

ИММУННЫЙ СТАТУС ТЕЛЯТ ПОД ВЛИЯНИЕМ ПРОБИОТИКА ПРОВАГЕНА

Е.В. КРАПИВИНА¹, Д.В. ИВАНОВ¹, А.И. ФЕСЬКОВ¹, Ю.Н. ФЕДОРОВ²,
А.И. АЛБУЛОВ², О.В. БУХАНЦЕВ², О.А. БОГОМОЛОВА²

Оценивали влияние различных доз пробиотика провагена и его комплекса с хитозаном на иммунный статус телят. Установлено дозозависимое иммуномодулирующее влияние препаратов. Выпаивание пробиотика провагена ($14 \text{ г} \cdot \text{гол}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$) и комплекса пробиотика ($14 \text{ г} \cdot \text{гол}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$) с хитозаном ($0,8 \text{ г} \cdot \text{гол}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$) способствовало увеличению содержания лимфоцитов в крови и повышению гуморальной иммунной защиты. Увеличение дозы провагена вдвое оказывало менее выраженное стимулирующее действие на иммунную систему телят.

Ключевые слова: телята, пробиотик, хитозан, иммунный статус.

Keywords: calves, probiotics, hitozan, immune system, immune responses.

У животного микрофлора желудочно-кишечного тракта играет важную роль в анатомическом, физиологическом и иммунологическом развитии, а также в общем метаболизме. Она стимулирует иммунную систему быстро реагировать на внедрение патогенов и через бактериальный антагонизм ингибировать колонизацию кишечника вредными или патогенными бактериями. При нарушении равновесия между полезной нейтральной микрофлорой и потенциально патогенными бактериями защитные функции организма ослабевают, возникают заболевания. Увеличивается число бактерий, которые в норме отсутствуют или встречаются в незначительных количествах, утрачивается или, наоборот, усиливается ферментативная активность отдельных видов, что может приводить к серьезным осложнениям (1).

В экспериментальных исследованиях на биологических моделях и в производственных условиях на животных различных половозрастных групп установлено, что пробиотики оказывают не только регуляторное влияние на кишечный биоценоз, но и выраженное стимулирующее воздействие на иммунную систему. У животных, получавших препараты, увеличивается количество Т-лимфоцитов, повышается функциональная активность В-лимфоцитов и фагоцитарная активность нейтрофилов. Пробиотики стимулируют продукцию секреторного IgA и γ -интерферона, местный и системный иммунный ответ (2, 3).

Пробиотик проваген улучшает процессы пищеварения, оказывает профилактическое и терапевтическое действие при расстройствах пищеварения различной этиологии, обладает антистрессовым действием (4). Хитозан, представляющий собой связанные β -(1-4)-D-глюкозаминозные звенья и N-ацетил-D-глюкозамин, может использоваться в качестве пребиотика. В ферментной системе желудочно-кишечного тракта животных отсутствуют β -гликозидазы, что делает хитозан непереваримым.

Только комплексное понимание теоретически и экспериментально изученных свойств пробиотика и особенностей механизма его воздействия на организм может гарантировать положительный эффект (5).

Нашей целью было изучение влияния разных доз пробиотика провагена и его комплекса с хитозаном на иммунный статус телят.

Методика. Научно-хозяйственные опыты проводили в 2011 году на

МТФ СПК Агрофирма «Культура» (Брянская обл., Брянский р-н) на 1-1,5-месячных телятах черно-пестрой породы. В 1-м опыте с учетом живой массы и интенсивности роста методом парных аналогов были сформированы три группы животных (по 10 гол. в каждой): I группа — контрольная, животным II группы ежедневно в течение 7 сут выпаивали пробиотик проваген (14 г/гол.), III группы — комплекс этого пробиотика (14 г/гол.) с хитозаном (0,8 г/гол.). Во 2-м опыте аналогичным образом сформировали три группы телят: I группа — контрольная (7 гол.), телятам из II группы (6 гол.) в течение 7 сут выпаивали проваген (28 г/гол.), из III группы (7 гол.) — комплекс провагена (28 г/гол.) с хитозаном (1,6 г/гол.). Телята содержались в условиях, соответствующих ветеринарно-зоогигиеническим требованиям, и получали хозяйственный рацион согласно общепринятым нормам (6). Эксперименты выполняли в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР № 755 от 12 августа 1977 года). Пробы крови отбирали утром до кормления из яремной вены перед началом 1-го опыта у 10 телят из контрольной группы и у 5 — из каждой опытной группы, после окончания 1-го и 2-го опытов — у 5 животных из каждой группы.

Число лейкоцитов и эритроцитов в крови определяли общепринятыми методами, гематокрит — в гематокритной центрифуге СМ-70 («EL-MI», Латвия), лейкограмму — в мазках, окрашенных по Романовскому-Гимзе. Содержание популяции Т-лимфоцитов (Е-РОЛ, %) оценивали с помощью реакции розеткообразования лимфоцитов с эритроцитами барана, В-лимфоцитов (М-РОЛ, %) — с эритроцитами мыши (7), субпопуляции иммунорегуляторных Т-лимфоцитов, обладающих преимущественно хелперной (Е-РОЛ_{тр.}, %) и киллерно/супрессорной (Е-РОЛ_{тч.}, %) активностью, — в тесте с теофиллином (8). Содержание иммуноглобулинов определяли методом простой радиальной иммунодиффузии по Манчини (9).

Компьютерная биометрическая обработка экспериментальных данных проводилась общепринятыми методами вариационной статистики (10). В качестве значений физиологической нормы принимали интервалы соответствующих показателей, приведенные в литературе (11-13).

Результаты. Перед началом 1-го опыта содержание лейкоцитов в крови у животных соответствовало верхней границе нормативных значений и после выпаивания препаратов достоверно не изменялось (табл.). Относительное число лимфоцитов также находилось в пределах нормы без существенных межгрупповых различий. После окончания опыта у телят из контрольной группы произошло снижение этого показателя на 22,94 % (до нижних границ нормативных значений), у животных из II и III групп — увеличение соответственно на 10,26 и 15,71 %.

Иммунологические показатели крови у 1-1,5-месячных телят черно-пестрой породы при выпаивании разных доз пробиотика провагена и хитозана ($X \pm x$, научно-производственные опыты, МТФ СПК Агрофирма «Культура», Брянская обл., 2011 год)

| Показатель | Перед началом опыта | | | После выпаивания препаратов | | |
|-----------------------------------|---------------------|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| | I группа | II группа | III группа | I группа | II группа | III группа |
| | 1-й опыт | | | | | |
| Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$ | 9,17 \pm 0,60 | 10,29 \pm 2,48 | 10,88 \pm 1,25 | 10,32 \pm 1,42 | 8,99 \pm 1,04 | 13,14 \pm 3,97 |
| Лимфоциты, % | 61,21 \pm 4,28 | 65,80 \pm 6,00 | 56,70 \pm 6,04 | 47,17 \pm 10,10 | 72,55 \pm 4,98 | 65,61 \pm 1,34 |
| Е-РОЛ, % | 17,17 \pm 1,04 | 21,40 \pm 2,27 | 24,20 \pm 2,78 | 7,00 \pm 1,27 ^a | 11,73 \pm 0,70 ^{ab} | 16,50 \pm 2,64 ^a |
| Е-РОЛ _{тр.} , % | 12,15 \pm 2,87 | 23,50 \pm 2,46 ^a | 25,90 \pm 2,58 ^a | 8,50 \pm 4,15 | 11,90 \pm 2,22 ^b | 14,67 \pm 1,83 ^b |
| М-РОЛ, % | 16,25 \pm 2,59 | 12,20 \pm 2,49 | 16,60 \pm 2,37 | 10,60 \pm 1,91 | 8,10 \pm 0,94 | 14,00 \pm 1,59 ^b |
| 0-Лимфоциты, % | 66,58 \pm 2,63 | 66,40 \pm 4,62 | 59,20 \pm 5,03 | 82,40 \pm 2,65 | 80,17 \pm 1,58 | 69,50 \pm 2,12 ^{ab} |
| IgG, мг/мл | 17,22 \pm 1,95 | 15,95 \pm 1,66 | 11,16 \pm 2,49 | 14,58 \pm 3,11 | 17,80 \pm 3,29 | 14,37 \pm 2,98 |

| | Продолжение таблицы | | | | | |
|---------------------------------|---------------------|-----------|-----------|------------|------------|-------------------------|
| IgM, мг/мл | 1,81±0,25 | 1,40±0,11 | 1,45±0,23 | 1,38±0,30 | 2,07±0,43 | 1,59±0,39 |
| IgA, мг/мл | 0,32±0,03 | 0,34±0,02 | 0,24±0,03 | 0,29±0,05 | 0,34±0,05 | 0,29±0,04 |
| | 2-й опыт | | | | | |
| Лейкоциты, 10 ⁹ /л | | | | 10,69±1,35 | 8,60±0,13 | 9,72±0,68 |
| Лимфоциты, % | | | | 63,70±6,61 | 66,15±4,94 | 62,80±3,51 |
| Е-РОЛ, % | | | | 9,20±2,30 | 13,60±1,07 | 14,50±2,16 |
| Е-РОЛтр., % | | | | 13,10±2,07 | 16,80±2,58 | 18,10±4,01 |
| Е-РОЛ малодифференцированные, % | | | | 3,90±1,39 | 3,20±2,97 | 3,60±4,10 |
| М-РОЛ, % | | | | 22,90±3,20 | 18,73±2,67 | 12,90±1,71 ^a |
| θ-Лимфоциты, % | | | | 67,40±5,29 | 67,67±2,25 | 74,90±1,28 ^b |
| IgG, мг/мл | | | | 17,74±2,14 | 17,95±2,30 | 11,95±0,80 |
| IgM, мг/мл | | | | 1,80±0,47 | 1,97±0,26 | 1,57±0,10 |
| IgA, мг/мл | | | | 0,34±0,02 | 0,37±0,03 | 0,30±0,02 |

Примечание. Е-РОЛ — Т-лимфоциты, Е-РОЛтр. — субпопуляция иммунорегуляторных Т-лимфоцитов, обладающих преимущественно хелперной активностью. Пропуски означают, что измерения не проводили. Описание опытов и групп см. в разделе «Методика». Достоверность различий — при $p < 0,05$ по сравнению с I группой (а), по сравнению со II группой (б) и по сравнению с предыдущим периодом (в).

Относительное количество Т-лимфоцитов в крови у животных подопытных групп перед началом эксперимента было ниже нормативных значений. По окончании опыта отмечали снижение числа Т-лимфоцитов в крови у телят из I группы на 59,23 ($p < 0,05$), из II — на 45,19 ($p < 0,05$), из III — на 31,82 % ($p > 0,05$). При этом содержание Т-лимфоцитов у животных из II и III групп оказалось соответственно на 67,57 и 135,71 % выше, чем у телят из контрольной группы. Аналогичные данные получены Н.И. Малик и А.Н. Паниным, которые считают, что основной мишенью для стимулирующего действия пробиотиков служит клеточное звено иммунитета (2).

Относительное количество теофиллинрезистентных Т-лимфоцитов, обладающих преимущественно хелперной активностью, в крови у телят из I группы перед началом опыта было ниже, чем у животных из II и III групп на 48,30 и 53,09 % ($p < 0,05$). При этом у телят из I группы наряду с теофиллинрезистентными Т-лимфоцитами обнаружены и теофиллинчувствительные (4,32±2,89 %), обладающие киллерно/супрессорной активностью. У животных из II и III групп выявлены малодифференцированные Т-хелперы (соответственно 2,10±2,52 % и 1,70±4,19 %), которые дифференцировались под влиянием теофиллина, что указывает на активацию Т-хелперного звена клеточного иммунитета у животных из этих групп по сравнению с контролем.

После окончания опыта содержание теофиллинрезистентных Т-лимфоцитов у телят из I, II и III групп снизилось на 30,04 ($p > 0,05$), 49,36 ($p < 0,05$) и 43,36 % ($p < 0,05$), причем в крови у животных из II и III групп количество иммунокомпетентных клеток было на 40,00 и 72,59 % больше, чем в контроле. У телят из I и II групп Т-киллеры/супрессоры отсутствовали (малодифференцированные Т-хелперы составляли 1,90±3,15 и 0,17±1,76 %), у животных из III группы их удалось обнаружить (1,83±3,60 %), что может свидетельствовать об оптимизации гомеостаза.

Относительное число В-лимфоцитов в крови у животных подопытных групп перед началом эксперимента и после выпаивания препаратов существенно не различалось. Наблюдалась тенденция к снижению этого показателя после окончания опыта у телят из I, II и III групп соответственно на 34,77; 33,61 и 15,66 %. У животных из III группы содержание В-лимфоцитов было на 17,28 % выше, чем у телят из II группы.

Содержание θ-лимфоцитов (не образующих розетки ни с эритроцитами барана, ни с эритроцитами мыши) перед началом опыта превышало нормативные значения без существенных межгрупповых различий. После окончания опыта оно повысилось у телят из I группы на 23,78, из II —

на 20,74, из III — на 17,40 %. В крови у животных из III группы исследуемый показатель был ниже, чем у телят из контрольной и II групп соответственно на 15,66 и 13,31 %. Следовательно, применение комплекса пробиотика с хитозаном способствовало повышению степени дифференцировки лимфоцитов.

Концентрация IgG в сыворотке крови у подопытных телят перед началом опыта не имела достоверно значимых различий, но отмечалась тенденция к более низкому содержанию иммуноглобулинов этого класса у телят из III группы: на 35,19 % по сравнению с животными из I группы и на 30,03 % — из II. По окончании опыта количество IgG у телят из I группы снизилось на 16,55 % ($p > 0,05$), у животных, получавших препараты, повысилось на 11,60 (II группа) и 28,76 % (III группа) ($p > 0,05$). Содержание IgM у телят из I группы снизилось на 23,76 %, у животных из II и III групп — повысилось на 47,86 и 9,66 %. Наблюдалась тенденция к снижению концентрации IgA в сыворотке крови у телят из I группы на 9,38 % и повышению — у животных из III группы на 20,83 % по сравнению с началом опыта.

Выпаивание телятам препаратов в большей дозе не оказало существенного влияния на содержание лейкоцитов и лимфоцитов (см. табл.). Проявилась выраженная тенденция к более высоким значениям числа Т-лимфоцитов, в частности Т-хелперов, у животных из опытных групп по сравнению с контролем: соответственно на 47,83 и 28,24 % у особей из II группы, на 57,61 и 38,17 % — из III группы. Теофиллинчувствительные Т-лимфоциты в крови у животных подопытных групп не были выявлены, что указывает на активацию Т-хелперного звена иммунной системы. Содержание В-лимфоцитов в крови у животных из I и II групп существенно не различалось, у телят из III группы оно было на 43,67 % ($p < 0,05$) ниже, чем у контрольных животных. Количество 0-лимфоцитов в крови у животных из II группы достоверно не отличалось от контроля. У телят из III группы этот показатель был на 10,68 % ($p < 0,05$) ниже, чем у животных из II группы, что свидетельствует о снижении степени дифференцировки лимфоцитов у телят, получавших хитозан в дозе $1,6 \text{ г} \cdot \text{гол}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$.

Концентрация иммуноглобулинов классов G, M и A в сыворотке крови у телят из II группы не отличалась от контроля. У телят из III группы значения этих показателей были ниже по сравнению с таковыми у животных из I группы соответственно на 32,64; 12,78 и 11,76 %.

Таким образом, выпаивание телятам в течение 7 сут пробиотика провагена в дозе $14 \text{ г} \cdot \text{гол}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$ и комплекса пробиотика ($14 \text{ г} \cdot \text{гол}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$) с хитозаном ($0,8 \text{ г} \cdot \text{гол}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$) приводило к увеличению содержания Т- и В-лимфоцитов в крови и усилению гуморальной иммунной защиты. Выпаивание провагена в большей степени способствовало увеличению концентрации IgM в сыворотке крови у телят, а комплекса пробиотика с хитозаном — IgG и IgA. Увеличение дозы провагена вдвое оказывало менее выраженное стимулирующее действие на иммунную систему телят. Использование хитозана в дозе $1,6 \text{ г} \cdot \text{гол}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$, применяемого в комплексе с пробиотиком ($28 \text{ г} \cdot \text{гол}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$), вызывало снижение степени дифференцировки лимфоцитов и угнетение В-клеточного звена иммунной системы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тараканов Б.В., Николичева Т.А. Пробиотический потенциал *Lactobacillus casei* subsp. *pseudoplantarum* при выращивании телят. Ветеринария, 2001, 3: 46-49.
2. Малик Н.И., Панин А.Н. Ветеринарные пробиотические препараты. Ветеринария, 2001, 1: 46-51.

3. Herich R., Levcut M. Lactic acid bacteria, probiotics and immune system. *Vet. Med.-Czech*, 2002, 47(6): 169-180.
4. Константинов В.А., Краснокутский Р.С. Новый отечественный пробиотик проваген. *Свиноводство*, 2009, 5: 30-31.
5. Фумиаки Абэ. Критерии выбора пробиотика. *Молочная промышленность*, 2010, 5: 20-22.
6. Нормы и рационы кормления сельскохозяйственных животных /Под ред. А.П. Калашникова, В.И. Фисинина, В.В. Щеглова, Н.И. Клейменова. М., 2003.
7. Петров Р.В., Понякина И.Д., Лебедев К.А., Васенович М.И., Шибанова Е.М., Рагозина И.В. Способ определения иммунологического состояния организма. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*, 1976, 81(2): 197-200.
8. Петров Р.В., Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Орадовская И.В., Еремина О.Ф., Саидов М.З. Оценка иммунного статуса человека при массовых обследованиях. *Методические рекомендации для научных работников и врачей практического здравоохранения. Иммунология*, 1992, 6: 51-62.
9. Manchini G., Carbonara A.O., Heremans I.P. Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. *Immunochemistry*, 1965, 2(3): 235-254.
10. Плохинский Н.А. *Биометрия*. Новосибирск, 1961.
11. Карпуть И.М. *Гематологический атлас сельскохозяйственных животных*. Минск, 1986.
12. Кондрахин И.П., Архипов А.В., Левченко В.И., Таланов Г.А., Фролова Л.А., Новиков В.Э. *Методы ветеринарно-клинической лабораторной диагностики: Справочник* /Под ред. И.П. Кондрахина. М., 2004.
13. Tizard I.R. *Veterinary immunology. Immune status of piglets on the industrial farms. An introduction*. W.B. Saunders Co., Philadelphia-London-Montreal-Sydney-Tokyo, 1996.

*1*ФГБОУ ВПО Брянская государственная
сельскохозяйственная академия,

243365 Брянская обл., Выгоничский р-н, с. Кожино,

e-mail: cit@bhsa.bryansk.ru;

*2*ГНУ Всероссийский научно-исследовательский
и технологический институт биологической
промышленности Россельхозакадемии,

141142 Московская обл., Щелковский р-н, пос. Биокомбината,

17, ВНИТИБП,
e-mail: vnitibp@mail.ru

*Поступила в редакцию
31 января 2012 года*

IMMUNE STATUS OF CALVES UNDER THE INFLUENCE OF PROVAGEN PROBIOTIC

*E.V. Krapivina¹, D.V. Ivanov¹, A.I. Fes'kov¹, Yu.N. Fedorov², A.I. Albulov²,
O.V. Bukhantsev², O.A. Bogomolova²*

S u m m a r y

The authors estimated the influence of different doses of Provagen probiotic and its complex with chitosan on immune status of calves. A dose-dependent immunomodulating effect of these preparations was established. The drinking of Provagen in dose of 14 g · head⁻¹ · day⁻¹ and the probiotic (14 g · head⁻¹ · day⁻¹) with chitosan (0.8 g · head⁻¹ · day⁻¹) complex promotes to an increasing of lymphocytes amount in blood and to a rising of humoral immune defense. The duplicated Provagen dose shows the lesser marked stimulatory action on immune system of calves.

Внимание читателей! Вышла в свет книга: Василенко Т.Ф., Монгалев Н.П., Чувьорова Н.И. Физиология эстральной цикличности в репродуктивной функции коров. Екатеринбург: изд-во УрО РАН, 2011, 176 с.

Представлены результаты многолетних исследований и приведен обзор отечественной и зарубежной литературы по обсуждаемой теме. Описано функциональное состояние яичников и даны характеристики половых циклов у коров на основе исследования биохимического и морфофункционального анализа крови, определения содержания клеток разной морфологии в эпителии влагалища и физико-химических свойств цервика-вагинального секрета. Установлена зависимость восстановления физиологически полноценных эстральных циклов у животных в период лактации от метаболического обеспечения и морфофункционального состава крови. Обсуждаются оптимальные условия ускоренного формирования эстральных циклов у самок сельскохозяйственных животных в период полового созревания и лактации. Доказана эффективность включения в корм биостимуляторов из животных тканей и растений для стимуляции восстановления полноценных эстральных циклов у коров. Монография рассчитана на широкий круг биологов, физиологов, врачей ветеринарной медицины, преподавателей и студентов.