تولیدات دامی

دوره ۱۵ ■ شماره ۱ ■ بهار و تابستان ۱۳۹۲

صفحه‌های ۵۳-۴۵

پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی تحت تنش سرمایی به ویتامین C و کوآنزیم Q_{10}

محمدحسین نعمتی[۱]*، محمدحسین شهیر[۲]، محمدطاهر هرکی‌نژاد[۳]، هوشنگ لطف‌الهیان[۴]

۱. دانشجوی دکتری علوم دامی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان – ایران
۲. دانشیار گروه علوم دامی، دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه زنجان، زنجان– ایران
۳. استادیار گروه علوم دامی و پژوهشکدهٔ فناوری‌های نوین زیستی دانشگاه زنجان، زنجان – ایران
۴. استادیار پژوهشی، مؤسسهٔ تحقیقات علوم دامی کشور، کرج – ایران

تاریخ وصول مقاله:۱۳۹۱/۰۴/۰۱ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۰۶/۲۷

چکیده

این آزمایش به‌منظور بررسی نقش آنتی‌اکسیدانی ویتامین C (VC) و کوآنزیم Q_{10} (CoQ_{10}) بر پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی تحت شرایط تنش سرمایی بااستفاده از تعداد ۵۰۰ قطعه جوجهٔ نر آرین در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار و پنج تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل گروه کنترل مثبت (PC، شرایط عادی پرورش، و بدون دریافت آنتی‌اکسیدان)، گروه کنترل منفی (NC، تنش سرمایی، و بدون دریافت آنتی‌اکسیدان)، تنش سرمایی به‌همراه تیمارهای حاوی VC (۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره)، CoQ_{10} (۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره)، و مخلوط VC+CoQ_{10} با دزهای ذکرشده در جیرهٔ پایه بود. برای اعمال تنش سرمایی، از ۱۵ تا ۴۲ روزگی، دمای سالن ۱۵ درجهٔ سانتی‌گراد ثابت نگه‌داشته‌شد. صفات تیتر واکسن‌ها، پاسخ ایمنی هومورال، ایمنی سلولی، و وزن نسبی اندام‌های ایمنی مطالعه شد. نتایج نشان داد که با وجود کاهش وزن نسبی طحال تحت تنش سرمایی، تفاوت‌ها معنی‌دار نبودند. پرندگانی که تحت تأثیر تنش سرمایی قرار گرفتند، وزن نسبی بورس بالاتری داشتند ($P<۰/۰۱$) و استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها به‌ویژه CoQ_{10} وزن نسبی آن‌ها را کاهش داد ($P<۰/۰۵$). درصد لنفوسیت‌ها درنتیجهٔ تنش سرمایی، کاهش یافت ($P<۰/۰۵$). بهبود پاسخ ایمنی سلولی هم در پاسخ به تزریق زیرجلدی فیتوهماگلوتینین و هم در تکثیر لنفوسیت‌های T در شرایط آزمایشگاهی مشاهده گردید ($P<۰/۰۵$). نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از مواد آنتی‌اکسیدانی VC و CoQ_{10} در شرایط تنش سرمایی باعث بهبود سیستم ایمنی و کاهش تلفات شد.

کلیدواژه‌ها: ایمنی سلولی، ایمنی هومورال، تنش سرمایی، جوجهٔ گوشتی، کوآنزیمQ_{10}، ویتامین C.

* نویسنده مسئول Email: MH_Nemati@yahoo.com

مقدمه

موجودات زنده برای مقاومت دربرابر تنش‌های اکسیداتیو نظیر تنش سرمایی، سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی ترکیبی دارند. این سیستم شامل بخش آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی (گلوتاتیون، پلی‌فنل‌ها، کارتنوئیدها، پلی‌آمین‌ها، ابی‌کینول، فلاونوئیدها، ویتامین E، ویتامین C، و کوآنزیم Q) و بخش آنتی‌اکسیدانی آنزیمی (کاتالاز، سوپر اکسید دسموتاز، و گلوتاتیون پراکسیداز) است (۵). بعضی از این آنتی‌اکسیدان‌ها را موجودات زنده سنتز می‌کنند، درحالی‌که بعضی دیگر باید ازطریق جیره تأمین شوند.

ویتامین C یا اسیداسکوربیک بیشترین نقش را در سیستم ایمنی ایفا می‌کند. این ویتامین در بالاترین غلظت در لوکوسیت‌ها یافت می‌شود و در زمان بروز عفونت به‌سرعت استفاده می‌شود. مطالعات انسانی و حیوانی نشان می‌دهد که مقدار نیاز به این ویتامین تحت شرایط بیماری‌های عفونی و سرطان به‌شدت افزایش می‌یابد (۱۸). ویتامین C در بدن طیور سنتز می‌شود، اما آن‌ها در شرایط تنش نظیر رشد سریع و تنش گرما و سرما، نمی‌توانند این ویتامین را به‌اندازهٔ کافی سنتز کنند (۲۵). درنتیجهٔ افزودن این ویتامین به جیره، لنفوسیت‌ها تکثیر می‌یابند. اسیداسکوربیک به‌عنوان آنتی‌اکسیدانی مهم برای حفاظت لیپیدهای پلاسما و غشای سلولی عمل می‌کند و می‌تواند اکسیدان‌های خارج سلولی ناشی از فعالیت فاگوسیتوزی را خنثی کند و از آسیب بافتی به‌خصوص در محل فعالیت‌های التهابی پیش‌گیری کند (۱۸).

کوآنزیم Q (۲ و ۳ ـدی‌متوکسی ۵ـمتیل ٦ـپلی‌ایزوپرن پارابنزکوئینون) در همهٔ غشاهای سلولی یافت می‌شود (۱۳). این ترکیب در بدن به دو شکل اکسیده‌شده (یوبی کوئینون) و احیا (یوبی کئینول) وجود دارد و چون در بدن سنتز می‌شود، مادهٔ مهمی به‌شمار نمی‌آید، ولی در تبدیل انرژی سلولی و تولید ATP در کل سلول‌ها نقش خاصی دارد. حلقهٔ کوئینون در کوآنزیم Q موجود در زنجیرهٔ تنفسی میتوکندریایی، وظیفهٔ دریافت و انتقال الکترون‌ها به اکسیژن را برعهده دارد (۱ و ۹). کوآنزیم Q به‌دلیل نقشی که در انتقال الکترون دارد خنثی‌کنندهٔ رادیکال‌های آزاد است، بنابراین، از آسیب‌های اکسیداتیو در بدن جلوگیری می‌کند. زنجیرهٔ تنفسی میتوکندریایی، منبع مهم تولید رادیکال‌های آزاد است که نقش مهمی در تخریب ساختار سلول دارد. وقتی CoQ_{10} به‌اندازهٔ کافی و در مکان صحیح خود در زنجیرهٔ تنفسی وجود داشته باشد، دقیقاً در محل تولید رادیکال‌های آزاد قرار می‌گیرد و با پاکسازی آن‌ها، از تخریب شدید ساختار سلول‌ها جلوگیری می‌کند (۱۱).

باتوجه به افزایش تولید رادیکال‌های آزاد تحت شرایط تنش سرمایی، و نقش و اهمیت ویتامین C و کوآنزیم Q_{10} در حذف این رادیکال‌ها، این پژوهش به‌منظور بررسی نقش این ترکیبات بر پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی تحت شرایط تنش سرمایی انجام شد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تأثیر آنتی‌اکسیدان‌های ویتامینی (ویتامین C (VC) و آنزیم Q_{10} (CoQ_{10}) بر پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی تحت شرایط تنش سرمایی، تعداد ۵۰۰ قطعه جوجهٔ گوشتی نر آرین (هیبرید تجاری مستعد آسیت) در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار، پنج تکرار، و تعداد ۲۰ قطعه جوجه در هر تکرار درنظر گرفته شد. گروه‌های آزمایشی شامل تیمار بدون تنش سرمایی (کنترل مثبت، PC، که در سالنی مجزا با شرایط یکسان تغذیه‌ای و مدیریتی با گروه‌های تنش سرمایی پرورش داده شدند)، گروه در معرض تنش سرمایی (کنترل منفی، NC)، گروه در معرض تنش سرمایی + ویتامین C (۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره)، گروه در معرض تنش سرمایی + ٤٠ میلی‌گرم در کیلوگرم کوانزیم Q_{10}، و گروه در معرض تنش

سرمایی + ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ویتامین C + ٤٠ میلی‌گرم در کیلوگرم کوانزیم Q_{10} بود ($NC+C+Q_{10}$). جیره‌ها آزمایشی براساس احتیاجات موجود در کاتالوگ سویهٔ آرین در سه مرحلهٔ آغازین (١٤-٠ روزگی)، رشد (٢٨-١٤ روزگی)، و پایانی (٤٢-٢٨ روزگی) تنظیم گردید و ویتامین‌های لازم به‌صورت سرک به جیره‌ها افزوده شدند. مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها در جیره‌های آزمایشی از روز دهم دورهٔ پرورش آغاز شد. برای ایجاد تنش سرمایی، از روز ١٥ دورهٔ پرورش، دمای محیط پرورش تیمارهای تحت تنش سرمایی به‌تدریج تا روز ٢١ به ١٥ درجهٔ سانتی‌گراد کاهش یافت و این دما تا پایان آزمایش (٤٢ روزگی) حفظ گردید. تیمار کنترل مثبت تحت شرایط دمایی توصیه‌شده، پرورش داده شد. رطوبت سالن پرورشی ٥٠ تا ٦٠ درصد و برنامهٔ نوری ٢٣ ساعت روشنایی و یک ساعت خاموشی بود. واکسیناسیون جوجه‌ها دربرابر بیماری‌های برونشیت، نیوکاسل، آنفلونزا، و گامبرو به‌ترتیب در روزهای ١، ٩، ٩ و ١٤ انجام شد و سپس به‌منظور مطالعهٔ تیتر واکسن‌های چهارگانه در روز ٢٥ خون‌گیری انجام شد. تیتر آنتی‌بادی علیه آنتی‌ژن ویروس بیماری آنفلوآنزا و نیوکاسل به‌روش HI[1] (٣٣) و تیتر آنتی‌بادی درمقابل آنتی‌ژن ویروس بیماری برونشیت و گامبرو به‌روش الایزا و بااستفاده از کیت IDEX, USA انجام شد. همچنین برای سنجش میزان پاسخ اولیهٔ تیتر آنتی‌بادی به تزریق گلبول‌های قرمز گوسفندی (SRBC)[2]، در روز ٢٥ دورهٔ پرورش تعداد دو پرنده از هر تکرار مشخص و مقدار ٠/٨ میلی‌لیتر SRBC ١٠ درصد از طریق ورید بال ترزریق گردید. هفتهٔ بعد از تزریق خون‌گیری انجام گرفت و میزان تیتر آنتی‌بادی سرم سنجیده شد (١٦).

هنگام قرائت نمونه‌ها، لگاریتم درمبنای رقت هماگلوتیناسیون در دو عکس آخر به عیار پادتنی ثبت گردید.

در ٣٨ روزگی، دو پرنده از هر تکرار مشخص و بعد از اندازه‌گیری ضخامت پردهٔ بین انگشتان هر دو پا، ١٠٠ میکروگرم فیتوهماگلوتنین (PHA-P) (حل‌شده در ٠/١ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی) بین پردهٔ پای انگشتان راست پرنده تزریق شد. همچنین مقدار ١٠٠ میکرولیتر سرم فیزیولوژی به‌عنوان گروه شاهد به پای چپ پرنده تزریق گردید. ضخامت پردهٔ بین انگشتان بعد از ٣٦ ساعت تزریق بااستفاده از میکرومتر مدرج (کولیس) با دقت ٠/٠١ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. پاسخ CBH به‌صورت اختلاف بین ضخامت پردهٔ بین انگشتان در قبل و بعد از تزریق، برحسب میلی‌متر بیان شد (٣).

پاسخ ایمنی سلولی بااستفاده از تکثیر لنفوسیت‌ها در شرایط آزمایشگاهی ارزیابی شد (٣٣). درپایان آزمایش دو پرنده از هر تکرار کشته و نمونه‌های طحال و بورس در زیر هود لامینار برداشت شدند و لنفوسیت‌های طحال برای پاسخ تکثیری به کانکاناوالین A (Con A) آزمایش شد. به‌طور خلاصه، پس از جداسازی طحال‌ها در زیر هود لامینار و جداسازی لایهٔ خارجی، با عبور از فیلتر، خرد، و به داخل پنج میلی‌لیتر محیط کشت RPMI-1640 در فالکون ١٥ میلی‌لیتری ریخته شدند. سپس سوسپانسیون با ملایمت به Ficoll-Hypaque اضافه شد. بعد از ١٥ دقیقه سانتریفوژ در g × ١٥٠ لایهٔ سفید میانی (لنفوسیت‌ها) برداشته شد و دو بار با محیط کشت RPMI-1640 (حاوی پنی‌سیلین و استرپتومایسین) شسته شد. پس از مخلوط‌کردن، رسوب ایجادشده در محیط کشت بااستفاده از تریپان

1. Hemagglutination Inhibition Assay
2. Sheep Red Blood Cell

بلـو ارزیـابی شـد و غلظـت در پـنج میلیـون سـلول در هـر میلی‌لیتر تنظیم گردید. از هـر نمونـه ۱۸۰ میکرولیتـر بـه هـر چاهک پلیت ۹٦ خانـه اضـافه شـد. سـپس ۲۰ میکرولیتـر از Con A بـا غلظـت ۲/۵ میکروگـرم در میلـی‌لیتـر بـه هـر چاهک اضافه شـد. از هـر نمونـه در سـه چاهـک بـا زمینـهٔ شـاهد اسـتفاده شـد. بعـد از ٤٤ سـاعت کـشت در دمـای ۳۹/۵ درجـه در محـیط مرطـوب بـا پـنج درصـد CO_2 (Technologies Inc., Asheville, NC Revco)، تکثیـر سـلولی بـه‌وسـیلهٔ 3(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide (Sigma Chemical Co.) ارزیابی شد. به‌طـور خلاصـه، چهـار سـاعت قبـل از ارزیـابی تکثیـر سـلولی، ۲۰ میکرولیتـر از 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide (5μg/mL) بـه هـر یـک از چاهـک‌هـا افـزوده شـد. سـپس محلـول رویـی (سـوپرناتانت) بـه‌دقـت جـدا شد و به هـریـک از چاهـک‌هـا مقـدار ۱۰۰ میکرولیتـر از dimethyl sulfoxide (Zhengxing Institute of Chemical Engineering, Suzhou, Jiangsu, Japan) اضـافه گردیـد. بـرای حـل‌شـدن کامـل کریـستال‌هـا، پلت‌ها برای پـنج دقیقـه تکـان داده شـدند. جـذب نـوری سـلول در طـول مـوج ۵۷۰ نـانومتر در هـریـک از چاهـک‌هـا بـا میکروپلـت ریـدر قرائـت گردیـد (model 550, Bio-Rad,Tokyo, Japan).

درپایان دورهٔ پـرورش، دو قطعـه پرنـده از هـر تکـرار متناسـب بـا میـانگین وزنـی تکـرار انتخـاب و بـرای بررسی صـفات لاشـهٔ کـشتار گردیـد. آزمـایش حاضـر در قالـب طـرح کـاملاً تـصادفی تجزیـه، و تحلیـل آمـاری داده‌هـا بااسـتفاده از رویـهٔ GLM نـرم‌افـزار SAS انجـام گرفـت و بـرای مقایـسهٔ میـانگین‌هـا از آزمـون چنددامنه‌ای دانکن استفاده شد (۲۷).

نتایج و بحث

تأثیر افزودن ویتامین C و کوآنزیم Q_{10} بر وزن نسبی بـورس، طحال، و سلول‌های ایمنی جوجه‌هـای گوشـتی در جـدول ۱ آمده است. تنش سرمایی باعث کـاهش وزن نـسبی طحـال و افزایش معنی‌دار وزن نسبی بورس شد (P<۰/۰۱). اسـتفاده از CoQ_{10} تحت شـرایط تـنش سـرمایی وزن نـسبی بـورس را کاهش داد (P<۰/۰۵). تحقیقـات اخیـر نـشان مـی‌دهنـد کـه سلول‌های بورس برای مواد مغذی نظیر گلوکز، ایزولوسین، و لیزین اولویت دارند. درضمن، هنگام مواجـه‌شـدن بـا تـنش، سلول‌های بورس توانایی خود را برای به‌دست‌آوردن گلوکز و لیزین بالا می‌برند. بزرگ‌شـدن بـورس تحـت شـرایط تـنش احتمالاً ناشی از اولویت این بافت در تأمین مواد مغذی اسـت (۱۹). افزایش وزن نسبی بـورس و طحـال درنتیجـهٔ مـصرف ویتامین C مشاهده شده است (۲). بر اسـاس نتـایج آزمـایش حاضر، اسـتفاده از کـوآنزیم Q_{10} بـه‌میـزان ٤۰ میلـی‌گـرم در کیلوگرم در جیرهٔ جوجه‌هـای گوشـتی تحـت شـرایط تـنش سرمایی به افزایش وزن نسبی طحال می‌انجامد (۱۳).

تعداد هتروفیل‌هـا و نـسبت هتروفیـل بـه لنفوسـیت و کاهش نسبی در تعداد لنفوسیت‌ها (P<۰/۰۵) در پرنـدگانی که تحت تأثیر تنش سرمایی قـرار گرفتنـد، افـزایش یافـت (جـدول ۱). افـزایش نـسبت هتروفیـل و کـاهش نـسبت هتروفیـل بـه لنفوسـیت در طـول دورهٔ تـنش سـرمایی را تعدادی از محققان گزارش کرده‌انـد (٦، ١٤ و ۳۳). تحـت شرایط تنش سرمایی میزان تولیـد کورتیکواسـترون از غـدهٔ فوق کلیوی افزایش می‌یابد و مشخص شده است که رابطهٔ منفی بین سطح کورتیکواسترون پلاسما و تکثیـر لنفوسـیتی وجـود دارد (١٤). در شـرایط عـادی پـرورش، افـزودن آنتی‌اکسیدان بـه جیـره، از تعـداد هتروفیـل مـی‌کاهـد (۸). افزودن آنتی‌اکسیدان‌ها با کاهش تنش اکسیداتیو ایجادشـده از افزایش هتروفیل‌ها، به‌عنوان سلول‌های فاگوسـیت‌کننـدهٔ قـوی کـه غلظـت آن‌هـا در فراینـدهای التهـابی، تـنش، و عفونت‌ها افزایش می‌یابد، جلوگیری می‌کند (۲۹).

جدول ۱. تأثیر ویتامین C و کوانزیم Q_{10} بر میانگین وزن نسبی اندام‌ها و تعداد سلول‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی تحت شرایط تنش سرمایی

صفات مطالعه‌شده	تیمارهای آزمایشی						
	PC	NC	NC + VC	NC+ Q_{10}	NC + VC + Q_{10}	SEM	P-Value
اندام‌های ایمنی							
طحال	۰/۱۴۲ ± ۰/۰۱۵	۰/۱۱۹ ± ۰/۰۱۱	۰/۱۶۵ ± ۰/۰۱۵	۰/۱۲۹ ± ۰/۰۱۲	۰/۱۴۰ ± ۰/۰۱۵	۰/۰۱۴	۰/۱۹
بورس	۰/۱۲۰^{c} ± ۰/۰۰۸	۰/۲۲۱^{a} ± ۰/۰۱۶	۰/۲۲۸^{a} ± ۰/۰۱۸	۰/۱۷۹^{b} ± ۰/۰۱۲	۰/۱۹۲^{ab} ± ۰/۰۱۲	۰/۰۱۳	< ۰/۰۱
گلبول‌های سفید							
تعداد کل گلبول‌های سفید (در هر میلی‌لیتر)	۲۷۹۲۰ ± ۱۴۴۶	۲۸۴۸۰ ± ۱۰۷۶	۲۷۶۶۰ ± ۱۰۴۵	۲۸۴۸۰ ± ۱۵۶۲	۲۸۵۰۰ ± ۱۰۴۳	۱۲۵۵	۰/۹۸
درصد هتروفیل	۲۶/۸۰ ± ۰/۸۶	۲۹/۰۰ ± ۱/۴۱	۳۰/۲۵ ± ۰/۸۵	۲۷/۶۰ ± ۱/۹۱	۲۹/۰۰ ± ۱/۲۶	۱/۳۷	۰/۴۵
درصد لنفوسیت	۷۱/۲۰^{a} ± ۰/۹۷	۶۷/۵۰^{ab} ± ۰/۶۵	۶۶/۴^{b} ± ۱/۲۹	۶۸/۰۰^{ab} ± ۱/۷۶	۶۸/۲۵^{ab} ± ۱/۳۱	۱/۳۱	۰/۰۳
هتروفیل/ لنفوسیت	۰/۳۷۷ ± ۰/۰۲۳	۰/۴۳۰ ± ۰/۰۲۳	۰/۴۴۸ ± ۰/۰۱۷	۰/۴۲۵ ± ۰/۰۴۰	۰/۴۳۷ ± ۰/۰۲۷	۰/۰۳	۰/۵۰

حروف غیرمشابه در هر ردیف مفهوم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد است.

تیمارهای آزمایشی شامل PC کنترل مثبت (بدون تنش سرمایی)، NC تیمار کنترل منفی (تنش سرمایی بدون دریافت آنتی‌اکسیدان)، NC+VC(300mg/kg)، NC+Q_{10}(40mg/kg)، و NC+VC (300mg/kg) +Q_{10} (40mg/kg)

اثر تیمارهای آزمایشی بر تیتر واکسن‌ها علیه ویروس‌های آنفلوآنزا، نیوکاسل، برونشیت، گامبورو، و همچنین آنتی‌بادی کل، IgG و IgM معنی‌دار نبود که با نتایج دیگر تحقیقات مطابقت دارد (جدول ۲) (۲ و ۲۶). سطوح بالای ویتامین C در جیره (۸۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) به افزایش تیتر واکسن نیوکاسل می‌انجامد که دلیل آن را افزایش اندازهٔ لوبول‌های درون بورس فابرسیوس و کاهش سطح کورتیکوسترون‌های پلاسما و گردش بهتر آنتی‌بادی دانسته‌اند (۲ و ۳۲). استفاده از کوآنزیم Q_{10} تأثیر معنی‌داری بر این تیترها ندارد که نتایج تحقیق حاضر را تأیید می‌کند (۱). پاسخ تکثیر لنفوسیت‌ها در حضور میتوژن به‌عنوان روشی مناسب برای میزان تکثیر لنفوسیت‌ها و بررسی پاسخ‌های وابسته به ایمنی سلولی و لنفوسیت‌های T ارزیابی می‌شود. تنش سرمایی سبب کاهش پاسخ حساسیت بازوفیلی جلدی (CBH) و کاهش تکثیر لنفوسیت‌های T (P<۰/۰۱) در مقایسه با گروه کنترل مثبت شد (۲). افزودن ویتامین C و کوانزیم Q_{10} به جیرهٔ پرندگانی که تحت تنش سرمایی بودند پاسخ ایمنی سلولی را بهبود داد (P<۰/۰۱). در شرایط معمول پرورش، افزودن کوآنزیم Q_{10} باعث کاهش تکثیر لنفوسیت‌های T در پاسخ به کانکاناوالین A می‌شود (۱۲). نیاز جوجه‌ها به کوآنزیم Q_{10} تحت شرایط تنش سرمایی زیاد است و افزودن آن به جیره می‌تواند ظرفیت دفاعی بدن را افزایش دهد و سبب کاهش بروز ناهنجاری‌هایی نظیر آسیت شود (۱۲). بهبود پاسخ ایمنی و افزایش شاخص تحریک با میتوژن ConA درنتیجهٔ استفاده از ویتامین C مشاهده شده است که نتایج تحقیق حاضر را تأیید می‌کند (۲).

جدول ۲. تأثیر استفاده از ویتامین C و کوانزیم Q_{10} در جیره بر سیستم ایمنی هومورال و ایمنی سلولی جوجه‌های گوشتی تحت شرایط تنش سرمایی

صفات مطالعه‌شده	تیمارهای آزمایشی						
	PC	NC	NC + VC	NC + Q_{10}	NC + VC + Q_{10}	SEM	P-Value
ایمنی هومورال (تیتر واکسن‌ها)							
آنفلوانزا	۳/۴۰ ± ۰/۴۰	۳/۲۰ ± ۰/۵۸	۳/۴۰ ± ۰/۲۴	۳/۶۰ ± ۰/۶۰	۲/۸۰ ± ۰/۳۷	۰/۴۶	۰/۷۸
نیوکاسل	۵/۲۰ ± ۰/۳۷	۵/۰۰ ± ۰/۷۰	۵/۶۰ ± ۰/۲۴	۵/۲۰ ± ۰/۲۰	۵/۲۰ ± ۰/۸۰	۰/۵۲	۰/۹۴
برونشیت	۲۷۸۵ ± ۷۷۳	۲۰۵۷ ± ۶۹۵	۳۶۲۸ ± ۹۹۵	۳۱۵۸ ± ۳۳۲	۲۷۴۴ ± ۸۱۸	۷۶۳	۰/۹۳
گامبرو	۳۵۹/۴ ± ۱۰۰	۳۳۲/۸ ± ۸۳	۴۰۹/۸ ± ۱۵۱	۳۱۶/۶ ± ۸۰	۴۴۷/۳ ± ۶۸	۹۶/۱۷	۰/۸۶
آنتی‌بادی							
کل	۵/۱۴ ± ۰/۳۳	۳/۵۵ ± ۰/۷۰	۴/۱۱ ± ۰/۴۸	۴/۱۴ ± ۰/۵۵	۳/۷۵ ± ۰/۴۹	۰/۵۱	۰/۲۶
IgM	۲/۸۶ ± ۰/۴۰	۱/۲۲ ± ۰/۸۸	۲/۲۲ ± ۰/۲۸	۱/۸۶ ± ۰/۵۱	۲/۱۲ ± ۰/۴۴	۰/۵۱	۰/۲۶
IgG	۱/۹۰ ± ۰/۴۷	۲/۳۳ ± ۰/۳۵	۱/۸۹ ± ۰/۵۶	۲/۰۰ ± ۰/۵۰	۱/۶۲ ± ۰/۲۶	۰/۴۵	۰/۸۷
ایمنی سلولی							
CBH	۱/۱۱^{a} ± ۰/۱۱	۰/۶۶ ^{b} ± ۰/۱۲	۱/۰۹^{a} ± ۰/۱۵	۱/۰۹^{a} ± ۰/۰۹	۱/۳۱^{a} ± ۰/۱۷	۰/۱۳	۰/۰۱۹
تکثیر لنفوسیت‌های T	۰/۳۴۹^{ab} ± ۰/۰۳	۰/۲۲۴^{c} ± ۰/۰۳	۰/۳۶۶^{a} ± ۰/۰۱	۰/۳۳۹^{ab} ± ۰/۰۳	۰/۲۹۱^{bc} ± ۰/۰۲	۰/۰۲۳	۰/۰۰۲
تلفات (درصد)	۱۲/۶۲^{b} ± ۱/۳۰	۲۰/۰۲^{a} ± ۱/۹۶	۱۳/۶۸^{b} ± ۱/۳۰	۱۱/۵۶^{b} ± ۱/۰۶	۱۸/۹۶^{a} ± ۲/۱۰	۱/۶۰	<۰ /۰۱

حروف غیرمشابه در هر ردیف به‌مفهوم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد است.

تیمارهای آزمایشی شامل PC کنترل مثبت (بدون تنش سرمایی)، NC تیمار کنترل منفی (تنش سرمایی بدون دریافت آنتی‌اکسیدان)، NC+VC(300mg/kg)، NC+Q_{10}(40mg/kg)، و NC+VC (300mg/kg) +Q_{10} (40mg/kg)

برای تیتر آنتی‌بادی در هنگام قرائت نمونه‌ها، لگاریتم درمبنای دو عکس آخر رقتی که در آن هماگلوتیناسیون دیده می‌شود، به عیار پادتنی ثبت گردید.

SRBC (Sheep Red Blood Cell): پاسخ هومورال به گلبول قرمز گوسفندی

CBH (Coetaneous Basophile Hypersensivity response): پاسخ حساسیت بازوفیلی جلدی

دربارهٔ اثر تنش سرمایی بر پاسخ ایمنی هومورال و سلولی در جوجه‌های گوشتی و سایر پرندگان گزارشات متناقضی وجود دارد. در برخی از گزارش‌ها کاهش پاسخ تیتر آنتی‌بادی و اکثراً افزایش پاسخ آنتی‌بادی ناشی از تنش سرمایی را گزارش کرده‌اند (۱۵، ۱۷، ۲۸ و ۳۱). تفاوت در نتایج مشاهده‌شده ناشی از نوع تنش، مدت تنش، مرحلهٔ زمانی اندازه‌گیری پارامترهای ایمنی، متفاوت‌بودن اجزای سیستم ایمنی اندازه‌گیری‌شده، و پیش‌زمینهٔ ژنتیکی حیوانات آزمایشگاهی استفاده‌شده، است. گزارش شده است که تنش سرمایی طولانی مدت همیشه ایمنی سلولی را افزایش نمی‌دهد، ولی ایمنی هومورال را تحت تأثیر قرار می‌دهد. اثر تنش سرمایی بر سیستم ایمنی، بیشتر تحت تأثیر مرحلهٔ زمانی پس از تنش است، نه شدت و مدت تنش که پارامترهای ایمنی اندازه‌گیری می‌شوند (۱۵).

تاکنون تحقیقات کمی در زمینهٔ تأثیر تنش سرمایی بر ایمنی سلولی انجام شده است، ولی ثابت شده است که تنش گرمایی در جوجه‌ها به کاهش معنی‌دار تکثیر لنفوسیت‌های T می‌انجامد (٤). تنش گرمایی موجب

پراکسیداسیون غشای سلولی می‌شود و تنش اکسیداتیو ناشی از تنش گرمایی از تکثیر آزمایشگاهی لنفوسیت‌های T ممانعت می‌کند (۲۳). همچنین تنش گرمایی سطح کورتیکوستروئیدهای پلاسما را افزایش می‌دهد (۲۲). در شرایط آزمایشگاهی کورتیکوسترون‌ها مانع از تکثیر لنفوسیت‌های T می‌شوند (۳۰). به‌طورکلی، در جوجه‌های تحت تنش گرمایی، تکثیر لنفوسیت‌های T محدود شده است و افزودن ملاتونین به جیره، موجب افزایش معنی‌دار در تکثیر لنفوسیت‌ها نشده است، ولی سبب کاهش سطح کورتیکوسترون‌ها تا حد شاهد گردید. کورتیکوسترون‌ها موجب مرگ ناگهانی سلول‌های T می‌شوند (۲۰).

میزان تلفات در تیمار کنترل منفی تفاوت معنی‌دار با دیگر گروه‌ها داشت و استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها به‌خصوص کوآنزیم Q_{10} مرگ‌ومیر ناشی از این سندرم را کاهش داد (جدول ۲). در برخی تحقیقات درصد تلفات کل و ناشی از آسیت در پرندگان تحت تنش سرمایی بالاتر از دمای معمول پرورش گزارش شده است (۷ و ۲۱). کاهش تلفات ناشی از آسیت درنتیجهٔ استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی را تعدادی از پژوهشگران گزارش کرده‌اند (۱۰ و ۲٤).

به‌طورکلی، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌هایی نظیر ویتامین C و کوآنزیم Q_{10} تحت شرایط تنش سرمایی، وزن نسبی طحال و سیستم ایمنی با واسطهٔ سلولی را بهبود بخشید و درصد تلفات را کاهش داد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از مسئولان محترم مؤسسهٔ تحقیقات علوم دامی کشور قدردانی می‌گردد.

منابع

۱. فرهنگ‌فر، ب؛ حسینی، س.ع؛ زارعی، ا؛ و لطف‌الهیان، ه؛ (۱۳۹۱). «تأثیر محدودیت غذایی و کوانزیم Q_{10} بر توان ایمنی و شیوع آسیت در جوجه‌های گوشتی». *پژوهش‌های تولیدات دامی*. ۳(۵): ۷۷-۹۳.

۲. نامقی، ع.ح؛ نصیری‌مقدم، ح؛ توکل‌افشاری، ج؛ کرمانشاهی، ح؛ (۱۳۸۷). «بررسی تأثیر مکمل ویتامین C بر عملکرد و پاسخ‌های ایمنولوژیک جوجه‌های گوشتی». *علوم دامی ایران*. ۳۹(۱): ۱-۱۰.

3. Ahmed O, Ahmed A, Gehad E, Gilbert L, Hendricks HBA and Magdi Mashaly M (2007) The Effect of Lighting Program and Melatonin on the Alleviation of the Negative Impact of Heat Stress on the Immune Response in Broiler Chickens. Poultry Science. 6(9): 651-660.

4. Atta AM, El-Tantawy SMT, Osman A and El-Far AA (1996) Suppression of cellular immune response of chickens following in vivo and in vitro heat stress. Egyptian Journal of Animal Production. 33: 71-77.

5. Benzie IFF (2003) Evolution of dietary antioxidants. Comparative Biochemistry and Physiology. Part A. 136: 113-126.

6. Campo JL, Prieto MT and Da´vila SG (2008) Effects of housing system and cold stress on heterophil-to-lymphocyte ratio, fluctuating asymmetry, and tonic immobility duration of chickens. Poultry Science. 87: 621-626.

7. Daneshyar M, Kermanshahi H and Golian A (2009) Changes of biochemical parameters and enzyme activities in broiler chickens with cold-induced ascites. Poultry Science. 88: 106-110.

8. Devaraj S, Li D and Jialal I (1996) The effects of alpha tocopherol supplementation on monocyte function. Decreased lipid oxidation,

interleukin 1 beta secretion, and monocyte adhesion to endothelium. Clinical Investigation. 98: 756-763.

9. Ernster L and Dallner G (1995) Biochemical, physiological and medical aspects of ubiquinone function. Biochimistry Biophysic Acta. 1271: 195-204.

10. Fathi M, Nazer Adl K, Ebrahim Nezhad Y, Aghdam Shahryar H and Daneshyar M (2011) The effects of vitamin E and L-Arginine supplemention on antioxidant status and biochemical indices of broiler chickens with pulmonary hypertention syndrom. Poultry Science. 4(3): 33-40.

11. Folkers K, Littarru GP and Yamagami T (1991) Biomedical and Clinical Aspects of Coenzyme Q. Elsevier, Amsterdam. 6: 409-415.

12. Geng A, Baoming L and Yuming G (2007) Effects of dietary L-carnitine and coenzyme Q_{10} at different supplemental ages on growth performance and some immune response in ascites-susceptible broilers. Archives of Animal Nutrition 61(1): 50-60.

13. Geng AL, Guo YM and Yang Y (2004) Reduction of Ascites mortality in broilers by coenzyme Q_{10}. Poultry Science. 83: 1587-1593.

14. Hangalapura BN, Nieuwland MGB, Buyse J, Kemp B and Parmentier HK (2004) Effect of duration of cold stress on plasma adrenal and thyroid hormone levels and immune responses in chicken lines divergently selected for antibody responses. Poultry Science. 83: 1644-1649.

15. Hangalaputa BN, Nieuwland MGB, De Vires Reilingh G, Heetkamp MJW, Van den Brand H, Kemp B and Parmentier HK (2003) Effect of cold stress on immune responses and body weight of chicken's lines divergently selected for antibody responses to sheep red blood cells. Poultry Science. 82: 1315-1320.

16. Hay L and Hudson FC (1989) Practical immunology. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

17. Hester PY, Muir WM and Craig JV (1996) Group selection for adaptation to multiple-hen cages: Humoral immune response. Poultry Science. 75: 1315-1320.

18. Hughes DA (1999) Effects of dietary antioxidants on the immune function of middle-aged adults. Proceedings of the Nutrition Society. 58: 79-84.

19. Humphrey BD, Stephensen CB, Calvert CC and Klasing KC (2006) Lysine deficiency and feed restriction independently alter cationic amino acid transporter expression in chickens (Gallus gallus domesticus). Comparative Biochemistry and Physiology, Part A, 143(2): 218-27.

20. Kirsch AH, Mahmood AA, Enders J, Bohra L, Bonish B, Weber K and Fox DA (1999) Apoptosis of human T-cells: Induction by glucocorticoids or surface receptor ligation in vitro and ex vivo. Biological chemistry. 13: 80-89.

21. Mendes AA, Watkins SE, England JA, Saleh EA, Waldroup AL and Waldroup PW (1997) Influence of dietary lysine levels and arginine:lysine ratios on performance of broilers exposed to heat or cold stress during the period of three to six weeks of age. Poultry Science. 76: 472-481.

22. Nathan DB, Heller ED and Perek M (1976) The

effect of short heat stress upon leucocyte count, plasma corticosterone level, plasma and leucocyte ascorbic acid content. British Poultry Science. 17: 481-485.

23. Pahlavani MA and Harris MD (1998) Effect of in vitro generation of oxygen free radicals on T cell function in young and old rats. Free Radical Biology Medicine. 25: 903-913.

24. Rajani J, Karimi Torshizi MA and Rahimi S (2011) Control of ascites mortality and improved performance and meat shelf-life in broilers using feed adjuncts with presumed antioxidant activity. Animal Feed Science and Technology. 170: 239-245

25. Ruiz-Feria CA (2009) Concent supplementation of arginine, vitamin E, and vitamin C improve cardiopulmonary performance in broilers chickens. Poultry Science. 88: 526-535.

26. Santin E, Maiorka A, Polveiro WJC, Paulillo AC, Laurenztiz AC, Borges SA and Fischer da Silva AV (2003) Effect of enviromental temperature on immune response of broilers. Applied Poultry Research. 12: 247-250.

27. SAS (2002-2003). SAS/STAT Software: change and enhancement through release 9.1 SAS Instit. Inc., Cary, USA.

28. Subba Rao DSV and Glick B (1977) Effects of cold exposure on the immune response of chickens. Poultry Science. 56: 992-996.

29. Sural PF (2002) Selenium in poultry nutrition 1. Antioxidant properties, deficiency and toxicity. World's Poultry Science Journal. 58: 333-347.

30. Trout JM and Mashaly MM (1995) Effects of in vitro corticosterone on chicken T- and B-lymphocyte proliferation. British Poultry Science. 36: 813-820.

31. Van Loon DPR, Hangalapura BN, Nieuwland MGB, de Vries Reilingh G, Kemp B and Parmentier HK (2004) Effect of three different housing systems on immune responses and body weight of chicken lines divergently selected for antibody responses to sheep red blood cells. Livestock Production Science. 85: 139-150.

32. Worapol A, Sridama P and Phasuk Y (2003) Effect of ascorbic acid on cell mediated, humoral immune response and pathophysiology of white blood cell in broilers under heat stress. Songklanakarin Journal of Science and Technology. 25(3): 297-305.

33. Yang LS, Hu YL, Xue JB, Wang F, Wang DY, Kong XF, Li P and Xu WZ (2008) Compound Chinese herbal medicinal ingredients can enhance immune response and efficacy of RHD vaccine in rabbit. Vaccine. 26: 4451-4455.

34. Zulkifli I and Siegel PB (1995) Is there a positive side to stress? World's Poultry Science Journal. 51: 63-76.