

М.В. Коваленко, Л.М. Степченко, А.І. Шевцова, О.З. Бразалук, П.Ф. Сурай

Вплив селеновмісних добавок на показники специфічного імунітету та неспецифічної резистентності у курчат

Дефицит селена связан с ослаблением иммунитета, применение препаратов селена повышает иммунный ответ и резистентность к заболеваниям. В работе исследовали эффект действия органического селена по сравнению с неорганическим на состояние гуморального иммунитета цыплят-бройлеров и содержание фибронектина как фактора неспецифической резистентности.

ВСТУП

Нині актуальним є пошук кормових добавок, що забезпечують підвищення пристосованості організму до дії різноманітних чинників навколишнього середовища. Серед біологічно активних добавок найпопулярніші – препарати селену (Se). Біологічна роль селену визначається його антиоксидантними, імуномодельючими, протівірусними властивостями [6]. Встановлено, що дефіцит селену в організмі викликає зниження продукції антитіл, порушення диференціювання тимоцитів, погіршення вродженого та набутого імунітету [8]. Застосування селену як харчової добавки покращує імунну відповідь та підвищує резистентність до захворювань [10]. Існують дві основні форми селену – органічний і неорганічний. Sel-Plex – селеновмісна харчова добавка, що містить Se в органічній формі та має дріжджове походження [11]. Головна перевага органічної форми селену полягає в його утриманні в тканинах та створенні резервів селену в організмі [7].

Загальний стан імунітету визначається за показниками як специфічної імунореактивності, так і неспецифічної резистентності. Особливий інтерес викликає участь

в імунологічних реакціях фібронектину (Фн), який є фактором неспецифічного захисту тварин [2]. Фн – глікопротеїн, що міститься у плазмі крові, міжклітинному матриці, цереброспинальній, амніотичній та синовіальній рідині і має широкий спектр біологічної активності. Захисна дія ФН виявляється у підтримці оптимального фагоцитарного статусу макрофагів і нейтрофілів. Відіграючи роль опсоніну, він прискорює надходження інформації ефективним клітинам про чужорідну речовину і значною мірою полегшує захоплення та перетравлення бактерій, імунних комплексів, згустків фібрину, залишків колагену [9]. Однак значення Фн у формуванні резистентності у курчат-бройлерів ще не вивчалось; не визначено також вплив селеновмісних препаратів на вміст різних типів імуноглобулінів і Фн у процесі їх росту.

Метою нашої роботи було дослідити та порівняти вплив органічних і неорганічних препаратів селену на продукцію факторів специфічного імунітету (вміст імуноглобулінів та антитіл до антигенів вакцин) та рівень неспецифічної резистентності (за вмістом Фн та циркулюючих імунних комплексів – ЦІК) у курчат-бройлерів.

© М.В. Коваленко, Л.М. Степченко, А.І. Шевцова, О.З. Бразалук, П.Ф. Сурай

МЕТОДИКА

Дослідження проведено протягом 44 діб на курчатах-бройлерах кросу Cobb 500 в умовах віварію Дніпропетровської дослідної станції Інституту експериментальної та клінічної ветеринарної медицини. Умови утримання, а також режим годування відповідали вимогам ГОСТу, який розроблено для технології вирощування бройлерів цього кросу.

Добові курчата-бройлери були поділені на три експериментальні групи по 45 курчат у кожній: 1-ша – контрольні птахи, яких вирощували без селеновмісних добавок, 2-га – дослідні птахи з 10-ї по 38-му добу проведення експерименту додатково вживали органічний селен до корму у вигляді препарату Sel-Plex (0,3 мг/кг), 3-тя – курчата-бройлери, що додатково вживали з 10-ї по 38-му добу вирощування неорганічний селен у вигляді селеніту натрію (0,3 мг/кг корму).

Вакцинації курчат-бройлерів в умовах експерименту проводили проти захворювань Ньюкасла, Гамбора, інфекційного бронхіту вакцинами Авенью, Gallivak 2500, Н 120 на 1-шу 16-ту та 19-ту добу проведення експерименту відповідно. Безпосередньо після вакцинацій у раціон курчат додатково одноразово додавали вітамінізований препарат сальвамікс.

Показники неспецифічного та специфічного імунного захисту визначали у сироватці крові 10-, 29- та 39-добових курчат-бройлерів з трьох експериментальних груп. Для визначення вмісту імуноглобулінів (Ig) класу G та M у зразках плазми використовували розроблений нами варіант конкурентного імуноферментного аналізу [4].

Антисироватки до курячих Фн, IgG та IgM отримували імунізацією кролів підшкірно в декілька точок спини по 25 мкг препаратів Фн, Chicken IgG фірми “Sigma” (США), Chicken IgM фірми “Rockland” (Швеція) у співвідношеннях 1:1 з повним ад’ювантом Фрейнда, тричі, з інтервалом сім діб із наступною реімунізацією через кожен місяць. Кров забирали з крайової вушної вени кроля.

Виділення Фн з плазми крові проводили за допомогою афінної хроматографії на желатин-агарозі фірми “Sigma” (США) за схемою, розробленою на кафедрі біохімії ДДМА та модифікованою нами для виділення курячого Фн. Одержаний препарат використовували для отримання моноспецифічних антитіл до курячого Фн.

Екстракти білкових фракцій печінки отримували гомогенізацією печінкових тканин в 0,05М тріс-НСІ буферному розчині з рН 7,5 за наявності 2М КСІ у співвідношенні 1:3 з наступним центрифугуванням при 8000 хв⁻¹ протягом 20 хв. Концентрацію Фн у плазмі крові та гомогенатах тканин печінки визначали методом ракетного імуноелектрофорезу у 1%-му розчині агарози [3].

Вміст ЦІК у плазмі крові визначали методом преципітації з використанням 3 % ПЕГ 6000 фірми “Merk” (Німеччина) [5]. Як калібратори були агреговані Ig. Для агрегації використовували «Иммуноглобулин человеческий нормальный» фірми Біофарма (Україна, Київ), у якому вміст білка становив 100 мг/мл.

Титри антигемаглютининів до вірусу хвороби Ньюкасла визначали у плазмі 39-добових курчат-бройлерів за реакцією затримки гемаглютинації [1].

Статистичну обробку результатів та побудову калібрувальних графіків проводили за допомогою комп’ютерної програми Excel XP.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Слід зазначити, що вміст плазмового Фн у контрольній групі практично не змінювався у процесі росту курчат-бройлерів. Інша картина спостерігалась у дослідних групах, що отримували препарати Se. При вживанні Se органічної природи концентрація Фн у плазмі вірогідно збільшувалася з 10-ї по 39-ту добу вирощування курчат ($P < 0,05$), під дією селеніту натрію спостерігалось менш виражене підвищення цього показника у динаміці росту (табл. 1).

Вміст Фн у курчат, які вживали органічний селен, достовірно ($P < 0,01$) збільшився у

Таблиця 1. Вміст фібронектину (мкг/мл) у плазмі крові курчат-бройлерів в динаміці росту (M±m; n=15)

Схема досліджу	Вік курчат-бройлерів		
	10-добові	29-добові	39-добові
Контроль	208,82±5,23	210,48±3,19	211,80±3,95
Неорганічний селен	207,44±2,35	217,40±2,84	222,28±4,04
Органічний селен	208,7±3,12	226,05±4,60 **	245,04±5,90 ***

Примітка. Тут і в табл. 2, 3 * P<0,05, ** P<0,01, *** P<0,001 відносно контролю.

плазмі – на 7,4 % для 29-добових та на 15,7 % для 39-добових (P<0,001) порівняно з контролями відповідних вікових груп. Збільшення цього показника у групах курчат-бройлерів, які додатково вживали неорганічний селен, мало недостовірний характер і становило у плазмі – 3,3 % для 29-добових та 5 % для 39-добових птахів порівняно з контролями.

Відомо, що вміст Фн може відобразити функціональний стан печінки за умов її патології, оскільки вона є основним органом синтезу та секреції у кров цього глікопротеїну. Концентрація Фн у печінці 39-добових курчат порівняно з контролем збільшилася на 21,6 % (P<0,001) при вживанні органічного селену та на 9,16 % (P<0,05) під дією селеніту натрію (табл. 2).

Водночас співвідношення Фн/загальний білок у гомогенатах печінки становило 1:236 для органічного Se; 1:220 – для неорганічного Se та для контрольної групи – 1:298. Тобто порівняно із загальним білком, на Фн припадала найменша частка в екстрактах білкових фракцій печінки контрольної групи.

Оскільки захисна дія Фн виявляється у підтримці оптимального фагоцитарного статусу макрофагів і нейтрофілів [9], а дефіцит Se призводить до порушення властивостей фагоцитів і проліферації лімфоцитів [8], можливо припустити, що збільшення вмісту Фн за умов вживання препаратів Se як кормових добавок (особливо органічного поход-

ження), пов'язано з участю Фн у формуванні резистентності курчат-бройлерів і його ролі як фактора неспецифічного захисту.

Концентрація IgG, відповідального за антитоксичну, протибактеріальну та протівірусну антигенну активність, у контрольній групі зменшувалася на 29-ту добу, а потім знову збільшилася (табл. 3). Це може бути пов'язано з наявністю у плазмі 10-добових курчат-бройлерів материнських IgG, яким приписується пасивний захист. Тенденція до збільшення вмісту IgG з 10-ї по 39-ту добу вирощування спостерігалась і за умов дії препаратів Se. При вживанні органічного Se збільшення цього показника мало більш стрімкий і виражений характер. У курчат-бройлерів 29-добового віку відмічено збільшення вмісту IgG: у групах, де вживали органічний селен на 29,3 % (P<0,01), неорганічний Se – на 16,2 % в порівнянні з контрольними групами. Серед курчат-бройлерів 39-добового віку спостерігалось підвищення порівняно з контролем концентрації IgG при вживанні органічного селену на 30,18 % (P<0,05) та на 8,5 % при вживанні неорганічного селену.

Вміст IgM, відповідального в організмі за первинну імунну відповідь, у контрольній групі в динаміці росту змінювався несуттєво (див. табл. 3). У 10-добових курчат-бройлерів він майже не відрізнявся при вживанні органічного селену та селеніту

Таблиця 2. Вміст фібронектину (мкг/мл) та загального білка (мг/мл) в екстрактах білкових фракцій печінки 39-добових курчат-бройлерів (M±m; n=15)

Показник	Контроль	Неорганічний селен	Органічний селен
Фібронектин	258,62±4,91	282,32±7,98*	314,51±9,95***
Загальний білок	77,09±3,81	62,32 ±5,23	74,37±3,33

Таблиця 3. Вміст імуноглобулінів (Ig) класів G, M і циркулюючих імунних комплексів (мг/мл) у плазмі крові курчат-бройлерів у динаміці росту

Показник	Контроль			Неорганічний селен			Органічний селен		
	10-добові	29-добові	39-добові	10-добові	29-добові	39-добові	10-добові	29-добові	39-добові
IgG	7,04±0,60	6,24±0,36	7,42±0,77	7,02±0,38	7,25±0,43*	8,05±0,64	7,07±0,63	8,07±0,52**	9,66±0,57*
IgM	0,67±0,06	0,75±0,06	0,80±0,06	0,65±0,05	0,70±0,04	0,93±0,07**	0,66±0,06	0,74±0,06	1,06±0,13**
Циркулюючі імунні комплекси	0,33±0,006	0,45±0,034 ^{oo}	0,31±0,036	0,32±0,037	0,41±0,027 ^{oo}	0,23±0,045 ^{ooo}	0,32±0,037	0,47±0,047 ^{ooo}	0,34±0,078

^{oo}P<0,01, ^{ooo}P<0,001 порівняно зі значеннями у 10-добових птахів.

натрію. Значно збільшилася концентрація IgM (P<0,01) від 29-ї по 39-ту добу вирощування при вживанні обох видів Se. У 29-добової птиці не відмічено різких коливань цього показника у дослідних групах порівняно з контролем. Проте спостерігалось значне підвищення вмісту IgM у 39-добових курчат як при вживанні неорганічного, так і органічного Se на – 16,2, 32,5 % відповідно порівняно з контролем.

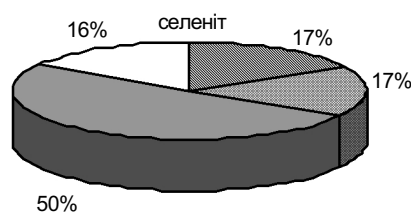
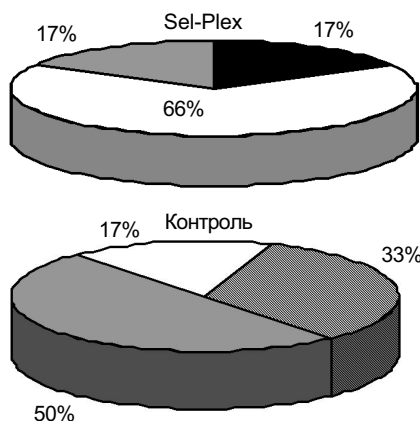
Підвищення здатності організму виробляти імуноглобуліни збільшує його захисні функції, внаслідок чого спостерігається зростання пристосованості організму до різноманітних факторів зовнішнього та внутрішнього середовища, що в свою чергу забезпечує поліпшення продуктивних якостей та збереження сільськогосподарської птиці.

Імунологічна активність препаратів Se підтверджена формуванням імунної відповіді організму на проведені вакцинації проти інфекційних захворювань. Одержані результати свідчать про імуномодельовальні властивості органічного Se щодо хвороби Ньюкасла. Найвищі титри антигемаглютининів

до вірусу ньюкаслівської хвороби 1:64 та 1:128 та їх значне відсоткове співвідношення спостерігалось у групі 39-добових курчат-бройлерів, які вживали органічний селен. Водночас при вживанні неорганічного Se та у контролі основний відсоток припадав на титр 1:32 (рисунок).

Формування комплексів Фн-Ig є результатом взаємодії Фн з Ig різних класів внаслідок опсонічної активності її молекули. Утворення ЦІК – нормальна імунологічна реакція. Було відмічено, що вміст ЦІК у контрольній групі значно збільшився у 29-добових курчат-бройлерів, що на 26,6 % (P<0,01) більше, ніж у 10-добових та на 31% порівняно з 39-добовими (див. табл. 3). Аналогічна картина спостерігалась і у дослідних групах: вміст у плазмі курчат-бройлерів цей показник збільшився від 10-ї до 29-ї доби вирощування на 31,9 і 21,9 % при вживанні органічного і неорганічного Se, а потім зменшувався у плазмі крові 39-добових курчат-бройлерів на 27,6 і 44 % відповідно.

Спостерігалось зменшення вмісту ЦІК у групах, де додатково вживали неорга-



Співвідношення титрів антигемаглютининів до вірусу хвороби Ньюкасла у курчат-бройлерів 39-добового віку

нічний селен на 8,8 % у 29-добових та на 25,8 % у 39-добових птахів порівняно з контрольними та збільшення на 4,4 % у 29-добових та на 9,6 % у 39-добових курчат-бройлерів, що вживали органічний селен. Враховуючи, що при вживанні препарату Sel-Plex одночасно збільшується і вміст IgG і Фн, можна припустити, що збільшення вмісту ЦІК порівняно з контролем свідчить про підвищення неспецифічного імунного захисту у курчат-бройлерів під впливом органічного селену.

Отже, найбільший вміст ЦІК було відмічено у 29-добових курчат-бройлерів, причому селеніт натрію пригнічував їх формування, а Sel-Plex навпаки сприяв утворенню ЦІК.

ВИСНОВКИ

1. Органічний селен має більш виражений вплив на гуморальний імунітет курчат-бройлерів порівняно з неорганічним селеном.

2. Засвідчено імуномодельовальні властивості органічного Se щодо хвороби Ньюкасла та більш виражене зростання специфічного імунітету під впливом Sel-Plex порівняно з селенітом натрію.

3. Селен органічної природи спричиняє виражений позитивний ефект на формування специфічної та неспецифічної резистентності в період росту курчат-бройлерів.

**M.V. Kovalenko, L.M. Stepchenko,
A.I. Shevtsova O.Z. Brazaluk, P.F. Surai**

THE INFLUENCE OF SELENIUM-CONTAINING SUPPLEMENTS ON THE RESISTANCE FORMING IN CHICKEN

The deficit of selenium is related to immunity worsening. Selenium improves an immune answer and raises disease resistance.

*Дніпропетров. аграр. ун-т;
Дніпропетров. мед. академія;
Шотланд. сільськогосподар. коледж, Великобританія*

The aim of our work was to study the influence of organic selenium in comparison with inorganic selenium on the factors of unspecific resistance and state of humoral immunity of chicken-broilers.

*Dnipropetrovsk agrarian University;
Dnipropetrovsk medical academy;
Scottish agricultural college, UK*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Иммунология. Практикум. – К.: Вища школа, 1989. – С. 37–43.
2. Муминов Т.А. Фибронектины: структура, функции, возможные прикладные аспекты // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 1985. – Вып.6. – С. 82–87.
3. Руководство по количественному иммуноэлектрофорезу / Под ред. Н.Аксельсена. – М.: Мир, 1987. – 216 с.
4. Степченко Л.М., Шевцова А.І., Коваленко М.В. Метод конкурентного імуноферментного аналізу визначення концентрації імуноглобулінів класу G у сироватці крові курчат-бройлерів // Наук. вісн. Львів. нац. академії ветеринар. медицини ім. С.З. Гжицького. – 2006. – 8, № 3 (30), Частина 2. – 237 с.
5. Стручков П.В., Константинова Н.А., Лаврентьев В.В., Чучалин А.Г. Скрининг-тест для оценки патогенных свойств иммунных комплексов // Лаб. дело. – 1985. – № 7. – С. 410–413.
6. Сурай П.Ф. Новые возможности в использовании селена в кормлении сельскохозяйственных животных и птицы // Расширяя горизонты : 18-й европейский тур компании Оллтек. – К., 2003. – С. 45–68.
7. Сурай П.Ф., Дворская Ю.Е. Органический селен и его роль в птицеводстве // Птахівництво. – 2003. – Вып. 55. – С. 362–368.
8. Dhur, A., Galan, P., Hercberg, S. Relationship between selenium, immunity and resistance against infection // Comp. Biochem. and Physiol. – 1990. – 96. – P. 271–280.
9. Magnusson M., Mosher D.F. Fibronectin: structure, assembly and cardiovascular implications // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 1998. – 18. – P.1363–1370.
10. McKenzie R.C., Rafferty T.S., Beckett G.J. Selenium: an essential element for immune function // Immunol. Today. – 1998. – 19. – P. 342–345.
11. Surai P.F. Selenium in Nutrition and Health. – Nottingham, Nottingham University Press. – 2006. – P. 400–404.

Матеріал надійшов до редакції 22.05.2007