

ВПЛИВ ВІТАМІНІВ Е І С НА КІЛЬКІСТЬ І ФУНКЦІОНАЛЬНУ АКТИВНІСТЬ Т- І В-ЛІМФОЦИТІВ КРОВІ КУРЧАТ-БРОЙЛЕРІВ

Л. В. РОМАНОВИЧ, аспірантка*кафедри епізоотології,
<https://orcid.org/0000-0002-4546-5210>

Б. М. КУРТЯК, доктор ветеринарних наук, професор, завідувач кафедри
епізоотології,
<https://orcid.org/0000-0001-8401-5928>

Львівський національний університет ветеринарної медицини та
біотехнологій імені С. З. Гжицького

О. І. ВІЩУР, доктор ветеринарних наук, професор, завідувач
лабораторії імунології,
<https://orcid.org/0000-0003-4503-3869>

Інститут біології тварин НААН

E-mail: romanovychlv@gmail.com; vishchur_oleg@ukr.net

Анотація. Досліджували окремі показники Т- і В-клітинної ланок імунітету курчат-бройлерів упродовж періоду їх вирощування за додаткового введення до їх раціону токоферолу ацетату та аскорбінової кислоти. Дослідження проводили в одному з господарств Львівської області на чотирьох групах курчат-бройлерів по 100 голів у кожній, починаючи з 1- до 41-добового віку. Курчата контрольної групи отримували стандартний раціон, першої дослідної – раціон з додаванням токоферолу ацетату, другої дослідної – аскорбінової кислоти, а третьої – комплекс вказаних вітамінів. У цільній крові визначали відносну кількість Т- і В-лімфоцитів та їх окремих популяцій у реакції спонтанного розеткоутворення з еритроцитами барана, проводили диференційований підрахунок розеткоутворюючих лімфоцитів із різним ступенем функціональної активності.

Проведені дослідження показали, що додаткове введення курчатам до їх раціону токоферолу ацетату (вітаміну Е) та аскорбінової кислоти (вітаміну С) має стимулюючий вплив на кількість Т- і В-лімфоцитів і функціональну активність Т- і В-клітинної ланок імунітету. Про що свідчать збільшена кількості Т-лімфоцитів (загальних, активних, теофілін-резистентних) і В-лімфоцитів у крові курчат-бройлерів, яким додатково до раціону вводили вітаміни.

При цьому виявлено вищу функціональну активність досліджуваних імунокомпетентних клітин за рахунок зміцнення рецепторного апарату Т- і В-лімфоцитів – збільшення кількості клітин із низькою і середньою ступінню авідності і зниження неактивних у функціональному відношенні Т- і В-лімфоцитів крові. Вказані зміни були виражені більшою мірою у крові курчат 27-добового віку за дії комплексу зазначених вітамінів.

* Науковий керівник – доктор ветеринарних наук, професор Б. М. Куртяк

Отже, на основі проведених досліджень можна стверджувати про регуляторну роль вітамінів Е і С у формуванні клітинної ланки специфічної імунної відповіді курчат-бройлерів. За дії досліджуваних вітамінів, і, особливо аскорбінової кислоти констатовано збільшення кількості та підвищення функціональної активності Т- і В-лімфоцитів крові. Ці зміни, ймовірно, зумовлені антиоксидантною дією цих вітамінів у забезпеченні метаболічного гомеостазу мембран і рецепторного апарату імунокомпетентних клітин.

Ключові слова: вітаміни Е і С, курчата-бройлери, специфічний імунітет, Т- і В-лімфоцити, функціональна активність імунокомпетентних клітин

Актуальність

Зниження життєздатності птиці, особливо у ранньому віці, є однією з найактуальніших проблем, що існує у галузі промислового птахівництва. Це зумовлено низьким рівнем імунного потенціалу організму, особливо у критичні фізіологічні періоди постнатального розвитку, а також низкою антропогенних чинників, у тому числі внаслідок недостатньої та неповноцінної годівлі (Vlizlo et al., 2015; Lemesheva, 2003).

Аналіз останніх досліджень та публікацій

У формуванні та регуляції імунної відповіді в організмі тварин та птиці, велике значення надається лімфоцитам та їх окремим популяціям, як головним клітинам імунної системи. Вони є носіями імунологічної пам'яті і попередниками антитілоутворюючих клітин. Їх роль значною мірою характеризує вміст Т- і В-лімфоцитів та їх субпопуляцій у периферичній крові (Maslianko, 1999; Rojt et al., 2000).

Лімфоцити – це специфічні, імунокомпетентні клітини імунної системи (Haitov et al., 2000; Thoman, 1995). Існує два основних типи лімфоцитів, що володіють різним гістогенезом і кінцевою ефекторною функцією: Т-лімфоцити,

що забезпечують клітинний імунітет, і В-лімфоцити, відповідальні за антитілоутворення (Bartha&Comino-Delgado, 2000; King et al., 1998). Крім того, виділяють значну кількість різних типів Т-клітин (Maxrygimas et al., 1993; Medina et al., 1993). В-лімфоцити забезпечують синтез антитіл через їх кінцеву форму – плазматичні клітини. Т і В-системи лімфоцитів взаємозв'язані. Т-система стосовно В-системи відіграє регулюючу роль (Voronin et al., 2002; Khariv et al., 2017).

Аналіз даних літератури свідчить, що на формування імунобіологічної реактивності та розвиток органів імунної системи організму птиці значний вплив має оптимальне забезпечення їхньої потреби у вітамінах (Vlizlo et al., 2015; Ionov, 1997). При цьому важливе значення має оптимальне забезпечення у раціоні птиці рівня вітамінів Е і С (Rojt et al., 2000; Fisinin&Suraj, 2013). Останні, як відомо, проявляють регуляторний вплив на імунологічну реактивність, ріст і збереженість птиці.

Констатовано позитивний вплив вітамінів Е і С на стан імунної й антиоксидантної систем, продуктивність і збереженість у курей, а також в індицат і гусенят (Ionov, 1997; Mudrak&Vishchur, 2011; Mudrak et al., 2012).

Водночас на курчатах-бройлерах такі дослідження фрагментарні. На сьогоднішній день недостатньо вивче-

ним є як самостійний, так і поєднаний вплив вітамінів С та Е на активність захисних систем організму птиці. Насамперед, з'ясування вимагає дослідження впливу вітамінів Е і С на стан Т- і В-клітинної ланки імунітету у курчат-бройлерів у критичні періоди росту.

Мета дослідження – з'ясування дії вітамінів Е і С на стан Т- і В-клітинної ланки імунітету курчат-бройлерів

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проводили в одному із господарств Львівської області на чотирьох групах курчат-бройлерів по 100 голів у кожній, починаючи з 1- до 41-добового віку. Утримання курчат було напольним з вільним доступом до корму і води. Контрольній групі курчат згодовували стандартний комбікорм, збалансований за основними поживними речовинами згідно норм, рекомендованих для кросу РОСС – 308. Перша дослідна група птиці додатково до вказаного комбікорму отримувала вітамін Е у кількості 0,1 г / кг комбікорму, друга — вітамін С 0,25 г / кг комбікорму, третя дослідна група курчат — вітамін Е і вітамін С у вказаних дозах.

Для досліджень використовували кров, яку брали у курчат-бройлерів після забою у різні вікові періоди: 27-, 34- і 41-добовому віці. Під час виконання роботи дотримувались біоетичних вимог щодо тварин згідно чинного законодавства.

У стабілізованій гепарином крові визначали загальну кількість Т-лімфоцитів (Е-РУЛ) – у реакції спонтанного розеткоутворення з еритроцитами барана (Jondal M. et al., 1972) як маркерами. Принцип методу полягає у здатності лімфоцитів утворювати, так звані, “розетки” з гетерогенними еритроцитами.

У центрі “розетки” є лімфоцит, на мембрані якого містяться специфічні рецептори, а на периферії – еритроцити. За кількістю еритроцитів, адсорбованих одним лімфоцитом, судять про ступінь його функціональної активності. Визначали відносну кількість загальних (ТЕ-РУЛ – загальні розеткоутворюючі лімфоцити) й активних Т-лімфоцитів (ТА-РУЛ – активні розеткоутворюючі лімфоцити) за методикою (Wansbrough-Jones M. et al., 1979). Для відмивання лімфоцитів використовували забуферений фізіологічний розчин (рН розчину 7,2–7,4 (7,3). Мононуклеарну фракцію клітин виділяли з гепаринізованої крові курчат-бройлерів. Зроблені мазки висувували, фіксували метанолом, фарбували 7–10 хв за Романовським-Гімза. Мікроскопію мазків робили під іммерсією за збільшення 90 × 7. Лімфоцити розрізняли за кількістю приєднаних еритроцитів: нульові – не приєднали жодного, малодиференційовані (низькоавідні лімфоцити або клітини з малою щільністю поверхневих рецепторів) – приєднали 3–5 еритроцитів, середньоавіднісубпопуляції – 6–10 еритроцитів, високодиференційовані (високоавідні) – “розетки” з більше як 10 еритроцитами (М – морула). Визначення відносної кількості теофілінрезистентних Т-хелперів ґрунтується на тому, що ці клітини несуть на своїй поверхні рецептори до імуноглобулінів класу М, а Т-супресори – до імуноглобулінів класу G. Хелперні–лімфоцити, здатні формувати розетки після їх інкубації з теофіліном – це теофілінрезистентні клітини. Кількість теофілінчутливих лімфоцитів Т-супресорів визначали за різницею між кількістю ТЕ-РУЛ і Т-хелперів. Визначали відносну кількість В-лімфоцитів (Чернушенко Е. Ф. с соавт., 1979), метод ідентифікації яких ґрунтується на наявності у них мембранних імуноглобулінових

рецепторів, що забезпечує приєднання до В-лімфоцитів індикаторних клітин, які на своїй поверхні містять комплекс-антиген-комплекс (ЕАС-РУЛ). Як індикаторні клітини використовували еритроцити барана, сенсibiliзовані антитілами і комплементом. Для приготування комплекс-антиген-комплексу використовували готову рідку гемолітичну сироватку (титр 1:1 200) та готовий сухий комплекс морської свинки.

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

Результати дослідження та їх обговорення

З наведених у таблиці 1 даних бачимо, що кількість Т-загальних лімфоцитів у крові курчат-бройлерів першої, другої та третьої дослідних груп у 27-добовому віці збільшилась відповідно на 9,8, 14,0 і 18,0 % ($P < 0,001$) стосовно контрольної групи. Збільшення загальної кількості Т-лімфоцитів у крові курчат дослідних груп у цей період досліджень відбувалося за одночасного зменшення недиференційованих ($P < 0,001$) і середньоавідних ($P < 0,05$) ТЕ-РУЛ та збільшення кількості ТЕ-РУЛ із низькою ($P < 0,001$) щільністю рецепторів. Водночас кількість високоавідних ТЕ-РУЛ у крові бройлерів дослідних і контрольної груп була на одному рівні.

Подібні зміни, тільки виражені значно меншою мірою, констатовано за дослідження кількості ТЕ-РУЛ і їх субпопуляцій у крові курчат у 34- і 41-добовому віці. Так, вірогідне збільшення кількості Т-загальних лімфоцитів зафіксовано лише у крові курчат другої і третьої дослідної груп, які отримували відповідно добавки вітаміну С, а також аскорбінову кислоту та токоферол ацетат ($P < 0,05-0,01$). Зростання кількості Т-загальних лімфоцитів у

крові курчат у вказані періоди досліджень відбувалося на тлі зниження "нульових", недиференційованих клітин ($P < 0,05-0,01$) і збільшення у 41-добовому віці ТЕ-РУЛ з низькою ($P < 0,01$) і середньою ($P < 0,05$) щільністю рецепторів, відповідно у групі Д3 і Д2.

Отже, результати проведених досліджень свідчать, що додаткове введення до раціону курчат-бройлерів вітамінів С та Е спричиняє збільшення кількості Т-лімфоцитів та підвищує їх функціональну активність, особливо у 27-добовому віці. Цей вплив був виражений більшою мірою у крові курчат другої і третьої дослідних груп у 34- і 41-добовому віці.

У всі періоди досліджень загальна кількість Т-активних лімфоцитів у крові курчат дослідних груп більша ($P < 0,05-0,01$), ніж у контрольній (табл. 2). Зростання їх кількості у крові курчат дослідних груп у 27- і 34-добовому віці відбувалося на тлі зменшення неактивних та збільшення ТА-РУЛ із низькою і середньою щільністю рецепторів ($P < 0,05-0,001$). Водночас у 41-добовому віці у крові курчат усіх дослідних груп стосовно контрольної зафіксовано більшу кількість низькоавідних ($P < 0,05-0,01$) і у групі Д₃ високоавідних ТА-РУЛ ($P < 0,05$).

Збільшення загальної кількості Т-активних лімфоцитів у крові курчат, яким додаткового до основного раціону вводили вітаміни С та Е, відбувалось за рахунок зменшення недиференційованої популяції ТА-РУЛ ($P < 0,001$) та зростання кількості Т-активних лімфоцитів із низькою ($P < 0,001$) та середньою ($P < 0,05$) щільністю рецепторів.

Відомо, що Т-лімфоцити поділяються на функціонально відмінні популяції, основними з яких є Т-хелпери (Th) і цитотоксичні (Tc або CTL). Як показали результати проведених досліджень

1. Відносна кількість ТЕ-РУЛ та їх окремих субпопуляцій у крові курчат-бройлерів за дії вітамінів Е і С, % ($M \pm m$, $n = 5$)

Показники	Група курчат	Вік пtiці, доби		
		27	34	41
ТЕ-РУЛ, 0	К	53,75 ± 0,85	42,25 ± 0,48	40,50 ± 0,50
	Д1	44,0 ± 0,91***	41,25 ± 0,63	39,25 ± 0,75
	Д2	39,75 ± 0,85***	40,0 ± 0,41*	38,25 ± 0,48*
	Д3	38,25 ± 1,10***	40,0 ± 0,71*	37,0 ± 0,41**
3-5	К	39,0 ± 0,7	50,75 ± 0,75	50,75 ± 0,48
	Д1	50,0 ± 0,81***	52,0 ± 0,41	51,25 ± 0,48
	Д2	54,75 ± 0,85***	52,5 ± 0,29	51,75 ± 0,25
	Д3	56,25 ± 1,10***	53,0 ± 0,71	53,75 ± 0,48**
6-10	К	6,75 ± 0,48	6,25 ± 0,85	7,50 ± 0,29
	Д1	5,25 ± 0,48	5,75 ± 0,48	7,75 ± 0,48
	Д2	5,0 ± 0,40*	6,75 ± 0,48	8,50 ± 0,29*
	Д3	5,0 ± 0,40*	6,50 ± 0,64	7,75 ± 0,48
М	К	0,5 ± 0,28	0,75 ± 0,25	1,25 ± 0,48
	Д1	0,75 ± 0,25	1,0 ± 0	1,75 ± 0,25
	Д2	0,5 ± 0,28	0,75 ± 0,25	1,50 ± 0,29
	Д3	0,5 ± 0,28	0,50 ± 0,29	1,50 ± 0,29
%	К	46,25 ± 0,85	57,75 ± 0,48	59,50 ± 0,50
	Д1	56,0 ± 0,91***	58,75 ± 0,63	60,75 ± 0,75
	Д2	60,25 ± 0,85***	60,0 ± 0,41*	61,75 ± 0,48*
	Д3	64,25 ± 1,7***	60,0 ± 0,71*	63,0 ± 0,41**

Примітка: у цій та наступних таблицях * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$ — вірогідність різниць у пtiці дослідних груп порівняно до контрольної

(табл. 3), кількість ефeкторних Т-лімфоцитів у крові курчат-бройлерів також залежала від впливу досліджуваних чинників. Так, додаткове введення до раціону бройлерів вітамінів Е та С, порівняно з рекомендованим рівнем, спричиняло вірогідне збільшення у крові відносної кількості теофілін-резистентних Т-лімфоцитів (Th) у всі періоди досліджень. Такі зміни у крові курчат дослідних груп відбувалися за одночасного зростання кількості низькоавідних зменшення неактивних Th-РУЛ ($P < 0,05-0,01$). Вказані зміни у крові курчат дослідних груп

були виражені більшою мірою у 27-добовому віці. У цей період у крові бройлерів за дії вітамінів Е і С зафіксовано більшу кількість Th-РУЛ з середньою щільністю рецепторів ($P < 0,05$).

За дослідження кількості теофілінчутливих Т-лімфоцитів звертає увагу вірогідно більша їх кількість у крові курчат другої і третьої груп у 27-добовому віці. Разом з цим у бройлерів, які отримували вітамін С у 34-добовому віці зафіксовано вірогідне зменшення їх кількості стосовно контрольної групи. Водночас

2. Відносна кількість ТА-РУЛ та їх окремих субпопуляцій у крові курчат-бройлерів за дії вітамінів Е і С, % ($M \pm m$, $n = 5$)

Показник	Група курчат	Вік птиці, доба		
		27	34	41
ТА-РУЛ, 0	К	69,25 ± 1,10	69,0 ± 0,57	67,0 ± 2,41
	Д1	64,75 ± 0,48**	66,25 ± 0,63*	67,75 ± 0,48
	Д2	61,75 ± 0,63**	63,50 ± 0,50***	64,75 ± 0,75
	Д3	59,75 ± 1,18**	68,25 ± 0,48	65,25 ± 0,63
3-5	К	25,0 ± 0,91	25,75 ± 0,48	24,0 ± 0,41
	Д1	28,75 ± 0,48*	26,5 ± 0,64	25,75 ± 0,48*
	Д2	30,50 ± 0,65**	27,5 ± 0,29*	26,50 ± 0,29**
	Д3	32,75 ± 1,10**	26,5 ± 0,29	27,25 ± 0,25***
6-10	К	4,25 ± 0,48	4,50 ± 0,29	5,5 ± 0,29
	Д1	5,0 ± 0,40	6,75 ± 0,48**	5,5 ± 0,29
	Д2	6,25 ± 0,48*	8,50 ± 0,29***	5,5 ± 0,29
	Д3	6,75 ± 0,63*	4,50 ± 0,50	6,0 ± 0,41
М	К	1,5 ± 0,29	0,75 ± 0,25	1,0 ± 0
	Д1	1,5 ± 0,29	0,5 ± 0,29	1,0 ± 0
	Д2	1,5 ± 0,29	0,5 ± 0,29	1,75 ± 0,25*
	Д3	0,75 ± 0,48	0,75 ± 0,25	1,5 ± 0,29
%	К	30,75 ± 1,10	31,0 ± 0,58	30,50 ± 0,65
	Д1	35,25 ± 0,48**	35,25 ± 0,95**	32,25 ± 0,48
	Д2	38,5 ± 0,64***	36,50 ± 0,50***	33,75 ± 0,25**
	Д3	40,25 ± 1,18**	32,0 ± 0,41	34,75 ± 0,63**

Примітка: у цій та наступних таблицях * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$ — вірогідність різниць у птиці дослідних груп порівняно до контрольної

кількість Т-супресорів(CD8) у крові курчат усіх дослідних груп у 41-добовому віці була на рівні контрольної.

Визначення імунорегуляторного індексу, як відношення між теофілін-резистентними і теофілін-чутливими лімфоцитами крові, використовується для оцінки лімфоцитарної функції імункомпетентних клітин у нормі та за патології. Збільшення кількості Th-РУЛ свідчить про підвищення реактивності лімфоцитів і домінуванні Т-хелперів, збільшення кількості CD8 клітин свідчить про зниження лімфоцитарної ак-

тивності (Rojt et al., 2000). Результати наших досліджень показали (табл. 3.), що згодовування курчатам другої і третьої дослідних груп вітаміну С, а також вітаміну С і Е викликає зниження у 27-добовому віці лімфоцитарної активності та відповідно імунорегуляторного індексу. Водночас у бройлерів третьої дослідної групи різниці стосовно контрольної виявилися вірогідні. Так, у крові курчат другої групи у 34-добовому віці та у бройлерів третьої групи у 41-добовому віці констатовано вірогідно вищий показник імунорегуляторного індексу сто-

3. Відносна кількість Th–РУЛ і Ts у крові курчат-бройлерів за дії вітамінів Е і С, % ($M \pm m$, $n = 5$)

Показник	Група курчат	Вік птиці, доба		
		27	34	41
Th, РУЛ, 0	К	$65,0 \pm 1,0$	$60,0 \pm 0,48$	$59,0 \pm 0,41$
	Д1	$56,0 \pm 0,82^{***}$	$58,25 \pm 0,25^*$	$57,75 \pm 0,25^*$
	Д2	$54,50 \pm 0,65^{***}$	$55,25 \pm 0,47^{***}$	$57,0 \pm 0,41^*$
	Д3	$55,25 \pm 0,48^{***}$	$58,5 \pm 1,04$	$55,0 \pm 0,41^{***}$
3-5	К	$32,50 \pm 1,19$	$32,25 \pm 0,85$	$35,50 \pm 0,65$
	Д1	$38,75 \pm 0,48^{**}$	$36,25 \pm 0,48$	$36,50 \pm 0,29$
	Д2	$40,25 \pm 0,63^{**}$	$37,75 \pm 0,25^*$	$37,50 \pm 0,29^*$
	Д3	$40,0 \pm 0,40^{***}$	$37,0 \pm 0,82$	$38,50 \pm 0,29^{**}$
6-10	К	$2,25 \pm 0,63$	$4,75 \pm 0,85$	$5,0 \pm 0,41$
	Д1	$3,75 \pm 0,25$	$5,5 \pm 0,64$	$4,75 \pm 0,25$
	Д2	$3,50 \pm 0,65$	$7,0 \pm 0,41$	$5,0 \pm 0,41$
	Д3	$4,5 \pm 0,29^*$	$4,5 \pm 0,29$	$5,75 \pm 0,29$
М	К	$0,25 \pm 0,25$	0	$0,5 \pm 0,29$
	Д1	$0,5 \pm 0,29$	0	$1,0 \pm 0$
	Д2	$0,75 \pm 0,25$	0	$0,5 \pm 0,29$
	Д3	$0,25 \pm 0,25$	0	$0,75 \pm 0,25$
%	К	$35,0 \pm 1,0$	$40,0 \pm 0,41$	$41,0 \pm 0,41$
	Д1	$42,75 \pm 0,48^{***}$	$41,75 \pm 0,25^*$	$42,25 \pm 0,25^*$
	Д2	$44,5 \pm 0,65^{***}$	$44,75 \pm 0,47^{***}$	$43,0 \pm 0,41^*$
	Д3	$44,75 \pm 0,48^{***}$	$41,5 \pm 1,04$	$45,0 \pm 0,41^{***}$
Ts, %	К	$11,25 \pm 0,48$	$17,75 \pm 0,63$	$18,50 \pm 0,29$
	Д1	$13,25 \pm 0,85$	$17,0 \pm 0,41$	$18,50 \pm 0,65$
	Д2	$15,75 \pm 0,48^{***}$	$15,25 \pm 0,63^*$	$18,75 \pm 0,25$
	Д3	$19,5 \pm 1,85^{**}$	$18,5 \pm 0,95$	$18,0 \pm 0,71$
ІРІ	К	$3,1 \pm 0,20$	$2,25 \pm 0,25$	$2,0 \pm 0$
	Д1	$3,25 \pm 0,23$	$2,25 \pm 0,25$	$2,0 \pm 0$
	Д2	$2,77 \pm 0,08$	$3,0 \pm 0^*$	$2,0 \pm 0$
	Д3	$2,30 \pm 0,2^*$	$2,25 \pm 0,25$	$2,75 \pm 0,25^*$

Примітка: у цій та наступних таблицях * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$ — вірогідність різниць у птиці дослідних груп порівняно до контрольної

совно контрольної групи, що вказує на підвищення лімфоцитарної активності.

Аналіз результатів досліджень В-клітинної ланки імунітету курчат-бройлерів показав, що додаткове

введення до раціону вітамінів Е і С спричиняє подібний вплив на кількість і функціональну активність імункомпетентних клітин крові. Зокрема, у всі періоди досліджень загальна

4. Відносна кількість ЕАС - РУЛ у крові курчат-бройлерів за дії вітамінів Е і С, % ($M \pm m, n = 5$)

Показник	Група курчат	Вік птиці, доба		
		27	34	41
ЕАС-РУЛ, 0	К	77,5 $\pm$ 0,65	75,50 $\pm$ 0,95	76,75 $\pm$ 0,75
	Д1	75,5 $\pm$ 0,5*	73,25 $\pm$ 0,25	74,5 $\pm$ 0,50*
	Д2	72,25 $\pm$ 0,25***	70,25 $\pm$ 0,25**	71,5 $\pm$ 0,29***
	Д3	71,0 $\pm$ 0,82***	72,50 $\pm$ 0,29*	70,5 $\pm$ 0,29***
3-5	К	18,75 $\pm$ 0,63	20,0 $\pm$ 0,71	18,5 $\pm$ 0,65
	Д1	20,50 $\pm$ 0,65	22,0 $\pm$ 0,82	20,0 $\pm$ 0,41
	Д2	23,0 $\pm$ 0,41**	24,50 $\pm$ 0,64**	22,0 $\pm$ 0,41**
	Д3	24,0 $\pm$ 0,4***	21,75 $\pm$ 0,63	23,5 $\pm$ 0,29***
6-10	К	3,5 $\pm$ 0,65	4,50 $\pm$ 0,65	4,75 $\pm$ 0,48
	Д1	4,0 $\pm$ 0,40	4,75 $\pm$ 0,48	5,5 $\pm$ 0,29
	Д2	4,50 $\pm$ 0,29	5,25 $\pm$ 0,48	6,0 $\pm$ 0,41
	Д3	5,0 $\pm$ 0,41	5,75 $\pm$ 0,48	6,0 $\pm$ 0,41
М	К	0	0	0
	Д1	0	0	0
	Д2	0,25 $\pm$ 0,25	0	0,5 $\pm$ 0,29
	Д3	0	0	0
%	К	22,5 $\pm$ 0,65	23,75 $\pm$ 1,31	23,25 $\pm$ 0,75
	Д1	24,5 $\pm$ 0,50*	26,75 $\pm$ 1,25	25,50 $\pm$ 0,50*
	Д2	27,8 $\pm$ 0,25***	29,75 $\pm$ 0,25**	28,50 $\pm$ 0,29***
	Д3	29,0 $\pm$ 0,82***	27,5 $\pm$ 0,29*	29,50 $\pm$ 0,29***

Примітка: у цій та наступних таблицях * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$ — вірогідність різниць у птиці дослідних груп порівняно до контрольної

кількість антигеннезалежних В-лімфоцитів у крові бройлерів дослідних груп більша, ніж у контрольній групі ($P < 0,05-0,01$).

До того ж, як бачимо з даних таблиці 4, ці зміни були виражені більшою мірою у крові курчат другої і третьої дослідних груп. Результати цих досліджень вказують на більший вплив вітаміну С, а також разом з вітаміном Е на кількість ЕАС-РУЛ у крові курчат. Разом з тим в крові бройлерів усіх дослідних груп кількість недиференційованої популяції ЕАС-РУЛ була

менша, а низькоавідних – більша, ніж у контрольній групі ($P < 0,05-0,01$). Дослідженнями виявлено також тенденцію до зростання кількості ЕАС-РУЛ із середньою щільністю рецепторів у крові курчат дослідних груп, що свідчить про значний стимулюючий вплив вітамінів на функціональну активність рецепторного апарату В-лімфоцитів.

Загалом, на основі проведених досліджень можна визначати регуляторну роль вітамінів Е і С у функціонуванні Т- і В-клітинного імунітету у курчат-бройлерів. За дії досліджуваних

вітамінів (і особливо аскорбінової кислоти) констатовано збільшення кількості Т-лімфоцитів (загальних, активних, теофілін-резистентних) і В-лімфоцитів. Водночас виявлено вищу функціональну активність досліджуваних імунокомпетентних клітин за рахунок зміцнення рецепторного апарату Т- і В-лімфоцитів – збільшення кількості клітин із низькою і середньою ступінню авідності і зниження неактивних у функціональному відношенні Т- і В-лімфоцитів крові. Вказані зміни були виражені більшою мірою у крові курчат 27-добового віку за дії вітаміну С, а також комплексу *токоферол ацетату й аскорбінової кислоти*. *Такий стимулюючий вплив вітамінів Е і С на специфічну ланку клітинного імунітету курчат-бройлерів можна пояснити антиоксидантними та імуномодуючими властивостями досліджуваних вітамінів*. Відомо, що аскорбінова кислота є компонентом лейкоцитів, сприяє тканинному диханню, знижує ступінь гліколізу в організмі птиці та впливає на неспецифічну ланку імунітету, підвищуючи синтез макрофагальних протеїнів і макрофагів системи комплементу (Maslianko, 1999; Mudrak & Vishchur, 2011).

Токоферол — природний імуномодулятор, який стимулює гуморальний і клітинно-опосередкований імунітет. Він збільшує кількість лейкоцитів, Т- та В-лімфоцитів, підвищує бластну трансформацію лейкоцитів, продукцію ІЛ-2, активність кілерів і Т-хелперів, синтез антитіл до деяких антигенів, зменшує кількість Т-супресорів, інгібує ріст пухлин (Silonov et al., 2008). Також необхідно відзначити, що дефіцит вітаміну Е пригнічує імунну реактивність, а додавання його до раціону в дозах, більше ніж рекомендовані, підвищує гуморальний та клітинно-опосередкований імунітет (Vlizlo et al., 2015; Ionov, 1997; Fisinin & Suraj, 2013).

Вітамін Е діє на імунну систему через його антиоксидантну функцію шляхом зниження метаболітів активних форм кисню або через утворення метаболітів арахідонової кислоти. Токоферол підвищує рівень сумарних та індивідуальних лейкотрієнів і активність глутатіон-S-трансферази, що свідчить про його вплив на 5-ліпооксигеназний шлях метаболізму арахідонової кислоти й на кінцевий спектр лейкотрієнів (Silonov et al., 2008).

Водночас важливо зауважити, що як необмежена активація антиоксидантних реакцій може зашкодити важливим ефекторним реакціям імунітету (наприклад, фагоцитозу), так і надмірне накопичення вільних радикалів може згубно впливати на метаболічні процеси і клітини імунної системи. В цілому можна вважати експериментально доведеним, що відновлення фізіологічного балансу між цими двома процесами є ефективним інструментом імунореабілітації.

Висновки і перспективи

1. Додаткове введення до раціону курчат-бройлерів вітамінів Е і С виявляє стимулюючий вплив на кількість Т- і В-лімфоцитів і функціональну активність Т- і В-клітинної ланки імунітету.
2. За дії комплексу вітамінів констатовано більшу кількість Т-лімфоцитів (загальних, активних, теофілін-резистентних) і В-лімфоцитів ($P < 0,05-0,001$). Водночас виявлено вищу функціональну активність досліджуваних імунокомпетентних клітин за рахунок зміцнення рецепторного апарату Т- і В-лімфоцитів – збільшення кількості клітин із низькою і середньою ступінню авідності і зниження неак-

тивних у функціональному відношенні Т- і В-лімфоцитів крові ($P < 0,05-0,001$). Вказані зміни були виражені більшою мірою у крові курчат 27-добового віку за дії вітаміну С, а також комплексу *токоферол ацетату й аскорбінової кислоти*.

У перспективі подальших досліджень, враховуючи єдність пластичного матеріалу організму для функціонування механізмів природного й адаптивного імунного захисту, доцільно з'ясувати вплив вітамінів Е і С на показники неспецифічної резистентності організму курчат-бройлерів.

References

- Vlizlo, V. V., Kurtiak, B. M., Vudmaska, I. V., Vishchur, O. I., Petruk, A. P. (2015). Zhyrorozchynny vitamins u veterynarnii medytsyni ta tvarynnytstvi [Fat-soluble vitamins in veterinary medicine and animal husbandry] 2-he vyd., dop. Lviv: Spolom, 226–227. (in Ukrainian)
- Voronin, E. S., Petrov, A. M., Seryh, M. M., Dervishov, D. A. (2002). Immunologija [Immunology]. Pod red. E.S. Voronina. M.: Kolos-Press, 408 (in Russian)
- Ionov, I. A. (1997). Vitaminy E i S kak komponenty antioksidantnoj sistemy jembrionov ptic i mlekopitajushhih [Vitamins E and C as components of the antioxidant system of bird and mammalian embryos]. Ukr. biohim. zhurn., 69(5–6): 3–11. (in Russian)
- Lemesheva, M. M. (2003). Hodivlia silskohospodarskoi pytysi. Sumy [Feeding farm animals and poultry], 152. (in Ukrainian)
- Maslianko, R. P. (1999). Osnovy imunolohii [Fundamentals of immunology]. Lviv: Veritykal, 427. (in Ukrainian)
- Mudrak, D. I., Vishchur, O. I. (2011). Killist T- i V-limfotsytiv ta yikh funktsionalna aktyvnist u krovі husei za riznogo rivnia vitaminiv E i S u ratsioni [The number of T and B lymphocytes and their functional activist in the blood of geese at different levels of vitamins E and C in the diet]. Biolohiia tvaryn, 13(1-2):427–430. (in Ukrainian)
- Mudrak, D. I., Vishchur, O. I., Broda, N. A. et al. (2012). State T- and B-cell immunity in parts of turkeys and geese for various levels of vitamin E the diet [Stat'y T- end B-tsel' immuniti in part-s of turke and geese for varius levels of vitamin E tkhe diyet]. The Animal Biology, 14(1–2):535–539. (in Ukrainian)
- Osobenosti immunnoj sistemy u pticy [internet resurs]. Rezhym dostupu: www.vetom.ru/content/view/515/427/1/13. (in Russian)
- Rojt, A., Brostoff, D., Miel, D. (2000). Immunologija [Immunology]. Per. s angl. M.: Mir, 592. (in Russian)
- Silonov, S. B., Donchenko, H. V., Morozova, R. P. (2008). Osoblyvosti obminu leikotrieniv v orhanizmi shchuriv za umov E-hipovitaminozu [Features of leicotriene metabolism in rats under conditions of E-hypovitaminosis]. Ukrainskyi biokhimichniy zhurnal, 80(1):26–32. (in Ukrainian)
- Fisinin, V., Suraj, P. (2013). Immunitet v sovremenom zhivotnovodstve i pticevodstve: ot teorii k praktike immunomoduljacii. Pticevodstvo [Immunity in modern animal husbandry and poultry farming: here the theory to the practice of immunomodulation. Poultry farming], 5:4–10. (in Russian)
- Haitov, R. M., Ignat'eva, G. A., Sidorovich, I. G. (2000). Immunologija [Immunology]. M.: Medicina, 432. (in Russian)
- Bartha, J. L., Comino-Delgado, R. (2000). Lymphocyte subpopulation after normal pregnancy and spontaneous abortion in primigravidas. J. Repr. Med. Obstet. Gynec., 45:567–572.
- Colombo, M. L. (2010). An update on vitamin E, tocopherol and tocotrienol-perspectives. Molecules, 15(4): 2103–2113.
- Gisela, F. (1997). Err Immune system function and development in broilers. Center of Excellence for Poultry Science University of Arkansas. Fayetteville, 102–123.
- King, A., Burrows, T., Verna, S. (1998). Human uterine lymphocytes. Human Repr. Update., 4:480–485.

- Maxrygimas, G., Plachoural, V., Higneras, M. et al. (1993). Maternal peripheral blood lymphocyte subpopulations in normal and pathological pregnancies. *Fetal Diagn. Ther.*, 17(9):371–378.
- Medina, R. J., Smithson, G., Kincade, R. W. (1993). Suppression of B lymphocyte during normal pregnancy. *J. Exp. Med.*, 178: 1507–1515.
- Thoman, M. L. (1995). The pattern of T-lymphocyte differentiation is altered during thymic involution. *Mech. Ageing Dev.*, 82:155–170.
- Khariv, M., Gutty, B., Ohorodnyk, N., Vishchur, O., Khariv, I., Solovodzhinska, I., Mudrak, D., Grymak, C., Bodnar, P. (2017). Activity of the T- and B-system of the cell immunity of animals under conditions of oxidation stress and effects of the liposomal drug. *Ukrainian Journal of Ecology*, 7(4):536–541. doi: 10.15421/2017_157.
-

Romanovych L. V., Kurtyak B. M., Vishchur O. I. (2020). INFLUENCE OF VITAMINS E AND C ON THE QUANTITY AND FUNCTIONAL ACTIVITY OF T- AND B-LYMPHOCYTES OF BLOOD-CHICKEN BROILERS. *Ukrainian Journal of Veterinary Sciences*, 11(1): 59–69, <https://doi.org/10.31548/ujvs2020.01.007>

Abstract. Separate indices of T- and B-cell immunity of broiler chickens were investigated during the period of their growth with additional introduction of tocopherol acetate and ascorbic acid into their diet. The studies were conducted in one of the farms in the Lviv region on four groups of 100 broiler chickens each, ranging from 1- to 41 days of age. Chickens in the control group received a standard diet, the first experimental diet with the addition of tocopherol acetate, the second experimental - ascorbic acid, and the third - a complex of these vitamins. In whole blood, the relative number of T and B lymphocytes and their individual populations were determined in the reaction of spontaneous rosette formation with ram erythrocytes, differentiated calculation of rosette lymphocytes with different degree of functional activity was performed.

For research, blood was collected from broiler chickens after slaughter at different ages: 27-, 34-, and 41-day-olds. During the work, the bioethical requirements of the animals were complied with according to the current legislation.

Studies have shown that the additional introduction of chickens to their diet tocopherol acetate and ascorbic acid has a stimulating effect on the number of T and B lymphocytes and the functional activity of T and B cell units of immunity. This is evidenced by the higher number of T-lymphocytes (common, active, theophylline-resistant) and B-lymphocytes in the blood of broiler chickens, which were supplemented with vitamins E and C. T- and B-lymphocyte apparatus - an increase in the number of cells with low and medium degrees of aperture and a decrease in the inactive function of T- and B-lymphocytes in the blood. These changes were more pronounced in the blood of chickens at 27 days of age due to the action of vitamin C, as well as the complex of tocopherol acetate and ascorbic acid. Therefore, on the basis of the conducted researches it is possible to confirm a regulatory role of vitamins E and C in formation of a cellular link of specific immune response of chickens-broilers. The action of the investigated vitamins, and especially of ascorbic acid, revealed an increase in the number and increase in the functional activity of T- and B-lymphocytes of the blood. These changes are probably due to the antioxidant action of vitamins in providing metabolic homeostasis of membranes and the receptor apparatus of immunocompetent cells.

Key words: vitamins E and C, broiler chickens, specific immunity, T and B lymphocytes, functional activity of immunocompetent cells

Подано до друку 2 лютого 2020 року