

УДК: 6196578.832.1:636.5:577.1:615.322

Коваленко Л.В., к.б.н., **Стегній Б.Т.**, д.вет.н., професор, академик НААН,
Шутченко П.О., к.вет.н., **Михайлова С.А.**, к.б.н.,
Стегній М.Ю., к.б.н., **Обуховська О.В.**, к.вет.н. ©
ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»,
м. Харків

ПРОЛІФЕРАТИВНА АКТИВНІСТЬ СПЛЕНОЦИТІВ КУРЧАТ ПРИ НИЗЬКОПАТОГЕННОМУ ГРИПІ ТА ЗАСТОСУВАННІ ПРЕПАРАТУ «ВІТАСТИМ»

У статті представлені результати визначення проліферативної активності лімфоцитів у селезінці курчат птиці при зараженні низькопатогенним штамом вірусу пташиного грипу H4N6, застосуванні препарату рослинного походження «Вітастим» і при їх поєднанні. Встановлено, що розвиток інфекційного процесу супроводжується пригніченням проліферативного потенціалу спленоцитів та зниженням ознак приросту живої маси курчат. Випоювання препарату «Вітастим» зараженій птиці викликає стимуляцію лімопрولیферативних процесів у селезінці а також підвищення живої маси дослідної птиці. Робиться висновок, що отримані дані можуть стати основою для пошуку нових екологічно чистих імунопотенціюючих засобів на основі рослинних екстрактів і з'ясування механізмів їх біологічної дії.

Ключові слова: курчата, низькопатогенний грип, проліферативна активність спленоцитів, приріст живої маси.

Вступ. На низькопатогенний грип птиці (Low Pathogenic Avium Influenza, LPAI) в останні роки звертають увагу не лише як на нозологічну одиницю вірусних інфекцій, а й як на базову модель вивчення грипозної інфекції [1]. Це обумовлено тим, що при інфекціях, викликаних вірусом грипу імунітет, як правило, не є довготривалим – зберігається впродовж декількох місяців. Віруси можуть уникати дії імунних факторів, у тому числі завдяки здатності розмножуватись у клітинах, які в нормі знаходяться в ізоляції від дії імунної системи [2].

У вищеназваних процесах особлива роль належить такому периферійному органу як селезінка. Вона виконує функції кровотворення та «депо» крові, дезінтоксикації та місцем диференціації лімфоцитів, зокрема антиген-залежних Т- та В-лімфоцитів на пізніх стадіях диференціації [3]. Лімфоцити є визначальними серед імунокомпетентних клітин (спленоцитів), які приймають участь у патогенетичних механізмах імунних зрушень при низькопатогенному грипі, а також при дії препаратів імуностимулюючої дії, а

© Коваленко Л.В., Стегній Б.Т., Шутченко П.О., Михайлова С.А., Стегній М.Ю., Обуховська О.В., 2012

визначення їх проліферативної активності є одним з показників потенціалу клітинного імунітету та загальної резистентності організму тварин.

Виходячи з вищезначеного, метою досліджень, результати яких представлені у статті, було визначення ступеня впливу низькопатогенного вірусу грипу птиці та препарату рослинного походження «Вітастим» на проліферативну активність спленоцитів курчат-бройлерів, а також клінічний стан та приріст живої маси курчат.

Матеріал і методи. Дослідження проведені 45-добових курчатах кросу Хаббард 2-х груп (n=35) у лабораторії клінічної біохімії та імунохімії спільно з відділом вивчення хвороб птиці та лабораторією патоморфології та імунології ННЦ «ІЕКВМ».

Курчата I-ї та II-ї груп були інфіковані вірусом низькопатогенного грипу птиці, штам А/крижень/Україна/2007 (H5N2), птиці II-ї групи також випоювали препарат «Вітастим» у дозі 2 мг/кл маси. Курчата III-ї групи отримували лише «Вітастим» у аналогічній дозі, птиця IV-ї групи слугувала інтактним контролем.

Препарат Вітастим – порошок, ліофілізат суміші водних екстрактів хвої Сосни лісової (*Pinus silvestris*) та листя і гілок Дубу звичайного (*Quercus robur*) у співвідношенні 1:1 [4].

Впродовж досліду (14 діб) проводили спостереження за клінічним станом та зважування птиці. Зразки селезінки від 5-ти курчат з кожної групи відбирали на 1-у, 3-ю, 5-ту, 7-му, 10-ту, 14-ту та 21-у добу після зараження. Еутаназію птиці здійснювали під її хлороформним наркозом з дотриманням вимог біоетики.

Визначення проліферативної активності спленоцитів (spleen lymphocytes proliferation, SLP) проводили з використанням методик, описаних Okamura M. et al., [5] і Немтинова П.И та співав., 2006 [6]. Спленоцити інкубували у 96-луночних полістиролових планшетах у CO₂-інкубаторі (5% CO₂). Оптичну густину вимірювали на мікропланшетному спектрофотометрі.

Математичну обробку одержаних даних було виконано за допомогою методів варіаційної статистики [7].

Результати дослідження. При спостереженні за клінічним станом птиці впродовж досліду не зафіксовано значних відмінностей зовнішнього вигляду, поведінки та апетиту птиці усіх дослідних груп. В той же час, аналіз результатів визначення SLP, динаміка яких представлена на рис. 1., свідчить, що перебіг низькопатогенного грипу (I-а група) супроводжується вираженим зниженням проліферативної активності лімфоцитів: на 5-ту та 7-му добу досліду показники вірогідно знижені відносно контролю на 21,0% і складає 0,24 та 0,23 од. ОЩ відповідно. В послідуячому, на 10 та 14-ту добу досліду, SLP курчат цієї групи дещо підвищується відносно попередніх показників (до 0,33 та 0,34 од. ОЩ.), однак ступінь зниження показника щодо контролю підвищується - різниця між показниками складає 25,5% (p<0,05).

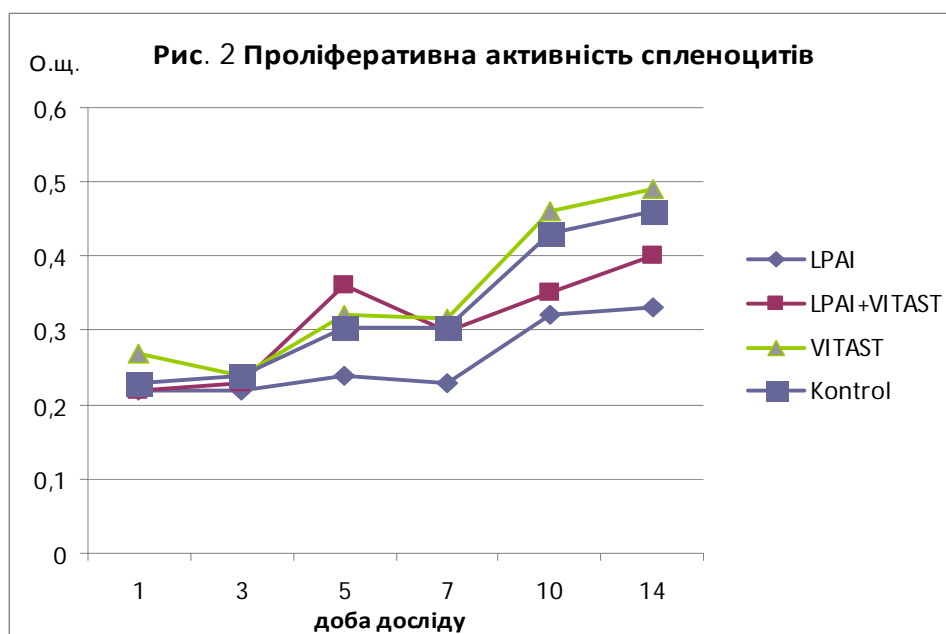


Рис. 1. Динаміка проліферативної активності лімфоцитів селезінки (SLP) при низькопатогенному пtiці та застосуванні «Вітастиму».

При застосуванні препарату «Вітастим» інтактній пtiці (III-я група) зафіксована незначна стимуляція SLP починаючи 5-ї доби дослідю її середні показники перевищують контрольні на 5,6–7,0 %. Більш активно препарат стимулює проліферативну активність лімфоцитів селезінки при зараженні вірусом LPAI: на 5-ту добу цей показник у пtiці II-ї групи перевищує як такий I-ї на 50% ($p \leq 0,05$), на 10-ту та 14-ту добу – на 9,3% та 21,2% відповідно.

Отримані нами дані свідчать про зниження неспецифічної резистентності організму пtiці при зараженні вірусом низькопатогенного грипу пtiці та здатність препарату рослинного походження «Вітастим» підвищувати активність як клітинної ланки неспецифічного імунітету, так і загальну неспецифічну резистентність пtiці [7]. Одним з ключових параметрів, що визначають імунну резистентність пtiці є приріст живої маси [8].

В процесі проведення дослідю встановлено, що у курчат, заражених вірусом LPAI починаючи з 7-ї доби дослідю уповільнюється приріст живої маси. Також було відмічено позитивний вплив препарату «Вітастим» на приріст живої маси курчат (рис. 2) як у заражених вірусом LPAI, так і у інтактних.

Так, на фоні розвитку захворювання (у пtiці 2-ї групи) на 7-му добу середня маса курчати перевищує показник першої групи на 40,2 г, на 10-ту – на 22,0 г, а наприкінці дослідю – на 21,0 г. У інтактної пtiці ця різниця складала на 10-ту добу – 10,6 г., а на 14-ту – 9,0 г.

Отримані нами дані досліджень можуть стати підґрунтям для розробки нових екологічно чистих імунопотенціюючих засобів на основі рослинних екстрактів.

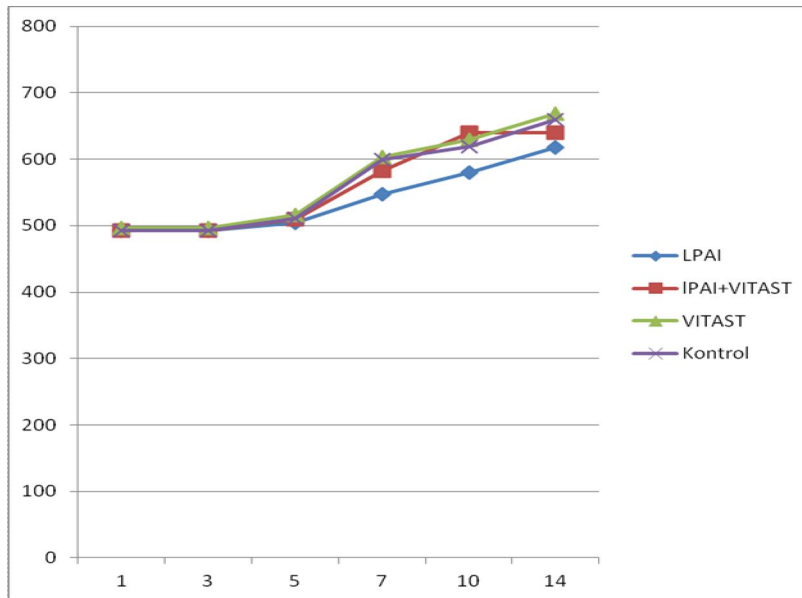


Рис. 2 Динаміка живої маси курчат (г) при низько патогенному штамі птиці та застосуванні «Вітастиму».

Висновки. 1. Зараження курчат низько патогенних штамів призводить до вірогідного зниження проліферативної активності спленоцитів, починаючи з 5-ї доби розвитку інфекційного процесу, а також приросту живої маси, особливо виражене на 7-му добу досліджу.

2. У зараженій низько патогенним вірусом грипу птиці препарат «Вітастим» індукує проліферативну активність лімфоцитів селезінки та нівелює негативний вплив інфекційного процесу на приріст живої маси курчат.

3. При вживанні препарату «Вітастим» інтактній птиці спостерігається незначна стимуляція проліферативної активності спленоцитів.

Література

1. Грипп./Руководство для врачей. Под ред. Г.И. Карпухина. –С-Пб.:Гиппократ, 2001.- С.251.
2. Медуницин М.В. Вакцинология.: Триада-Х, 2004. - 448 с.
3. Маслянюк Р. Основи імунології.–1999.–Львів.- 472 с.
4. Деклараційний патент № 58722 Україна, 7 А61К35/78. Фітопрепарат «Вітастим» для підвищення природної резистентності та імунокорекції організму тварин [Текст]/ В.В. Кіприч, Т.Ю. Трускова, Л.О. Бондар, Г.А. Красніков. ННЦ «ІЕКВМ» заявл. 27.08.2002; опубл. 15.08.2003, Бюл. № 8.

5. Okamura M. Cell-mediated immune responses to a killed *Salmonella enteritidis* vaccine: lymphocyte proliferation, T-cell changes and interleukin-6 (IL-6),

IL-1, IL-2, INF- γ production. Okamura M. Lillehoj HS, R.B. Raybourn, US Babu, RA Heckert// Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.- 2004.- V. 27.- P. 255-272.

6. Немтинов П.И. Возрастные особенности влияния синтетического аналога лейэнкефалинов (далапина) на антителообразующую и пролиферативную активность спленоцитов при остром эмоциональном болевом стрессе у мышей линии СВА/СА/ П.И Немтинов, А.Н. Устименко, И.Н. Пашинян и соавт.//Проблемы старения и долголетия.- 2006.-Т. 15, № 3. – С. 202-211.

7. Лакин, Г.Ф. Биометрия: учебное пособие для биологических специальностей ВУЗов. [Текст] / Г.Ф. Лакин. – М: Высшая школа, 1990. - С 45-50.

8. Вплив інактивованої вакцини проти високопатогенного грипу "Авіфлувак-ІЕКВМ" на стан неспецифічної резистентності курчат на фоні препаратів рослинного походження /Л.В.Коваленко, Б.Т.Стегній, Ю.М.Кротовська, М.Є.Романько, О.В.Обуховська// Ветеринарна медицина: міжвід. темат. наук. зб.- X., 2008.- Вып.89.- С.196-200.

9. Lee S.H. Immunomodulatory properties of dietary plum on coccidiosis Lee S.H., H.S. Lillehoj, E.P. Lillehoj, et. all., Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.- 2008.- V. 31.- P. 389-402.

Summary

Kovalenko L.V., Stegny B.T., Shutchenko P.O., Myhajlova S.A., Stegny M.U., Obukhovska O.V.

NSC "Institute of experimental and clinical veterinary medicine", Kharkiv
PROLIFERATIVE ACTIVITY OF CHICKENS SPLENOCYTES UNDER
LOW PATHOGENIC INFLUENZA AND TREATMENT THE DRUG
"VITASTIM"

In the article the results of determining the proliferative activity of lymphocytes in spleen of chickens poultry at infection with low pathogenic virus strain of avian influenza N4N6, application of the plant preparation "Vitastim", and their combination. Found that the development of infection accompanied by inhibition of the proliferative capacity of splenocytes and reduced chickens liveweight gain. Infected bird rearing by "Vitastim" causes stimulation in lymphoproliferative processes in spleen and increased experimental poultrys live weight. The findings could be the basis for finding new clean immunopotentiative products which based on botanicals extracts and ascertainment of the mechanisms of biological effect.

Key words: chickens, low pathogenic flu proliferative activity of splenocytes, liveweight gain

Рецензент – д.б.н., професор Куртяк Б.М.