

УДК 636.2:612:615.36

ВПЛИВ ГІДРОФІЛЬНОГО ЕКСТРАКТУ ІЗ ЛЯЛЕЧОК ДУБОВОГО ШОВКОПРЯДА НА РЕАКТИВНІСТЬ ОРГАНІЗМУ ТЕЛИЦЬ**ТРОКОЗ В. О.**, д. с.-г. н., доцент,
професор кафедриНаціональний університет біоресурсів і
природокористування України, м. Київ
tassar@bigmir.net

Описані результати дослідження застосування гідрофільного екстракту з лялечок дубового шовкопряда для стимулювання імунітету у молодняку великої рогатої худоби. Вивчали кількість еритроцитів і лейкоцитів, вміст гемоглобіну, лейкограму, вміст загального білка та співвідношення його фракцій, концентрацію імуноглобулінів А, G і M, титри гетерофільних аглютинінів, фагоцитарні індекс і показник, загальну комплементарну активність сироватки крові, кількість популяцій лімфоцитів та субпопуляцій T-лімфоцитів у крові телиць. Динаміка зміни цих показників після обробки тварин гідрофільним екстрактом та вакцинації дозволяє говорити про зменшення негативного впливу антигенного подразника на організм тварин. Це проявляється активацією неспецифічної резистентності організму тварини і він спроможний протистояти антигену без суттєвого залучення специфічних механізмів імунітету

Телиці, імунітет, антиген, корекція, дубовий шовкопряд, лялечки, екстракт

Вступ. Сучасне інтенсивне тваринництво вимагає високих біологічних результатів поряд з ефективністю виробництва. Однією з причин низької продуктивності молодняку великої рогатої худоби на тваринницьких фермах є захворювання й адаптаційні стреси [3]. Актуальним напрямком досліджень є розроблення препаратів для корекції вказаних станів та методів застосування біологічно активних речовин для підвищення резистентності [4, 5, 12]. Одним із перспективних і надзвичайно цінних джерел для одержання біологічно активних речовин природного походження є дубовий шовкопряд. Про це свідчать багаточисленні роботи вітчизняних і зарубіжних учених [1, 2, 10, 11]. Питанням застосування цих речовин у тваринництві надано недостатньо уваги. Тому подальше вивчення впливу на організм тварин біологічно активних речовин, отриманих з дубового шовкопряда, є актуальним і необхідним.

Мета досліджень – встановити фізіологічну ефективність застосування гідрофільного екстракту з лялечок дубового шовкопряда (ГЕ) для стимулювання імунітету у молодняку великої рогатої худоби.

Матеріали і методи досліджень. Вивчення впливу ГЕ проводили на телицях-аналогах української чорно-рябої молочної породи 6–7-місячного віку (дві групи, по 8 голів у кожній).

Тваринам контрольної групи двічі з інтервалом 5 діб вводили підшкірно фізіологічний розчин у дозі 0,1 мл на 1 кг маси тіла, а телицям дослідної групи – за такою самою схемою ГЕ [9]. Через 10 діб після цього всім тваринам наносили біологічний подразник (БП), в якості якого використали вакцину проти сальмонельозу. Для виявлення змін в організмі телиць під впливом екстракту і БП досліджували кров: на початку досліджень, через 10 діб після закінчення обробки тварин ГЕ (перед вакцинацією), через 10, 20, 30, 45 та 65 діб після вакцинації. Ефективність ГЕ оцінювали за кількістю еритроцитів і лейкоцитів (шляхом підрахунку в камері Горяєва), вмістом гемоглобіну гемоглобінціанідним методом, лейкограмою (мазки крові фарбували за Романовським-Гімза), вмістом загального білка біуретовою реакцією, співвідношенням його фракцій турбідиметричним методом, вмістом імуноглобулінів класів А, G і M [396], титрами гетерофільних аглютинінів [8], фагоцитарними індексом і показником [364], загальною комплементарною активністю сироватки крові [6], кількістю популяцій лімфоцитів та субпопуляцій T-лімфоцитів [8] у крові тварин. Статистичний аналіз отриманих результатів досліджень здійснювали з використанням Microsoft Excel [7].

Результати досліджень та їх обговорення. Одним із основних проявів реакції організму на БП є зміни морфологічного складу крові. У тварин дослідної групи спостерігали вірогідне підвищення кількості еритроцитів на 10-ту добу після вакцинації до $7,51 \pm 0,33$ Т/л. Про стимулюючий вплив на гемопоез свідчать і зміни вмісту гемоглобіну у крові тварин цієї групи. Встановлено вірогідне підвищення вмісту гемоглобіну перед вакцинацією та на 10-ту добу після неї відповідно на 7,8 та 4,5 % порівняно з контрольними тваринами, яким вводили 0,89 %-вий розчин NaCl.

Введення телицям GE призводило до змін у їх лейкограмі. Через 10 діб після закінчення введення GE у цих тварин спостерігали тенденцію до зниження кількості усіх форм лейкоцитів. Частка ж сегментоядерних нейтрофілів дещо збільшилася і вірогідно ($p < 0,01$) відрізнялася від початкового рівня та порівняно з контрольними телицями через 10 діб після подразнення. У цей період вірогідно зменшувалася частка еозинофілів у крові тварин обох груп. Найсуттєвіших змін під впливом GE з подальшою вакцинацією проти сальмонельозу зазнала відносна кількість еозинофілів (спостерігали вірогідне ($p < 0,05$) зниження), сегментоядерних нейтрофілів (тенденція до збільшення відносної кількості під впливом GE) та лімфоцитів (тенденція до зменшення під впливом екстракту).

Установлено, що на вміст загального білка

сироватки крові та співвідношення його фракцій впливали як БП, так і GE. Вплив екстракту за дії БП на систему білків сироватки крові полягав у активації білоксинтетичних процесів в організмі, що обґрунтовано вірогідним зростанням концентрації загального білка сироватки крові. Втім, вміст білкових фракцій під впливом GE змінився мало. Це стосується, зокрема, і глобулінової фракції, де містяться імунні тіла, які здійснюють специфічний захист організму.

Динаміка вмісту імуноглобулінів у тварин контрольної та дослідної груп за впливу БП була подібною: підвищення рівня IgA та IgG в крові телиць під впливом антигенного подразнення з подальшим поступовим зниженням. Концентрація IgM незначно знижувалася через 20 діб після вакцинації з поступовим поверненням до початкових показників. Гідрофільний екстракт стимулював продукцію імуноглобулінів як в інтактному організмі, так і під час дії БП. Установлений вірогідний вплив ($p < 0,05$) GE на концентрацію імуноглобулінів класу G через 20–45 діб після впливу БП.

Біологічне подразнення спричинило поступове зростання титрів гетерофільних аглютининів до 20-ї доби після вакцинації (табл. 1). У наступний період величина показника не змінювалася (30-та доба), а потім поступово знижувалася і поверталася до початкових значень. У тварин, яким вводили GE, не встановлено суттєвого зростання титру природних антитіл після початку дії БП. Надалі рівень цих антитіл знижувався і

Таблиця 1. Титр гетерофільних аглютининів у сироватці крові телиць за впливу екстракту з лялечок шовкопряда, кількість розведень, $n=8$; $M \pm m$

Час дослідження	Група	
	I контрольна	II дослідна
На початок досліджень	$4,50 \pm 1,04$	$4,25 \pm 1,11$
Через 10 діб після введення екстракту	$4,75 \pm 0,96$	$6,00 \pm 1,18$
Через 10 діб після вакцинації	$7,00 \pm 0,89$	$7,50 \pm 0,52^*$
Через 20 діб після вакцинації	$12,00 \pm 2,37^*$	$8,50 \pm 1,11^*$
Через 30 діб після вакцинації	$12,00 \pm 2,37^*$	$9,50 \pm 1,92^*$
Через 45 діб після вакцинації	$8,50 \pm 1,11^*$	$7,50 \pm 1,55$
Через 65 діб після вакцинації	$5,75 \pm 1,33$	$3,75 \pm 0,78$

* $p < 0,05$ порівняно з початковим значенням

Таблиця 2. Показники неспецифічного імунітету телиць, яким вводили гідрофільний екстракт із лялечок шовкопряда, n=8; M±m »

Термін дослідження	ФІ, %	ФП, %	ЗКА, СН ₅₀ /мл
контрольна група			
На початок досліджень	26,75±1,30	4,46±0,13	43,75±0,78
Через 10 діб після введення екстракту	26,50±1,04	4,53±0,10	43,63±1,02
Через 10 діб після вакцинації	*29,75±0,59	*4,80±0,44	*48,50±1,63
Через 20 діб після вакцинації	*31,38±0,61	*4,95±0,10	47,75±2,94
Через 30 діб після вакцинації	*32,50±0,52	*4,90±0,06	*50,50±2,07
Через 45 діб після вакцинації	*32,75±0,33	4,74±0,08	*49,25±1,63
Через 65 діб після вакцинації	28,75±1,33	4,50±0,13	44,00±1,78
дослідна група			
На початок досліджень	26,75±0,89	4,45±0,13	43,50±1,04
Через 10 діб після введення екстракту	*29,50±0,96*	*4,83±0,11	*47,25±1,15*
Через 10 діб після вакцинації	*31,88±1,09	*4,98±0,20	*50,00±2,07
Через 20 діб після вакцинації	*34,00±0,59*	*5,11±0,19	*51,25±1,33
Через 30 діб після вакцинації	*34,38±0,57*	*5,14±0,19	*51,50±1,04
Через 45 діб після вакцинації	*34,75±0,89*	*5,08±0,16	*51,50±0,96
Через 65 діб після вакцинації	*31,25±1,33	*5,01±0,10*	*50,25±0,78*

Примітки: 1. ФІ – фагоцитарний індекс, ФП – фагоцитарний показник, ЗКА – загальна комплементарна активність. 2. *p<0,05 перед значенням – порівняно з початковими показниками, після значення – з контрольною групою

на 65-ту добу після вакцинації майже не відрізнявся від початкового показника.

Одним із компонентів неспецифічного імунітету є активність фагоцитів, яку оцінювали за фагоцитарним індексом і фагоцитарним показником (табл. 2).

Після вакцинації спостерігали вірогідне (p<0,05) зростання щодо початкових значень фагоцитарних параметрів у тварин обох груп, хоча така реакція була більш вираженою у тварин, яким вводили ГЕ. У відповідь на дію БП фагоцитарна активність у тварин зростала до 20–45 доби після вакцинації і далі поступово знижувалась. У телиць, які отримували ГЕ, фагоцитарний індекс і фагоцитарний показник вірогідно підвищилися порівняно з початковим рівнем уже після обробки тварин ГЕ, а фагоцитарний індекс у тварин дослідної групи був вірогідно вищим і порівняно з контролем. Так, їх фагоцитарний індекс порівняно з контрольним був вірогідно (p<0,05) вищим на 1,88–2,62 % з 20-ї до 45-ї доби після вакцинації, а фагоцитарний показник цих тварин – на 0,51 % (p<0,05) на 65-ту добу після початку дії БП. Ці показники фагоцитозу були на високому рівні у дослідних тварин триваліший пері-

од, що свідчить про активацію ГЕ фагоцитарної ланки імунітету. Динаміка загальної комплементарної активності сироватки крові полягала у зростанні після вакцинації з поступовим поверненням до початкових значень. Проте цей показник виявився вірогідно вищим у тварин, які одержували ГЕ, на 8,3 % (p<0,05) через 10 діб після введення екстракту та на 14,2 % (p<0,05) через 65 діб після вакцинації.

За впливу БП відбувалися зміни відносної і абсолютної кількості імунокомпетентних клітин крові тварин. У крові телиць нами встановлена така кількість клітин: лімфоцити – 3,01–3,19 Г/л, Т-лімфоцити – 0,99–1,05 Г/л (32,38–32,88 %), В-лімфоцити – 0,37–0,39 Г/л (12,00–12,12 %) та 0-лімфоцити – 1,65–1,75 Г/л (55,00–55,50 %). Біологічне подразнення призвело до збільшення числа лімфоцитів, зокрема їх Т- і В-популяцій як в абсолютних, так і у відносних значеннях. При цьому, відносна кількість 0-лімфоцитів зменшувалася з тенденцією до зниження їх абсолютного числа. Відновлення лімфоцитарного гомеостазу відбувалося наприкінці вироблення поствакцинального імунітету (45–65-та доба після щеплення).

Отже, ГЕ є засобом зменшення наслідків

впливу БП, що відображається на імунокомпетентних клітинах крові. Встановлено, що антигенний подразник впливає на систему Т-клітинного імунітету. У контрольних тварин ріст числа цих клітин на 5,6–75 % перевищував аналогічний показник телиць, які отримували ГЕ. У них тенденція до активації Т-хелперів виникала після обробки їх екстрактом, а вірогідне збільшення – лише після вакцинації, що може свідчити про підвищення рівня імунітету. Нами відмічена активація Т-супресорів в абсолютному числі у тварин контрольної групи (на 60 % при $p < 0,05$) відразу ж після пред'явлення антигена, що свідчить про гальмування імунної відповіді. Проте надалі кількість цих клітин вірогідно не відрізнялася від початкової, а коливання не перевищували 13–17 %. У телиць, яким перед вакцинацією вводили ГЕ, вірогідного збільшення числа Т-супресорів не встановлено. Найбільш реактивними до БП виявилися Т-активні лімфоцити. Динаміка їх кількості характеризувалася різким збільшенням унаслідок вакцинації з подальшим поверненням до норми. Проте, число Т-активної субпопуляції лімфоцитів у контрольних тварин було значнішим і тривалішим час – від 10-ї до 65-ї доби після початку вакцинації. У тварин, яким вводили ГЕ, пік збільшення кількості Т-активних клітин (260 %) спостерігали через 30 днів після введення вакцини. Зміни у цих тварин були меншими в абсолютних величинах, хоча відносно їх число у деякі періоди формування імунітету було вірогідно вищим порівняно з контролем. Це свідчить про перерозподіл захисних механізмів в організмі тварин під впливом ГЕ, який зменшує негативний вплив антигенного чинника.

Висновки та перспективи подальших розробок. Підшкірні ін'єкції гідрофільного екстракту із лялечок дубового шовкопряда перед вакцинацією тварин інтенсифікують процеси гемопоєзу у телиць – підвищують кількість еритроцитів ($p < 0,05$) та вміст гемоглобіну, загальну кількість лейкоцитів ($p < 0,05$), в основному, за рахунок збільшення числа сегментоядерних нейтрофілів із зменшенням кількості еозинофілів у крові на початку впливу антигенного подразника.

Гідрофільний екстракт із лялечок дубового шовкопряда за дії біологічного подразника активує білоксинтетичні процеси в організмі тварин з вірогідним зростанням концентрації загального білка сироватки крові ($p < 0,05$) за рахунок глобулінів ($p < 0,05$) після введення екстракту та через 20 і 30 днів після вакцинації, при цьому концентрація та відносний вміст α - і γ -глобулінів змінювалися лише під впливом антигену.

Гідрофільний екстракт із лялечок дубового шовкопряда стимулює неспецифічний імунітет організму тварин з підвищенням фагоцитарного індексу ($h^2_x = 0,26–0,54$ при $p < 0,05$) і фагоцитарного показника ($h^2_x = 0,31–0,54$ при $p < 0,05$), а також загальної комплементарної активності сироватки крові ($h^2_x = 0,42–0,57$ при $p < 0,05$) через 10 днів після обробки екстрактом та через 10–45, 45–65 та 65 днів після початку антигенного подразнення.

Ін'єкції екстракту з лялечок шовкопряда молодняку великої рогатої худоби зменшують наслідки біологічного подразнення, що підтверджується зменшенням зміни титру гетерофільних аглютининів при менших, порівняно з контролем, значеннях вірогідності та тривалості таких змін, а також посиленням продукції імуноглобулінів класу G після введення екстракту та через 45–65 днів після початку антигенного подразнення.

Імунна система організму тварин при дії біологічного подразника реагувала на обробку гідрофільним екстрактом із лялечок дубового шовкопряда менш вираженим збільшенням загальної кількості лімфоцитів через 10 днів після вакцинації ($p < 0,05$) за рахунок їх Т- і В-популяцій через 10–20 днів після початку антигенного подразнення ($p < 0,05–0,01$) порівняно з контролем, де спостерігали гальмування імунної відповіді, шляхом активації Т-супресорів (на 60 % при $p < 0,05$ порівняно з початковим показником).

Дослідження впливу природних біологічно активних речовин на організм тварин є надзвичайно актуальним, тому подальше вивчення екстрактів із тканин дубового шовкопряда та їх лікувально-профілактичної ефективності буде продовжено.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антиоксидантная активность гемолимфы куколок дубового шелкопряда при моделировании окислительного стресса в клетках человека / А. А. Чиркин, Е. И. Коваленко, И. Б. Заводник, Д.И. Паршонок // Экол. антропология. – Минск: Изд-во «Беларускі камітэт «Дзеці Чарнобыля», 2009. – С. 61–65.
2. Биологические эффекты высоких разведенных гидрофильных компонентов куколок дубового шелкопряда [Электронный ресурс] / А. А. Чиркин, А. Я. Катин, Е. О. Данченко [и др.]. – Режим доступа: <http://aconitpharma.by/index.php/2011-04-07-06-53-13/2011-04-07-07-01-46/123-2012-05-11-12-26-12>. html. – 18.06.2012.
3. Вплив препарату “БАІ-1” на резистентність організму тільних корів і новонароджених телят / С. І. Скрипник, Н. Б. Порембська, І. А. Захарова [та ін.] // Науковий вісник Національного аграрного університету. – К.: Вид-во НАУ, 1998. – Вип. 11. – С. 11–16.
4. Дахно И. С. Влияние иммуностимуляторов L-аргинина и РНК на иммунный статус коров при фасциозе [Электронный ресурс] / И. С. Дахно // Режим доступа: http://www.agromage.com/stat_id.php?id=183. – 20.05.2011.
5. Жиялкова Т. П. Повышение резистентности организма животных путем применения препарата гумитон: Автореф. дисс. на соиск. уч. ст. канд. биол. наук: спец. 03.00.13 / Т. П. Жиялкова; Томский гос. ун-т. – Томск, 2006. – 20 с.
6. Імунологічний контроль ветеринарних лікарських засобів: Метод. рек. / М. В. Косенко, І. Я. Коцюмбас, Ю. С. Клос [та ін.] – Львів, 2002. – 22 с.
7. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Microsoft Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К.: Морион, 2000. – 319 с.
8. Определение естественной резистентности и обмена веществ у сельскохозяйственных животных / В. Е. Чумаченко, А. М. Высоцкий, Н. А. Сердюк, В. В. Чумаченко – К.: Урожай, 1990. – 136 с.
9. Патент на винахід № 16965 Україна. А61К35/00, А61К/35/78. Спосіб одержання лікувального екстракту / Трокоз В. О., Лотош Т. Д., Абрамова А. Б. [та ін.]; заявник і патентовласник Національний аграрний університет. – № 4746744/SU; заявл. 03.10.89; опубл. 29.08.97; Бюл. № 4.
10. Трокоз В. О. Стимуляція фізіологічних процесів у організмі тварин біологічно активними речовинами різного походження: автореф. дис. д-ра с.-г. наук: спец. 03.00.13 / В. О. Трокоз; Львів. нац. ун-т вет. медицини та біотехнологій ім. С.З. Гжицького. – Львів, 2013. – 48 с.
11. Antiproliferative effect of silkworm extract / Lim Haeyoung, Lim Yoong-Eui, Hong Sungwon [et al.] // Journal of applied biological chemistry. – 2007. – Vol. 50 (4). – P. 293–295.
12. Dietary protein influences upon immunity to *Nematodirus battus* infection in lambs / D. A. Israfi, R. L. Coop, L. M. Stevenson [et al.] // Veterinary Parasitology. – Vol. 61, Iss. 3–4. – 1996. – P. 273–286.

ВЛИЯНИЕ ГИДРОФИЛЬНОГО ЭКСТРАКТА ИЗ КУКОЛОК ДУБОВОГО ШЕЛКОПРЯДА НА РЕАКТИВНОСТЬ ОРГАНИЗМА ТЕЛОК

Трокоз В. А.

Описаны результаты исследования применения гидрофильного экстракта куколок дубового шелкопряда для стимулирования иммунитета у молодняка крупного рогатого скота. Изучали количество эритроцитов и лейкоцитов, содержание гемоглобина, лейкограмму, содержание общего белка и соотношения его фракций, концентрацию иммуноглобулинов А, G и M, титры гетерофильных агглютининов, фагоцитарные индекс и показатель, общую комплементарную активность сыворотки крови, количество популяций лимфоцитов и субпопуляций Т-лимфоцитов в крови телок. Динамика изменения этих показателей после обработки животных гидрофильным экстрактом и вакцинации позволяет говорить об уменьшении негативного влияния антигенного раздражителя на организм животных. Это проявляется активацией неспецифической резистентности организма животного и он способен противостоять антигенам без существенного привлечения специфических механизмов иммунитета

Ключевые слова: телки, иммунитет, антиген, коррекция, дубовый шелкопряд, куколки, экстракт

EFFECT OF HYDROPHILIC EXTRACTS OF ANTHERAEA PERNYI PUPAE ON REACTIVITY OF HEIFERS

Trokoz V.

The results of studies that require a hydrophilic extract of oak silkworm pupae to stimulate immunity in young cattle are described. We studied the number of erythrocytes, leukocytes, haemoglobin, leucogram, the total protein content and the value of its fractions, the concentration of immunoglobulin A, G and M titles heterophile agglutinins phagocytes index and the index of the total serum complement activity, the number of population of lymphocytes and subsets of T-lymphocytes in the blood of calves. The dynamics of changes in these parameters after treatment with the extract of hydrophilic and animal vaccination able to talk about reducing the negative impact of antigenic stimulation on animals. This is manifested by the activation of non-specific resistance of the animal and is able to withstand, without significant involvement of specific immune mechanisms of the antigen

Keywords: heifers, immunity, antigen, correction, oak silkworm, pupae, extract
