам і телятам на формування імунобіологічної реактивності [4, 5]. Проте, більшість препаратів імуноглобулінів виготовляються на основі нативної сироватки тварин, що містить велику кількість супутніх білків, які створюють додаткове антигенне навантаження на організм тварин, що в умовах фізіологічного імунодефіциту є не бажаним.

За даними [6–10], у патогенезі колієнтеротоксемії поросят певну роль відіграють різноманітні токсичні субстанції колібактерій та продукти їх життєдіяльності, але основне значення має особливий нейротоксин ліпопротеїнової природи, який виділено від усіх штамів гемолітичних колібактерій. Токсини, які в значній кількості нагромаджуються в цей період дуже швидко зв'язують всі наявні в кишковому вмістимому захисні антитіла та пошкоджують захисний механізм кишкової стінки, внаслідок чого її проникність

підвищується, що дозволяє токсичним речовинам і навіть бактеріям проникати в організм. Існуючі методи профілактики та лікування колієнтеротоксемії поросят малоефективні.

Основною імунологічною властивістю імуноглобулінів є висока афінність до патогенних збудників і чинників, внаслідок чого вони здатні нейтралізувати бактеріальні токсини, знижувати інфекційність вірусів, блокувати прикріплення бактерій до клітин [1]. Окрім цього, застосування препаратів імуноглобулінів є обґрунтованим у всіх випадках недостатності гуморальної ланки імунної відповіді, обумовлена імуносупресією. Протективний ефект імуноглобулінів обумовлений біологічними властивостями молекул IgG, для яких є характерний функціональний дуалізм — ідентифікація і зв'язування чужорідного агенту і його виведення із циркуляції шляхом ряду механізмів (запуск комплементарного каскаду, активація оксоно-фагоцитарних реакцій шляхом взаємодії із специфічними Fc- і C3b рецепторами фагоцитів, активація NK-клітин).

У зв'язку з цим метою нашої роботи було дослідження вмісту окремих класів імуноглобулінів у сироватці крові клінічно здорових і хворих на колієнтеротоксемію поросят, а також їх вмісту в сироватці крові за парентерального введення  $\gamma$ -глобулінів поросят перед відлученням від свиноматки.

### **Матеріали і методи**

Проведено два досліді у фермерському підприємстві «Едем» Жовківського р-ну Львівської області. Перший досліді проведено на клінічно здорових і хворих на ентеротоксемію поросят великої білої породи. Другий досліді проведено на 25-добових поросят великої білої породи, розділених за принципом аналогів на дві групи (контрольну і дослідіну), по 10 тварин у кожній. Дослідіній групі поросят за 3 доби до відлучення, яке проводили у 28-добовому віці, внутрішньом'язово вводили гамма-глобуліни у дозі 1 мл/кг маси тіла, повторне введення препарату проводили на 12-у добу після відлучення. Контрольній групі поросят відповідно у вказані періоди вводили фізіологічний розчин.

Для проведення імунологічних дослідіжень у першому і другому досліді від поросят брали кров з краніальної порожнистої вени. У першому досліді — одноразово, від клінічно здорових (контрольна група) і хворих на колієнтеротоксемію поросят (дослідіна група). У другому — за 3 дні до відлучення та на 12-, 22- і 32-у добу після відлучення.

У сироватці крові поросят визначали: вміст загального білка методом Лоурі, за допомогою набору фірми «LACHEMA» (Чехія) та вміст імуноглобулінів IgG і IgM у реакції імунодифузії за Манчіні [11]. Статистичну обробку одержаних даних проводили за комп'юперною програмою Microsoft Excel.

### **Результати й обговорення**

При дослідіженні та оцінці захисних імунологічних реакцій організму на дію патогенних чинників важливе значення має визначення вмісту загального білка. Це зумовлено центральним положенням білків сироватки у метаболічних процесах, що лежать в основі росту і розвитку тварин та їх резистентності. Однією з характерних особливостей білків є здатність змінюватись залежно від стану організму.

З наведених у таблиці 1 даних видно, що вміст загального білка у сироватці крові поросят дослідіної групи був у 1,2 раза менший ( $p < 0,05$ ), ніж у сироватці крові тварин контрольної групи. Нижчий вміст білків у сироватці крові поросят, хворих на колієнтеротоксемію, можна пояснити білковим голодуванням, поганим засвоєнням протеїну з кормів, посиленням синтезом антитіл на дію патогенних чинників цього захворювання [12].

Серед білків сироватки крові тварин вирішальне значення у протиінфекційному захисті організму на різних стадіях розвитку мають імуноглобуліни різних класів. Особлива

цінність визначення захисних білків, зокрема імуноглобулінів окремих класів у крові тварин полягає в тому, що вони є кінцевими продуктами В-системи імунітету, а їх концентрація корелює зі стійкістю їх проти інфекційних захворювань [11–15].

Таблиця 1

**Вміст загального білка та імуноглобулінів класу Ig G і Ig M у сироватці крові поросят (M±m, г/л, n=8)**

| Показники       | Групи тварин |             |
|-----------------|--------------|-------------|
|                 | контрольна   | дослідна    |
| Загальний білок | 75,01±2,31   | 60,01±2,31* |
| Ig G            | 12,48±1,01   | 9,22±0,54*  |
| Ig M            | 2,02±0,11    | 1,61±0,09*  |

Примітка: У цій та наступній таблиці різниці статистично вірогідні між поросятами контрольної та дослідної груп позначені: \* —  $p < 0,05$ ; \*\*\* —  $p < 0,001$

Результати досліджень (табл. 1) показали, що у поросят, хворих на колієнтеротоксемию, вміст імуноглобулінів G і M у сироватці крові був відповідно на 25,32 і 20,3 % ( $p < 0,05$ ) менший, ніж у сироватці крові поросят контрольної групи. Зниження вмісту сироваткових IgG і IgM у поросят за умов колієнтеротоксемії може бути зумовлено їх інтенсивним використанням у нейтралізації токсинів  $\beta$ -гемолітичних штамів *E. coli*, а також залученням їх до утворення циркулюючих імунних комплексів і реакцій клітинного імунітету. Разом з тим зменшення вмісту Ig у крові поросят може бути зумовлено також і зміною кількості В-лімфоцитів та загальних Т-лімфоцитів у периферичній крові [12]. Водночас, враховуючи, що синтез IgG є тимусзалежним процесом і відбувається при наявності Т-хелперів/індукторів, можна припустити, що порушення продукції IgG, при колієнтеротоксемії зумовлено також дисфункцією теофілін-резистентних Т-лімфоцитів.

Відомо, що у поросят основним захисним білком проти збудників інфекції є IgG. Імуноглобуліни G мають високу нейтралізуючу здатність по відношенню до вірусів, бактерій, токсинів тощо, а також залучаються у регуляцію гуморального та клітинного імунітету [11; 14; 16]. Імуноглобуліни класу M також беруть участь у нейтралізації токсинів і різних антигенів. Кожна молекула цього білка може зв'язувати молекули антигену, що є дуже важливим при надлишку антигенів у хворих тварин. За рахунок високої валентності IgM можуть зв'язувати багато антигенів та утворювати великі імунні комплекси, що веде до швидкого виведення антигенів із циркуляції. Важливо підкреслити, що частина IgM у свиней продукується локально та відноситься до секреторних імуноглобулінів [11, 16, 17]. Окремі автори [18] припускають, що IgM за функціональною активністю в імунних реакціях переважають IgG у 80–180 разів. Оскільки IgM продукуються першими у відповідь на дію антигенів, їм приділяється особлива увага при розробці способів забезпечення протиінфекційного захисту у хворих тварин.

З наведених у таблиці 2 результатів досліджень видно, що відлучення поросят від свиноматки впливає на вміст загального білка у сироватці крові тварин контрольної групи. Зокрема спостерігається зниження його вмісту у сироватці крові поросят на 12-й день після відлучення ( $p < 0,01$ ), а на 32-й день він досягав рівня, як виявлено до відлучення. Введення поросят дослідної групи за 3 дні до відлучення специфічних  $\gamma$ -глобулінів спричиняє збільшення вмісту загального білка у сироватці крові. Зокрема, на 12-, 22- і 32-й день після відлучення, вміст загального білка у сироватці крові поросят дослідної групи був більший відповідно ( $p < 0,001$ ;  $p < 0,001$ ;  $p < 0,05$ ), ніж у поросят контрольної групи (табл. 2). З цих даних випливає, що введення поросят перед відлученням специфічних  $\gamma$ -глобулінів стимулює синтез сироваткових білків.

До важливих показників, які характеризують імунобіологічний стан тварин відносяться вміст імуноглобулінів у їх крові. У поросят ідентифіковано три основних класи захисних білків: IgG, IgM та IgA [14]. У своїй роботі ми визначали в сироватці крові вміст імуноглобулінів двох класів — IgG і IgM, оскільки вони мають вирішальне значення в протипатогенній захисті, забезпечуючи пасивний імунітет у поросят в ранньому віці [19].

Таблиця 2

Вміст загального білка та Ig G і Ig M у крові поросят при застосуванні  $\gamma$ -глобулінів ( $M \pm m$ , г/л,  $n=5$ )

| Показники       | Групи тварин | Періоди дослідження    |                            |                            |                            |
|-----------------|--------------|------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
|                 |              | за 3 дні до відлучення | 12-й день після відлучення | 22-й день після відлучення | 32-й день після відлучення |
| Загальний білок | К            | 73,55±0,76             | 70,42±0,45 <sup>00</sup>   | 72,92±0,54                 | 73,59±0,39                 |
|                 | Д            |                        | 74,31±0,39***              | 76,81±0,66***              | 75,41±0,42*                |
| Ig G            | К            | 10,75±1,21             | 9,32±0,61 <sup>0</sup>     | 11,15±0,82                 | 14,02±1,25 <sup>0</sup>    |
|                 | Д            |                        | 11,95±0,80*                | 14,35±0,95*                | 15,4±1,32                  |
| Ig M            | К            | 1,82±0,10              | 1,92±0,10                  | 2,12±0,10                  | 2,16±0,22                  |
|                 | Д            |                        | 2,05±0,33                  | 2,65±0,10*                 | 2,05±0,19                  |

Примітка: У цій таблиці різниці статистично вірогідні між показниками у поросят до- і після відлучення позначені: <sup>0</sup> —  $p < 0,05$ ; <sup>00</sup> —  $p < 0,01$ .

Проведені нами дослідження показали (табл. 2), що відлучення поросят від свиноматок призводить до зниження концентрації IgG у сироватці крові на 12-й день ( $p > 0,05$ ) і збільшенням його вмісту на 32-й день після відлучення ( $p < 0,05$ ). При цьому вміст IgM у сироватці крові поросят на всіх стадіях після відлучення від свиноматок істотно не змінювався. Зниження вмісту IgG у сироватці крові поросят контрольної групи може бути зумовлено антигенним впливом аліментарних факторів при переході поросят від молочного до змішаного типу живлення.

Введення поросятам дослідної групи специфічних гамма-глобулінів призвело до зростання вмісту IgG і IgM у сироватці крові на всіх стадіях дослідження після відлучення їх від свиноматок (табл. 2). Зокрема, вміст IgG у сироватці крові поросят дослідної групи на 12- і 22-й день після відлучення був відповідно на 29 ( $p < 0,05$ ) і 28 % ( $p < 0,05$ ) більший, ніж у тварин контрольної групи. Введення поросятам дослідної групи специфічних гамма-глобулінів призвело до збільшення на 29 % ( $p < 0,05$ ) концентрації IgM у сироватці крові на 22-й день після відлучення, порівняно з тваринами контрольної групи.

Імуноглобуліни є кінцевими продуктами В-клітин, а визначення їх вмісту в крові тварин дозволяє оцінити В-систему імунітету, як з кількісної, так і з функціональної сторони [15, 16]. Виявлене нами збільшення концентрації окремих класів імуноглобулінів у сироватці крові поросят дослідної групи свідчить про стимулювальний вплив специфічних  $\gamma$ -глобулінів на антитілогенез, що узгоджується із зростанням кількості В-лімфоцитів [19].

Отже, враховуючи важливе значення IgM у первинній імунній відповіді та IgG у протибактеріальному захисті, можна зробити висновок, що зниження їх вмісту у сироватці крові поросят є прогностично несприятливою ознакою перебігу колієнтеротоксемії. Введення поросятам дослідної групи перед відлученням від свиноматок специфічних гамма-глобулінів стимулює антитілогенез в їхньому організмі, що можливо зумовлено активуючим впливом Fab і Fc фрагментів імуноглобулінів.

## Висновки

1. Встановлено вірогідно менший вміст загальних білків та IgG і IgM у сироватці крові поросят, хворих на колієнтеротоксемию, порівняно з клінічно здоровими.

2. Введення поросят перед відлученням від свиноматок специфічних  $\gamma$ -глобулінів призводить до вірогідного зростання вмісту загальних білків у сироватці крові у всі досліджувані періоди після відлучення, Ig G на 12- і 22-й день після відлучення, а Ig M — на 22-й день після відлучення.

**Перспективи подальших досліджень.** Будуть проведенні комплексні дослідження імунної системи та біохімічного профілю крові у поросят при захворюванні колієнтеротоксемією та застосуванні препаратів імунобіологічної дії.

*M. I. Ratskiy, O. I. Vishchur, I. V. Kychun, N. A. Broda, N. M. Leshovska, D. I. Mudrak*

## **CONTENT OF SEPARATE IMMUNOPROTEINS CLASSES IN BLOOD OF PIGLETS, SICK ON KOLIENTEROTOKSEMIA AT APPLICATION OF $\gamma$ -GLOBULINES**

### **S u m m a r y**

Results of researches of total protein, immunoglobulins of G and M content in blood serum of clinically healthy and sick on kolienterotoxemia piglets and under application of specific  $\gamma$ -globulines are presented in this article. Reliable lower content of crude albumen IgG and IgM in blood serum of sick on kolienterotoxemia piglets in comparison to their content in blood serum of clinically healthy animals was established. Parenteral introduction to piglets of experimental group of specific  $\gamma$ -globulines leads to the increase of total protein content, IgG and IgM in blood serum, that can be predefined by stimulating influence of Fab- and Fc-fragments of immunoglobulins.

*M. И. Рацкий, О. И. Вищур, И. В. Кичун, Н. А. Брода, Н. М. Лешовская, Д. И. Мудрак*

## **СОДЕРЖАНИЕ ОТДЕЛЬНЫХ КЛАССОВ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ В КРОВИ ПОРОСЯТ, ПРИ КОЛИЭНТЕРОТОКСЕМИИ И ПРИ ПРИМЕНЕНИИ $\gamma$ -ГЛОБУЛИНОВ**

### **А н н о т а ц и я**

Приведены результаты исследования содержания иммуноглобулинов G и M в сыворотке крови клинически здоровых и больных колиэнтеротоксемией поросят, а также при применении специфических  $\gamma$ -глобулинов. Установлено достоверно меньшее содержание общего белка, IgG и IgM в сыворотке крови поросят больных колиэнтеротоксемией, по сравнению с их содержанием в сыворотке крови клинически здоровых. Парентеральное введение поросятам опытной группы специфических  $\gamma$ -глобулинов приводит к увеличению содержания общего белка, IgG и IgM в сыворотке крови, что может быть предопределено стимулирующим влиянием Fab- и Fc-фрагментов иммуноглобулинов.

1. *Сапин М. Р.* Иммунная система, стресс и иммунодефицит / М. Р. Сапин, Д. Б. Никитюк. — М. : АПП «Джангар», 2000. — 184 с.

2. *Коршунова Л. М.* Морфологія та функції системи імунітету сільськогосподарських тварин / Л. М. Коршунова, С. Ф. Сікачина, В. В. Сентюрін. — Дніпропетровськ : ДДАУ, 2003. — 239 с.

3. *Гущин З. В.* Применение иммуномодуляторов различной химической природы для повышения естественной резистентности свиней : матер. всесоюз. научн. конф. «Фарм. и токсикол. аспекты прим. лекарств. веществ» / З. В. Гущин, Л. Ю. Карпенко, Ю. М. Рудаков. — М., 1992. — С. 24–26.

4. *Простяков А. П.* Применение иммуноглобулинов пороссятам раннего возраста / А. П. Простяков, Г. З. Кочиашвили, Д. Г. Вардосанидзе // Ветеринария. — 1983. — № 7. — С. 38–39.
5. *Алвердиев Г. Р.* Клеточный и гуморальный иммунитет у телят разной степени физиологической зрелости и коррекция его пептидными биорегуляторами : автореф. дис... канд. вет. наук (16.00.02) / Г. Р. Алвердиев // Санкт-Петербург. вет. ин-т. — СПб., 1992. — 17 с.
6. *Євтушенко А. Ф.* Профілактика набрякової хвороби свиней / А. Ф. Євтушенко, О. С. Бондарчук. — 1983. — С. 48–66.
7. *Павлов Є. Г.* Колибактериозы молодняка сельскохозяйственных животных и птицы / Є. Г. Павлов, Л. К. Волинец, А. Н. Головки, та ін. — 1995. — С. 108–126.
8. А.с. 1596536. СССР. Способ лечения колибактериоза пороссят и телят / Я. Г. Кишко, А. И. Собко, Н. Я. Спивак и др. — Опубл. 01.06.90.
9. *Хайтов Р. М.* Современные представления о защите организма от инфекции / Р. М. Хайтов, Б. В. Пинегин // Иммунология. — 2000. — № 1. — С. 61–65.
10. *Mynott T. L.* Oral administration of protease inhibitors enterotoxigenic Escherichia coli receptor activity in piglet small intestine / T. L. [Mynott](#), [R. K. Luke](#), [D. S. Chandler](#) // Gut. — 1996. — Т. 1, № 3. — Р. 28–32.
11. *Чернушенко Е. Ф.* Подклассы иммуноглобулинов (IgG, IgA) в крови, изменения их содержания при различных патологических состояниях, методы исследования / Е. Ф. Чернушенко, С. А. Олейник, И. Ф. Мишунин // Лабор. диагн. — 1999. — № 3. — С. 72–77.
12. *Рацький М. І.* Формування клітинного імунітету у поросят за умов колієнтеротоксемії / М. І. Рацький // Наук.-техн. бюл. Ін-ту біології тварин і ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок. — Львів, 2009. — Вип. 10, № 1–2. — С. 408–411.
13. *Пигаревский П. В.* Сравнительная характеристика содержания иммуноглобулин-синтезирующих клеток и иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов в лимфатических узлах и селезенке человека / П. В. Пигаревский // Морфология. — 1998. — Т. 114, № 6. — С. 47–49.
14. *Фесенко И. Д.* Уровень иммуноглобулинов в сыворотке крови как показатель иммунологического статуса организма : труды ВИЭВ. / И. Д. Фесенко // Иммунитет с.-х. животных. — 1989. — Т. 67. — С. 55–59.
15. *Carrol M. C.* The complement system in B-cell regulation / M. C. Carrol // Mol. Immunol. — 2004. — V. 41. — P. 141–146.
16. *Worku M.* Complement component C3b and immunoglobulin Fc receptor on neutrophil from calves with leukocyte adhesion deficiency / M. Worku // Vet. Res. — 1995. — Vol. 36, № 4. — P. 435–439.
17. *Кудашов Н. И.* Клиническое значение мономеров и пентамера иммуноглобулинов класса М у новорожденных в раннем постнатальном периоде / Н. И. Кудашов, С. С. Василейский, Т. И. Калафати // Акушерство и гинекология. — 1988. — № 1. — С. 48–50.
18. *Суровас В. М.* Определение IgM и IgG на поверхности лимфоцитов методом регистрации розеток с эритроцитами, покрытыми антииммуноглобулинами / В. М. Суровас, Ю. К. Пешкус, В. И. Тамошюнас // Цитология. — 1980. — Т. 22, № 8. — С. 967–981.
19. *Рацький М. І.* Ефективність дії специфічних  $\gamma$ -глобулінів на клітинний імунітет поросят / М. І. Рацький // Наук.-техн. бюл. Ін-ту біології тварин і ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок. — Львів, 2007. — Вип. 8, № 3–4. — С. 178–181.

**Рецензент:** завідувач лабораторії живлення овець та вовноутворення, доктор сільськогосподарських наук, с. н. с. П. В. Стапай.