

УДК 612.017:632.2:591.11

¹Лешовська Н.М., к.вет.н., н.с., ¹Брода Н.А., к.б.н., с.н.с.,
¹Віщур О.І., д.вет.н., с.н.с., ¹Мудрак Д.І., к.вет.н., м.н.с.,
¹Рацький М.І., к.вет.н., н.с., ¹Смолянінов К.Б., к.б.н., с.н.с.,
²Голубєв М.І., к.с.-г.н. ©

¹Інститут біології тварин НААНУ, м. Львів

²Національний університет біоресурсів і природокористування, м. Київ

АКТИВНІСТЬ Т- і В-КЛІТИННОГО ІМУНІТЕТУ У КОРІВ І ЇХ ТЕЛЯТ ЗА ДІЇ ПРЕПАРАТУ "ОЛІГОВІТ"

У статті наведено результати експериментальних досліджень відносного вмісту Т- і В-лімфоцитів та їх субпопуляцій у крові корів та народжених від них телят за дії комплексного вітамінно-мінерального препарату "Оліговіт". Встановлено, що введення препарату коровам за місяць та за 1-2 доби до передбачуваних родів призводить до збільшення кількості ТА-РУЛ у крові за 1-2 доби до отелення та ТЕ-РУЛ, ЕАС-РУЛ, Th-популяцій лімфоцитів на восьму добу після отелення. Констатовано стимулювальний вплив оліговіту на кількість Т-лімфоцитів (загальних, активних, теофілінрезистентних) і В-лімфоцитів та їх функціональну активність, що відбувалось за рахунок перерозподілу рецепторного апарату імунокомпетентних клітин у сторону збільшення їхньої авідності.

Ключові слова: імунологія, корови, телята, кров, Т- та В-лімфоцити, вітаміни, мікроелементи.

Вступ. Відомо, що останній місяць тільності у корів є одним з критичних фізіологічних періодів, який суттєво впливає на стан імунної системи матері і плоду [1]. Порушення формування імунної відповіді в організмі тільних корів призводить до отримання приплоду з ознаками вродженого імунодефіциту. Для підвищення адапційної здатності й імунобіологічної реактивності організму в останні роки з успіхом використовуються вітаміни, амінокислоти, мікроелементи, які володіють імуотропними властивостями [1–3]. Підвищення потреби у вітамінах та мінеральних речовинах у період вагітності пов'язано, як з ростом і розвитком плода, так і з особливостями функціонування імунної системи організму у даний фізіологічний період [1–5].

Функціональною основою імунної системи є комплекс імунокомпетентних клітин (лімфоцитів). У функціональному відношенні лімфоцити поділяються на регуляторні та ефекторні. Функції регуляторних клітин здійснюють, в основному, Т-лімфоцити і макрофаги. Ефекторними можуть бути різні клітини: цитотоксичні Т-лімфоцити, В-клітини, природні кілери [5]. Активація лімфоцитів представляє собою складний біохімічний

© Лешовська Н.М., Брода Н.А., Віщур О.І., Мудрак Д.І., Рацький М.І., Смолянінов К.Б., Голубєв М.І., 2013

процес, який пов'язаний з розпізнаванням антигену і відбувається безпосередньо за участю наявних на мембранах лімфоцитів специфічних антигенних рецепторів. Розпізнавання антигену імунокомпетентними клітинами є центральним моментом запуску та регуляції імунної відповіді. Цим пояснюється актуальність подальшого вивчення окремих аспектів функціонування клітинної ланки імунної відповіді в організмі корів в останній період вагітності та після отелення, а також у народжених від них телят.

У зв'язку з поширенням імунодефіцитів у господарствах України, застосування імунокорегуючих препаратів на сьогоднішній день є необхідним. У зв'язку з цим, мета нашої роботи полягала у з'ясуванні впливу комплексного вітамінно-мінерального препарату "Оліговіт" на показники Т- і В-клітинної ланки імунітету, а саме на кількість Т- і В-лімфоцитів та їх функціональну активність у корів в останній місяць тільності та після отелення, а також у народжених від них телят.

Матеріали і методи. Дослід проведено у ДГДП "Оброшино" Пустомитівського району Львівської області на повновікових коровах та народжених від них телятах, які були розділені за принципом аналогів на контрольну та дослідну групи по 5–7 тварин у кожній. Раціон корів був збалансований за основними поживними речовинами і складався із різнотравного сіна, силосу, кормових коренеплодів та концентрованих кормів. Коровам дослідної групи за 30 дів та за 1-2 доби 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 — фізрозчин дозою 10 мл на тварину. До складу оліговіту входять вітаміни А, D₃, РР, Е, В₁, В₂, В₄, В₅, В₆, В₈, В₁₂, мікроелементи Со, Mg, Cu, Zn, Mn, а також незамінна амінокислота метіонін.

Кров для досліджень брали з яремної вени у корів за місяць, за 1–2 доби до передбачуваних родів та на восьму добу після отелення, а у їх телят – через 3 год. після згодовування молозива та у 3-, 8- та 30-добовому віці.

Фенотипування лімфоцитів проводили за допомогою тесту розеткоутворення з еритроцитами барана у якості маркерів (Jondal M. et al., 1972). Активність розеткоутворення визначали за щільністю рецепторів: 0 — неактивні, 3-5 — рецептори з малою щільністю, 6-10 — рецептори з середньою щільністю, більше 10 — рецептори з високою щільністю.

Одержані цифрові дані опрацьовували статистично з використанням програмного пакету Microsoft Excel.

Результати досліджень. Результати досліджень відносної кількості Т- і В-лімфоцитів у крові корів наведені у таблиці 1. Аналіз результатів досліджень показав, що введення коровам дослідної групи препарату "Оліговіт" призводить до збільшення відносної кількості ТА-РУЛ у крові за 1-2 доби до отелення ($p < 0,01$). Ці зміни у крові корів дослідної групи відбувались за рахунок зменшення кількості нульових клітин ($p < 0,01$). При цьому виявлено тенденцію до зростання ТА-РУЛ з низькою і середньою ступінню авідності.

Таблиця 1

**Відносна кількість Т- і В-лімфоцитів та їх субпопуляцій
у крові корів, % (M±m; n=3)**

Лімфоцити	Групи	Період досліджень		
		30 днів до отелення	1–2 доби до отелення	8 днів після отелення
ТА-РУЛ, 0	К	66,67±1,76	71,67±1,20	67,00±1,00
	Д	64,67±2,73	62,67±0,67**	63,33±1,45
3-5	К	19,67±1,45	21,67±3,48	21,66±0,88
	Д	23,00±2,08	24,33±0,33	20,67±2,60
6-10	К	12,33±2,73	8,33±0,33	11,33±1,76
	Д	11,67±0,33	12,00±0,58	15,00±1,73
М	К	1,33±0,33	0,67±0,33	-
	Д	0,67±0,03	1,00±0,33	1,00±0,33
%	К	33,33±1,76	28,33±1,20	33,00±1,00
	Д	35,33±2,73	37,33±0,67**	36,67±1,45
ТЕ-РУЛ, 0	К	31,67±0,93	33,00±2,08	35,67±1,85
	Д	29,67±1,20	29,00±4,36	33,00±2,00
3-5	К	37,00±2,08	41,67±1,33	37,00±2,52
	Д	36,33±0,88	39,67±3,48	37,33±2,03
6-10	К	29,33±0,33	23,67±0,33	26,33±3,93
	Д	32,33±2,60	30,33±2,96	28,33±2,33
М	К	1,33±0,33	1,67±0,33	1,00±0,33
	Д	1,67±0,33	1,00±0,33	1,33±0,33
%	К	67,67±3,28	67,00±2,08	60,33±0,85
	Д	70,33±1,20	71,00±4,36	67,00±2,00*
Th, 0	К	45,33±2,18	45,67±1,45	48,67±2,60
	Д	46,67±2,96	43,00±3,21	45,00±2,00
3-5	К	28,33±1,85	31,00±1,53	27,67±3,18
	Д	32,00±2,08	33,67±0,33	29,67±1,45
6-10	К	25,00±1,15	21,00±1,53	21,33±1,45
	Д	19,33±0,88	26,33±1,76	24,00±1,73
М	К	1,33±0,33	2,33±0,88	2,33±0,67
	Д	2,00±0,58	1,33±0,33	1,33±0,33
%	К	54,67±2,18	54,33±1,45	51,33±2,60
	Д	52,33±2,96	57,00±3,21	55,00±2,00*
Ts, %	К	13,00±1,53	12,67±2,03	13,00±1,00
	Д	13,67±2,73	14,33±1,20	12,00±2,00
ЕАС-РУЛ, 0	К	74,33±1,20	73,33±2,73	72,00±1,73
	Д	73,67±1,76	72,00±1,15	68,67±1,45
3-5	К	15,67±0,33	21,33±1,76	18,33±1,76
	Д	15,33±0,33	17,00±1,15	17,00±0,58
6-10	К	9,00±0,58	8,67±1,76	8,67±1,45
	Д	11,00±2,08	10,33±0,88	10,66±1,20
М	К	1,00±0,33	0,67±0,33	-
	Д	-	1,00±0,33	1,00±0,33
%	К	25,67±1,20	26,67±2,73	28,00±0,73
	Д	26,33±1,76	28,00±1,15	33,30±1,45*

Примітка. У цій та наступній таблиці вірогідні різниці порівняно до контролю: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$.

У крові корів дослідної групи на 8-у добу після отелення кількість загальних і теофілін-резистентних Т-лімфоцитів була більша ($p < 0,05$), ніж у контрольній. При дослідженні рецепторного апарату ТЕ-РУЛ і Th-клітин у

крові корів виявлено тенденцію до зростання кількості Т-лімфоцитів з низькою і середньою ступінню авідності і зниження кількості недиференційованої популяції імунокомпетентних клітин. Ці дані свідчать про стимулювальний вплив вітамінно-мінерального комплексу на кількість і функціональну активність Т-лімфоцитів крові корів.

Дослідження активності В-лімфоцитів характеризує рівень гуморальної ланки імунітету, оскільки вони синтезують специфічні антитіла (імуноглобуліни), а також впливають на активність деяких популяцій Т-лімфоцитів, беручи участь у реакціях клітинного імунітету. Популяція В-лімфоцитів теж неоднорідна і включає субпопуляції ефektorних та регуляторних клітин. На своїй поверхні В-лімфоцити несуть рецептори до імуноглобулінів різних класів.

Як бачимо з одержаних результатів, у крові корів дослідної групи, порівняно з контрольною, на 8 добу після отелення зростає відносна кількість В-лімфоцитів ($p < 0,05$). Зміни рецепторного апарату вказаного пулу клітин були подібними, що при дослідженні Т-лімфоцитів. Ці дані свідчать про стимулювальний вплив оліговіту на Т- і В-клітинну ланку імунної відповіді у крові корів в останній період тільності.

Ранній період росту і розвитку телят є критичним і характеризується особливими змінами обміну речовин в організмі, зумовленими їх адаптацією до умов навколишнього середовища, становленням захисних систем до постійного антигенного впливу. У цей період захисними факторами організму є материнські антитіла — специфічні і неспецифічні імуноглобуліни, а також імунокомпетентні клітини, що поступають з молозивом і сприяють формуванню пасивного імунітету [5].

Як показали результати проведених досліджень введення коровам дослідної групи в останній місяць тільності досліджуваного препарату спричиняло збільшення кількості Т- і В-лімфоцитів у крові телят дослідної групи порівняно до контрольної (табл.2.). Зокрема, відносна кількість Т-лімфоцитів (загальних, активних, теофілін-резистентних) і В-лімфоцитів у крові телят дослідної групи була більша, ніж у контрольній у всі періоди досліджень ($p < 0,05-0,01$). Ці зміни відбувались в основному за рахунок перерозподілу авідності — зростання відносної кількості Т- і В-лімфоцитів з низькою і середньою щільністю рецепторів та зменшення кількості нульових клітин. Процеси активації Т- і В-лімфоцитів тісно пов'язані між собою, оскільки, з одного боку, В-лімфоцити виконують функцію презентації антигену, а з другого — Т-лімфоцити, а саме Т-хелпери, необхідні для нормальної активації В-лімфоцитів.

Протягом постнатального розвитку в організмі телят проходять процеси формування факторів неспецифічного та специфічного захисту, відбувається становлення загальної системи імунітету. Особливо характерним при цьому є зростання кількості Т-лімфоцитів різних субпопуляцій, здатних утворювати "розетки" з гетерогенними еритроцитами. Зростання кількості Т-хелперів відображає посилення утворення власних захисних антитіл. Активація Т-

хелперів призводить до продукції цитокінів. Імунний супресорний механізм у період вагітності розвивається за рахунок ініціації імунної відповіді Th, що скеровують імунну реакцію гуморальним шляхом і сприяють синтезу імуносупресивного інтерлейкіну ІЛ-10, який, в свою чергу, інгібує прозапальні цитокіни та інтерферон [5].

Таблиця 2

Відносна кількість Т- і В-лімфоцитів та їх субпопуляцій у крові телят, % (M±m; n=3)

Показники	Групи	Вік телят			
		3 год.	3 дні	8 днів	30 днів
1	2	3	4	5	6
ТА-РУЛ, 0	К	85,33±1,76	84,66±1,76	79,66±1,45	79,33±1,76
	Д	74,66±1,20**	74,00±1,15**	74,33±0,88*	72,66±1,20*
3-5	К	9,66±0,88	9,66±1,33	15,33±0,88	11,33±1,33
	Д	16,00±1,53**	19,00±1,00**	14,67±0,66	16,33±1,45
6-10	К	5,00±1,00	4,33±0,88	6,33±1,20	9,33±0,66
	Д	6,00±1,15	6,66±0,88	11,00±0,58**	8,66±0,66
М	К	-	1,33±0,33	-	-
	Д	-	1,33±0,33	-	2,33±0,66
%	К	14,66±1,76	15,33±1,76	20,33±1,45	20,66±1,76
	Д	25,33±1,20**	26,00±1,15**	25,66±0,88**	27,33±1,20*
ТЕ-РУЛ, 0	К	77,66±1,45	80,33±2,33	68,33±2,18	68,00±1,53
	Д	67,33±3,28*	62,66±0,88**	59,66±2,40	61,00±1,53*
3-5	К	14,66±0,66	17,66±0,33	21,33±2,40	18,33±0,88
	Д	20,66±2,60	21,00±0,58**	28,00±1,53	22,66±0,33**
6-10	К	8,66±0,88	12,00±2,64	10,33±0,88	12,33±0,88
	Д	12,00±1,15	16,33±1,20	12,33±0,88	15,00±1,53
М	К	-	-	-	1,33±0,33
	Д	-	-	-	1,33±0,33
%	К	23,33±1,45	29,66±2,33	31,66±2,18	32,00±1,53
	Д	32,66±3,28	37,33±0,88*	40,33±2,40	39,00±1,53*
Th, 0	К	84,00±0,58	84,00±1,53	80,66±0,88	81,00±1,53*
	Д	80,33±1,20	77,00±1,15**	73,33±1,20**	74,33±1,76*
3-5	К	10,33±0,33	9,66±0,66	12,00±0,58	8,66±0,66
	Д	14,33±0,66**	14,33±0,66*	16,66±1,85	12,33±1,33
6-10	К	5,66±0,88	8,33±1,20	7,33±0,88	10,33±0,88
	Д	5,33±0,88	7,33±0,33	10,00±1,54	10,33±0,33
М	К	-	-	-	-
	Д	-	1,33±0,33	-	2,00±1,58
%	К	16,00±0,58	18,00±0,58	19,33±0,88	19,00±1,53
	Д	19,66±1,20	23,00±1,15**	26,66±1,20**	25,66±1,76*
Ts, %	К	7,33±0,88	10,00±2,64	12,33±1,33	13,00±1,53
	Д	13,00±2,08	14,33±1,85	14,00±1,15	13,33±0,33
ЕАС-РУЛ, 0	К	86,33±1,20	88,66±1,45	82,00±1,15	81,00±1,53
	Д	82,33±0,88	81,66±0,33**	78,33±1,20	77,66±1,76
3-5	К	8,33±0,88	6,66±0,33	12,33±0,33	9,00±1,53
	Д	11,33±1,45	10,00±0,58*	11,66±1,20	12,33±1,20
6-10	К	5,33±0,66	4,66±1,20	5,66±0,88	8,33±0,66
	Д	6,33±0,66	6,66±0,33	10,00±1,73	10,00±0,58
М	К	-	-	-	1,66±0,66
	Д	-	1,66±0,33	-	-
%	К	13,66±1,20	11,33±1,45	18,00±1,15	19,00±1,53
	Д	17,66±0,88	18,33±0,33**	21,66±1,20	22,33±1,76

Кількісний склад Т- і В-лімфоцитів, як провідних імунокомпетентних клітин крові, відображає рівень захисних сил організму тварин та стан специфічного імунітету. Як бачимо з одержаних результатів введення коровам в останній місяць тільності оліговіту призводить до зростання як кількості так і функціональної активності імунокомпетентних клітин у крові корів, а також народжених від них телят, що свідчить про комплексний стимулювальний вплив складників препарату на активність Т- і В-клітинної ланки імунітету. Процеси активації Т- і В-лімфоцитів тісно пов'язані між собою, оскільки, з одного боку, В-лімфоцити можуть виконувати роль антигенпрезентуючих клітин, а з другого — Т-лімфоцити-хелпери необхідні для нормальної активації В-лімфоцитів.

Висновок. Введення коровам в останній місяць тільності препарату "Оліговіт" призводить до збільшення кількості ТА-РУЛ у крові за 1-2 доби до отелення та ТЕ-РУЛ, ЕАС-РУЛ, Тн-популяцій лімфоцитів на восьму добу після отелення. У телят, одержаних від цих корів, встановлено більшу кількість Т-лімфоцитів (загальних, активних, теофілін-резистентних) і В-лімфоцитів за рахунок перерозподілу авідності рецепторного апарату імунокомпетентних клітин, що свідчить про активацію клітинних і гуморальних механізмів імунної відповіді при формуванні у них імунітету у ранній період росту.

Література

1. Косенко М. В. Імунологічні препарати у ветеринарній практиці / М. В. Косенко, Я. М. Любенко // Вет. мед. Укр. — 2001. — №2. — С. 22–24.
2. Кліценко Г. Т. Мінеральне живлення тварин / Г. Т. Кліценко, М. Ф. Кулик, М. В. Косенко // К. — 2001. — 576 с.
3. Лешовська Н. М. Роль селену і вітамінів А, D₃, Е в імунній функції людини і тварини / Н. М. Лешовська, О. І. Віщур // Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин. — 2004. — № 1–2. — Вип. 5. — С. 148–153.
4. Куртяк Б. М. Використання жиророзчинних вітамінів у ветеринарній медицині і тваринництві / Б. М. Куртяк, В. Г. Янович. — Л.: Тріада плюс, 2004.— 376 с.
5. Маслянюк Р. П. Основи імунобіології / Р.П. Маслянюк. — Л.: Вертикаль, 1999. — 472 с.

Summary

N.M. Leshovska¹, N.A. Broda¹, O.I. Vishchur¹, D.I. Mudrak¹,
M.I. Ratskiy¹, K.B. Smolyaninov¹, M.I. Holubev²

¹Institute of Animal Biology UAAS, Lviv

²National university of life and environmental sciences of Ukraine, Kiev

EFFECT OF "OLIHOVIT" ON THE FORMATION OF T-AND B-CELL IMMUNITY IN COWS AND THEIR CALVES

The results of experimental studies of the relative content of T- and B-lymphocytes and their subpopulations in the blood of cows and calves born by them for the action of a complex of vitamins and minerals "Olihovit" are presented in the article. It was established that the injection to cows a month before and 1-2 days

before birth leads to increase of the amount of T- and (total, active, teofilline-rezistant) and B- lymphocytes and enhances of their functional activity through redistribution of the receptor apparatus of immune cells. The stimulating effect of oligovit on the number and functional activity of T- and B-lymphocytes of new-born calves was shown.

Key words: immunology, cows, calves, blood, T-and B-lymphocytes, vitamins, minerals.

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