

6. ІМУНОЛОГІЯ ТА КЛІНІЧНА БІОХІМІЯ

УДК 619:612.017.12:577.1.08:636.5.087.69:638.221.6

DOI 10.36016/VM-2021-106-14

ДИНАМІКА ФАКТОРІВ НЕСПЕЦИФІЧНОГО ГУМОРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ ПТИЦІ ЗА ЗГОДОВУВАННЯ КОРМОВОЇ ДОБАВКИ НА ОСНОВІ ЛЯЛЕЧКИ ШОВКОВИЧНОГО ШОВКОПРЯДА

Стегній Б. Т., Коваленко Л. В., Бойко В. С., Руденко О. П., Пазушан О. Є.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: larbuko@gmail.com

Метою дослідження було визначити направленість та вираженість впливу розроблюваної кормової добавки на основі лялечки шовковичного шовкопряда на неспецифічний гуморальний імунітет птиці. Дослідження виконували на курчатах-бройлерах добового віку, яких утримували у стандартних умовах віварію. Птиці першої групи задавали добавку зранку, змішуючи з комбікормом із розрахунку 3,0 см³/кг живої ваги. Друга група була контрольною. На 20-ту, 27-му, 34-ту та 48-му доби по 5 голів птиці з кожної групи еутаназовано та відібрано кров для клініко-біохімічних досліджень. У сироватці крові птиці визначали рівень загального білка, альбумінів, глобулінів, концентрацію циркулюючих імунних комплексів середньої молекулярної маси та серомукоїдів загальноприйнятими методами. Установлено, що застосування спричиняє підвищення концентрації гемоглобіну до 16,0 % та незначну активацію еритропоезу, підвищення рівня гуморального імунітету, про що свідчить підвищення глобулінів до 12,2 % та циркулюючих імунних комплексів до 30,7 %, а також пригнічення синтезу серомукоїдів на 15,4 %. Виявлений позитивний ефект кормової добавки на основі лялечки шовковичного шовкопряда на стан природної резистентності можна розцінювати як один з чинників підвищення середньодобового приросту маси тіла курчат на 39,0 % у перші 7 днів життя, а наприкінці досліду — на 5 %

Ключові слова: імунорезистентність, клініко-біохімічні показники

З кожним роком в Україні стає все більш популярним вирощування та виробництво екологічно чистих продуктів харчування та кормових добавок. З початку XXI століття ринок органічної продукції в Україні швидко розвивається. Виробництво екологічно чистої продукції можливе за умов відсутності застосування синтетичних мінеральних добрив, пестицидів, використання антибіотиків і кормових добавок [1]. Постає питання пошуку альтернативних джерел біологічно активних речовин природного походження, якими, зокрема, можуть бути відходи шовківництва — лялечки шовковичного та дубового шовкопрядів. Поживні та біологічно активні речовини, які містить лялечка шовкопряда, можуть використовуватись для профілактики та лікування хвороб тварин, а також для підвищення природної резистентності організму тварин [2–5]. У науковій літературі [1, 6] є дані щодо застосування екстракту лялечки дубового шовкопряда у тваринництві (свині, телиці), які підвищують інтенсивність росту та резистентність організму тварин. В останні роки з'явилась низка публікацій [4, 5, 7] щодо вивчення механізмів впливу екстрактів з відходів шовковичного виробництва (лялечки, фекалії) на організм тварин. У той же час у доступній нам літературі відсутні дані щодо біологічного впливу лялечки шовкопряда на гематологічні та біохімічні показники крові тварин.

У зв'язку з цим метою дослідження було визначити направленість і вираженість впливу розроблюваної кормової добавки на основі лялечки шовковичного шовкопряда (КД ЛШШ) на неспецифічний гуморальний імунітет птиці.

Матеріали та методи. Дослід проведено на курчатах-бройлерах добового віку. Сформовано 2 групи курчат-аналогів. Птиці першої групи задавали добавку зранку, змішуючи з комбікормом із розрахунку 3,0 см³/кг живої ваги. Друга група — контроль. Упродовж досліду птицю зважували та вели спостереження за клінічним станом. Дослід тривав 48 днів. На початку досліду та на 7-му, 14-ту, 20-ту, 27-му, 34-ту та 48-му доби птицю зважували. На 20-ту, 27-му,

34-ту та 48-му доби по 5 голів птиці з кожної групи було еутаназовано та відібрано кров для клініко-біохімічних досліджень.

Для визначення показників неспецифічного гуморального імунітету птиці за згодовування кормової добавки на основі лялечки шовкопряда у сироватці крові птиці визначено рівень загального білка, альбумінів, глобулінів, концентрацію циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) середньої молекулярної маси — за методом Ю. А. Гриневича шляхом осадження білкових комплексів антиген-антитіло ПЕГ-6000 і серомукоїдів — спектрофотометрично за різницею екстинкцій за довжин хвилі 260 та 280 нм [8, 9].

Цифрові дані обробляли біометрично загальноприйнятими методами статистики із застосуванням *t*-критерію Стьюдента та використанням комп'ютерних програм Statistica 6.0 (StatSoft Inc., USA) і Microsoft Excel 2007. При цьому порівнювали показники дослідної та контрольної груп у відповідні терміни дослідження.

Результати досліджень. Щоденний огляд птиці дослідної та контрольної груп показав, що клінічний стан курчат був задовільний: птиця рухлива, апетит збережений протягом усього досліді, ріст та розвиток відповідав нормативним показникам. Рівень збереженості курчат в обох групах складав 100 %. Аналіз результатів, отриманих за задавання препарату на основі лялечки шовковичного шовкопряда курчатам підтверджує, що він чинить позитивний вплив на приріст маси тіла птиці (табл. 1).

Таблиця 1 — Маса курчат-бройлерів за дії кормової добавки на основі лялечки шовковичного шовкопряда, г ($M \pm m$, $n = 5$)

Доба досліді	Дослідна група	Контрольна група	Відмінність маси курчат упродовж досліді, % від контролю
1	42,4 ± 0,25	46,5 ± 0,24	-8,8
7	164,0 ± 1,1*	118,0 ± 1,0	+39,0
14	411,0 ± 3,8*	312,6 ± 2,2	+31,7
20	845,7 ± 3,0*	753,3 ± 5,0	+12,3
27	1415,0 ± 9,0*	1350,0 ± 6,6	+4,8
34	2185,0 ± 15,5*	1808,0 ± 18,3	+20,8
48	2963,0 ± 29,0*	2822,0 ± 22,0	+5,0

Примітка. * — $p \leq 0,05$ відносно контролю.

Так, починаючи з 7-ї доби дослідження реєстрували підвищення ($p \leq 0,05$) середньої живої ваги курчат дослідної групи на 39,0, 31,7, 12,3, 4,8, 20,8 та 5,0 % протягом всього терміну спостережень (на 7-му, 14-ту, 20-ту, 27-му, 34-ту та 48-му доби відповідно) у порівнянні з контролем. При цьому необхідно зазначити, що впродовж досліді середня маса тіла птиці дослідної групи збільшилась у 69,9 раза, тоді як у курчат контрольної групи — у 60,7 раза.

Під час розтину у птиці, якій задавали КД ЛШШ, уражень шлунково-кишкового тракту та внутрішніх органів не виявлено (рис.).

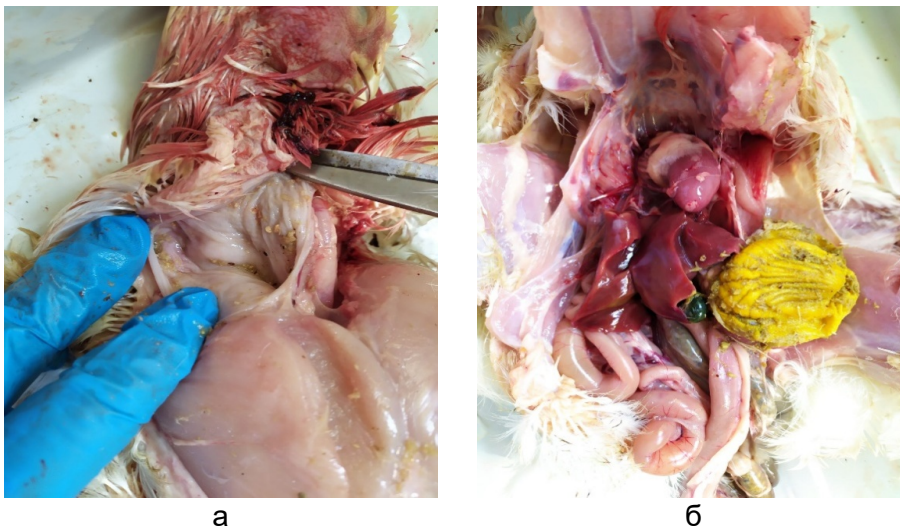


Рис. Стан внутрішніх органів за розтину птиці дослідної групи: а) волю; б) внутрішні органи та мускульний шлунок.

Аналізуючи дані табл. 2, слід відмітити, що вміст загального білка сироватки крові птиці дослідної групи на початку досліду (27-ма доба) був підвищений на 4,0 %, а на 34-ту та 48-му доби реєстрували його зниження на 6,0 та 3,5 % відповідно, що свідчить про незначний вплив КД ЛШШ на цей показник.

Таблиця 2 — Динаміка маркерів неспецифічного імунітету курчат-бройлерів за дії кормової добавки на основі лялечки шовковичного шовкопряда ($M \pm m$, $n = 5$)

Показники	Доба досліду	Дослідна група	Контроль	Показники	Доба досліду	Дослідна група	Контроль
Загальний білок, г/л	20	29,3 ± 0,9	29,5 ± 0,4	Альбуміно-глобуліновий коефіцієнт	20	1,02 ± 0,001*	1,15 ± 0,010
	27	33,4 ± 1,4	32,1 ± 0,9		27	0,81 ± 0,009*	0,96 ± 0,009
	34	29,7 ± 0,3	31,6 ± 0,6		34	0,93 ± 0,001*	0,99 ± 0,004
	48	41,6 ± 1,4	43,1 ± 0,7		48	0,42 ± 0,004*	0,44 ± 0,001
Альбуміни, г/л	20	14,8 ± 0,8	15,8 ± 0,3	Циркуючі імунні комплекси, мг/мл	20	0,15 ± 0,001*	0,13 ± 0,002
	27	15,0 ± 1,4	15,7 ± 1,4		27	0,28 ± 0,003*	0,26 ± 0,001
	34	14,3 ± 0,5	15,7 ± 0,8		34	0,29 ± 0,007*	0,23 ± 0,007
	48	12,4 ± 0,4	13,3 ± 1,1		48	0,17 ± 0,006*	0,13 ± 0,001
Глобуліни, г/л	20	14,5 ± 1,1	13,7 ± 0,6	Серомукоїди, мг/мл	20	0,40 ± 0,001*	0,44 ± 0,001
	27	18,4 ± 1,0	16,4 ± 0,6		27	0,38 ± 0,001*	0,43 ± 0,002
	34	15,3 ± 0,8	15,8 ± 1,4		34	0,40 ± 0,007*	0,43 ± 0,003
	48	29,2 ± 0,4	29,8 ± 0,8		48	0,11 ± 0,001*	0,13 ± 0,001

Примітка. * — $p \leq 0,05$ відносно контролю.

Упродовж 48 діб дослідження встановлено тенденцію до зменшення вмісту альбуміну (у середньому на 7,3 %). Уміст глобулінів у сироватки крові курчат дослідної групи, навпаки, був підвищеним на 5,8 та 12,2 % на 20-ту та 27-му доби відповідно, а наприкінці дослідження цей показник був у межах значень середнього показника контрольної групи.

Упродовж тривалого терміну дослідження (48 діб) впливу кормової добавки на основі ЛШШ спостерігали вірогідне ($p \leq 0,05$) зменшення альбумін-глобулінового коефіцієнту на 11,3, 15,6, 6,1 та 4,5 % на 20-ту, 27-му, 34-ту та 48-му доби відповідно. Аналізуючи дані щодо рівня циркулюючих імунних комплексів, слід підкреслити вірогідне його підвищення на 15,4, 7,7, 26,1 та 30,7 % відповідно у сироватці крові курчат дослідної групи протягом усього експерименту (табл. 2). Протилежна динаміка відмічалась щодо вмісту серомукоїдів: вірогідне зниження рівня до 9,1, 11,6, 7,0 та 15,4 % відповідно.

Ураховуючи біологічну роль маркерів уродженого імунітету [2, 10], динаміка яких вивчалась, можна констатувати, що застосування КД ЛШШ забезпечує підвищення рівня факторів неспецифічного імунітету (глобуліни, ЦІК) та зниження маркерів імуносупресії (Sm) в організмі курчат.

Отримані нами результати співпадають з даними сучасних наукових літературних джерел щодо вивчення біологічної дії екстрактів відходів шовковиробництва. Так, було встановлено, що екстракт з лялечки шовкопряда знижує активність запальних процесів за рахунок зниження продукування прозапальних цитокінів (IL-1 β , IL-4 TNF- α) та активізації протизапального Th-1-опосередкованого IL-21 у мишей [5]. Екстракт фекалій шовкопряда регулював метаболізм заліза шляхом інгібування гепсидину і одночасно стимулював синтез еритропоєтину для лікування ниркової анемії у щурів [7]. При дослідженні білкового складу лялечок шовковичного шовкопряда встановлено значну кількість класів білків, зокрема ферментів, які представляють великий інтерес для фармацевтичної промисловості, зокрема для застосування за серцево-судинних захворювань [4]. Автори роблять висновок про перспективність застосування лялечок шовковичного шовкопряда також як джерела високоцінних білків у «зеленій» та «відновлювальній» промисловості.

Висновки. 1. Застосування кормової добавки на основі лялечки шовковичного шовкопряда дозволяє підвищити рівень неспецифічного гуморального імунітету курчат, про що свідчить посилення експресії таких її маркерів як глобуліни на 12,2 %, циркулюючих імунних комплексів — до 30,7 %, а також пригнічення синтезу серомукоїдів на 15,4 %.

2. Виявлений позитивний ефект кормової добавки на основі лялечки шовковичного шовкопряда на стан природної резистентності можна розцінювати як один із чинників підвищення середньодобового приросту маси тіла курчат на протязі досліду на 39,0 % у перші 7 днів життя.

Список літератури

1. Чиркин А. А., Коваленко Е. И., Шейбак В. М., Смирнов В. Ю., Дорошенко Е. М., Надольник Л. И., Паршонок Д. И., Денисова С. И. Антиоксидантная активность куколок китайского дубового шелкопряда (*Antheraea pernyi* G.-M.). Учёные записки УО «Витебский государственный университет им. П. М. Машерова». 2007. Т. 6. С. 248–266. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=22843963>.
2. Петров Р. В. Иммунология. Москва : Медицина, 1982. 368 с.
3. Болотников И. А., Конопатов Ю. В. Практическая иммунология сельскохозяйственных птиц. Санкт-Петербург : Наука, 1993. 204 с. ISBN: 5020258164.
4. Altomare A. A., Baron G., Aldini G., Carini M., D'Amato A. Silkworm pupae as source of high-value edible proteins and of bioactive peptides. *Food Science & Nutrition*. 2020. Vol. 8, iss. 6. P. 2652–2661. DOI: <https://doi.org/10.1002/fsn3.1546>.
5. Choi D. W., Kwon D. A., Jung S. K., See H. J., Jung S. Y., Shon D. H., Shin H. S. (2018). Silkworm dropping extract ameliorate trimellitic anhydride-induced allergic contact dermatitis by regulating Th1/Th2 immune response. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2018. Vol. 82, iss. 9. P. 1531–1538. DOI: <https://doi.org/10.1080/09168451.2018.1475210>.
6. Кочергин Б. Н., Степанова Н. А., Толкачёва Т. А., Чиркин А. А. Характеристика жидкого содержимого куколок дубового шелкопряда. *Вестник Віцебскага дзяржаўнага ўніверсітэта*. 2012. № 4(70). С. 28–36. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=17891574>.
7. Mei H., Wu N., Huang X., Cui Z., Xu J., Yang X., Zeng F., Wang K. Possible mechanisms by which silkworm faeces extract ameliorates adenine-induced renal anaemia in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 2021. Vol. 266. P. 113448. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113448>.
8. Покровский А. А., ред. Биохимические методы исследований в клинике. Москва : Медицина, 1969. 652 с.
9. Меньшиков В. В., ред. Лабораторные методы исследования в клинике. Москва : Медицина, 1987. 90 с.
10. Коваленко Л. В. Стан вродженого імунітету овець за експериментального лімфолейкозу та застосування засобів його специфічної профілактики. *Науково-технічний бюлетень НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК*. 2018. Т. 6, № 2. С. 38–48. URL: <https://bulletin-biosafety.com/index.php/journal/article/view/177>.

DYNAMICS OF NON-SPECIFIC HUMORAL IMMUNITY FACTORS IN POULTRY WHICH RECEIVED FEED SUPPLEMENT BASED ON SILKWORM PUPAE

Stegniy B. T., Kovalenko L. V., Boiko V. S., Rudenko O. P., Pazushchan O. Ye.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv, Ukraine

The purpose of the study was to determine the focus and the intensity of the effect of the developed feed supplement based on the silkworm pupae on the nonspecific humoral immunity of poultry. The research was carried out on one-day-old broiler chickens, which were kept in standard vivarium conditions. The birds of first group were given the supplement in the morning, mixing with compound feed at the rate of 3.0 ml/kg of live weight. The second group was control. On the 20th, 27th, 34th and 48th days, 5 birds from each group were euthanized and blood was collected for clinical and biochemical studies. To determine the indicators of non-specific humoral immunity of birds after receiving feed supplement based on silkworm pupae in the blood serum of birds, the level of total protein, albumins, globulins, the concentration of circulating immune complexes of average molecular weight and seromuroids were determined by generally accepted methods. As a result of the use of a feed supplement based on silkworm pupae, there was determined an increase in the level of hemoglobin up to 16.0% and a slight activation of erythropoiesis, an increase in the level of humoral immunity, as evidenced by an increase in globulins up to 12.2% and circulating immune complexes up to 30.7%, and also inhibition of seromuroid synthesis by 15.4%. Thus, it has been concluded that the use of a feed supplement based on silkworm pupae allows to increase the level of non-specific humoral immunity of chickens, as evidenced by increased expression of its markers (globulins, circulating immune complexes), as well as inhibition of seromuroid synthesis. The revealed positive effect of the feed supplement based on silkworm pupae on the state of natural resistance can be considered as one of the factors of increasing the average daily weight gain of chickens by 39.0% in the first 7 days of life

Keywords: *immune resistance, clinical and biochemical indicators*