



پاسخ ایمنی هومورال و سلولی جوجه‌های گوشتی تحت تنش سرمایی به ویتامین E و کوآنزیم Q₁₀

محمد حسین نعمتی^۱، محمدحسین شهیر^۲، محمدطاهر هرکی نژاد^۳ و هوشنگ لطف الهیان^۴

۱- استادیار، بخش تحقیقات علوم دامی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان زنجان

(نویسنده مسؤل: mh_nemati@yahoo.com)

۲ و ۳- دانشیار و استادیار، دانشگاه زنجان

۴- استادیار پژوهشی موسسه تحقیقات علوم دامی کشور

تاریخ دریافت: ۹۲/۵/۹ تاریخ پذیرش: ۹۲/۹/۲۰

چکیده

به منظور بررسی نقش آنتی اکسیدانی ویتامین E و کوآنزیم Q₁₀ بر ایمنی جوجه‌های گوشتی تحت شرایط تنش سرمایی، ۵۰۰ قطعه جوجه نر در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار، ۵ تکرار و ۲۰ قطعه جوجه در هر تکرار، در ۲۵ واحد آزمایشی قرار گرفتند. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: گروه کنترل مثبت (شرایط عادی پرورش، بدون دریافت آنتی اکسیدان)، گروه کنترل منفی (تنش سرمایی، بدون دریافت آنتی اکسیدان)، گروه‌های دریافت کننده ویتامین E (۱۵۰ میلی گرم در کیلوگرم جیره)، کوآنزیم Q₁₀ (۴۰ میلی گرم در کیلوگرم جیره) و مخلوط E+Q₁₀ در شرایط تنش سرمایی. از روز ۱۵ دوره پرورش دمای سالن برای اعمال تنش سرمایی به ۱۵ درجه سانتیگراد کاهش و تا پایان دوره پرورش ثابت نگه داشته شد. نتایج نشان داد که وزن نسبی طحال در نتیجه تنش کاهش یافت و استفاده از آنتی اکسیدان‌ها باعث بهبود وزن نسبی آن شد. وزن نسبی بورس در نتیجه تنش سرمایی افزایش معنی دار داشت (p<۰/۰۱). تفاوتی بین تیمارهای آزمایشی از نظر فراسنجه‌های مربوط به گلبول‌های سفید، تیتراواکسن‌ها و تزریق SRBC مشاهده نشد (p>۰/۰۵). نتایج مربوط به تست پاسخ زیر جلدی به فایتهماگلوآنتی‌باد (p<۰/۰۱) و تکثیر لنفوسیت‌های T در شرایط آزمایشگاهی (p<۰/۰۵) معنی دار بود و استفاده از آنتی اکسیدان‌ها در شرایط تنش سرمایی باعث بهبود پاسخ ایمنی سلولی شد. کاهش درصد تلفات در نتیجه استفاده از آنتی اکسیدان‌ها به خصوص Q₁₀ تحت شرایط تنش سرمایی مشاهده شد. نتیجه گرفته شد که مصرف آنتی اکسیدان‌ها در شرایط تنش سرمایی باعث بهبود عملکرد سیستم ایمنی سلولی شده و تلفات جوجه‌ها را کاهش داد.

واژه‌های کلیدی: ویتامین E، کوآنزیم Q₁₀، تنش سرمایی، ایمنی، جوجه‌های گوشتی

مقدمه

مهم مربوط به سرما، آسیب دایمی بافت و مرگ ممکن است رخ دهد (۸). در جوجه‌های تحت تنش کاهش ایمنی سلولی گزارش شده است (۱۴). برای محافظت در برابر تنش‌های اکسیداتیو، موجودات زنده دارای یک سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی ترکیبی هستند که شامل آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی (گلوکاتایون، پلی فنل‌ها، کارتنوئیدها، پلی آمین‌ها، اسی کینول، فلاونوئیدها، ویتامین E، ویتامین C، کوآنزیم Q و غیره) و آنتی اکسیدان‌های آنزیمی (کاتالاز، سوپر اکسید دسموتاز (SOD)^۱ و گلوکاتایون پراکسیداز) می باشند (۳). بعضی از این آنتی اکسیدان‌ها توسط موجودات زنده سنتز می شوند در حالی که بعضی دیگر باید از راه جیره تامین شوند.

ویتامین E با حفاظت از سلول‌هایی مانند لنفوسیت‌ها، ماکروفاژها و سلول‌های پلازما در برابر صدمات اکسیداتیو و افزایش فعالیت و تکثیر این سلول‌ها در پاسخ ایمنی نقش دارد. این ویتامین همچنین از طریق تحریک فعالیت گلوکاتایون پراکسیداز

عوامل تنش‌زا با مکانیسم‌های مختلف، عملکرد سیستم ایمنی را دچار تخریب می کند. مطالعات مختلف، تغییر در فعالیت محورهای هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرینال و محور سمپاتیک-آدرینال و محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-تیروئید را در واکنش به عوامل تنش‌زا را گزارش کرده‌اند (۳۱،۱۳). تغییر عملکرد سیستم ایمنی توسط گلوکوکورتیکوئیدها (۳۴) و هورمون‌های تیروئید (۲۱) به خوبی شناخته شده است. تأثیر تنش در توسعه پاسخ ایمنی به ماهیت تنش (به عنوان مثال شوک گرمایی یا دمای محیطی، رژیم غذایی، آلاینده‌ها) و تعدیل کننده‌های تنش (به عنوان مثال ژنتیک، مدت یا شدت عامل تنش‌زا) بستگی دارد (۲۸،۱۳).

تنش سرمایی زمانی اتفاق می افتد که دمای محیط به زیر ۱۸ درجه سانتیگراد کاهش یابد تحت این شرایط بدن قادر به گرم کردن خود نبوده و بیماری‌های

1- Supper Oxide Desmotase (SOD)

(کنترل مثبت) که در یک سالن مجزا با شرایط یکسان پرورشی و مدیریتی با تیمارهای تنش سرمایی پرورش داده شدند، تنش سرمایی (کنترل منفی)، تنش سرمایی + ویتامین E (۱۵۰ میلی گرم در کیلوگرم جیره، +کوانزیم Q₁₀ (۴۰ میلی گرم در کیلوگرم جیره +dl-Tocopheryl Acetate, DSM Vancouver, BC V5X 4V9 Canada)، تنش سرمایی + ویتامین E + کوانزیم Q₁₀ (E+Q₁₀). جیره‌های آزمایشی بر اساس احتیاجات موجود در کاتالوگ سوبه آراین در سه مرحله آغازین (۱۴-۱ روزگی)، رشد (۲۸-۱۴ روزگی) و پایانی (۴۲-۲۸ روزگی) تنظیم شد و ویتامین‌های مورد نظر به صورت سرک به جیره‌ها افزوده شدند. مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها در جیره‌های آزمایشی از روز دهم دوره پرورش آغاز شد. از روز ۱۵ دوره پرورش، دمای محیط پرورش تیمارهای تحت تنش سرمایی به تدریج تا روز ۲۱ پرورش به ۱۵ درجه سانتیگراد کاهش یافته و این دما تا پایان آزمایش (۴۲ روزگی) حفظ شد. تیمار کنترل مثبت تحت شرایط دمایی توصیه شده پرورش داده شدند. واکسیناسیون جوجه‌ها علیه بیماری‌های برونشیت (H120)، نیوکاسل (B1)، آنفلونزا (H2N9) و گامبورو (Intermedate) به ترتیب در روزهای ۱، ۹، ۹ و ۱۴ انجام شد. سپس در طی دوره پرورش به منظور مطالعه تیترا واکسن‌های ۴ گانه در روزها ۲۵ خونگیری انجام شد. همچنین برای سنجش مقدار پاسخ اولیه تیترا آنتی بادی به تزریق گلبول‌های قرمز گوسفندی (SRBC)^۱، در روز ۲۵ دوره پرورش تعداد ۲ پرنده از هر تکرار مشخص و مقدار ۰/۸ میلی لیتر SRBC ده درصد از راه ورید بال تزریق شد. یک هفته پس از تزریق خونگیری انجام شد و مقدار تیترا آنتی بادی سرم‌ها سنجش گردید (۱۵).

برای سنجش پاسخ حساسیت بازوفیلی جلدی (CBH)^۲ از روش احمد و همکاران (۱) استفاده شد (۱). در سن ۳۸ روزگی تعداد دو پرنده از هر تکرار مشخص و پس از اندازه‌گیری ضخامت پرده بین انگشتان هر دو پا، مقدار ۱۰۰ میکروگرم فایتوهماگلوتنین (PHA-P)^۳ (حل شده در ۰/۱ میلی لیتر سرم فیزیولوژی) بین پرده انگشتان پای راست پرنده تزریق شد. همچنین مقدار ۱۰۰ میکرولیتر سرم فیزیولوژی به‌عنوان گروه شاهد به پای چپ تزریق شد. ضخامت پرده بین انگشتان پا پس از ۳۶ ساعت تزریق با استفاده از میکرومتر مدرج با دقت ۰/۰۱ میلی متر اندازه‌گیری شد. پاسخ CBH بصورت اختلاف بین ضخامت پرده بین انگشتان در پیش و پس از تزریق بر حسب میلی متر بیان شد.

پاسخ ایمنی سلولی با استفاده از تکثیر لنفوسیت‌ها در شرایط آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار گرفت. در پایان آزمایش ۲ قطعه پرنده از هر تکرار متناسب با میانگین

و نوتروفیل‌ها سیستم ایمنی را تقویت می‌کند و باعث تحریک فعالیت لنفوسیت‌های T می‌شود. ویتامین E در تعدیل واکنش‌های متابولیسمی اسید آراشیدونیک از راه واکنش‌های سیکلوژناز و لایپوکسی ژناز نقش دارد، بنابراین ویتامین E تولید پروستاگلاندین PGE₂ را از طریق متابولیسم‌های ذکر شده کاهش می‌دهد و پروستاگلاندین PGE₂ یک عامل کاهنده عملکرد سیستم ایمنی است (۱۸). نشان داده شده است که سطوح ۲۵ و ۵۰ میلی گرم در کیلوگرم ویتامین E در جیره منجر به بهبود سیستم ایمنی هومورال، سلولی و ذاتی می‌شود در حالی که سطوح بالاتر این ویتامین (۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم) بر وظایف سلول‌های T کمک‌کننده یا تعداد آنها اثر منفی دارند (۲۰).

کوانزیم Q (۲ و ۳ - دی متوکسی ۵- متیل ۶- پلی ایزوپرن پارابنوکوبینون) در تمام غشاهای سلولی یافت می‌شود (۱۲). حلقه کوپینون در کوانزیم Q موجود در زنجیره تنفسی میتوکندریایی، وظیفه دریافت و انتقال الکترون‌ها به اکسیژن را بر عهده دارد (۱۰) کوانزیم Q به دلیل نقشی که در انتقال الکترون دارد به‌عنوان پاک‌کننده رادیکال‌های آزاد عمل می‌کند بنابراین از آسیب اکسیداتیو در بدن جلوگیری می‌نماید. زنجیره تنفسی میتوکندریایی منبع مهم تولید رادیکال‌های آزاد می‌باشد که نقش مهمی در تخریب ساختار سلول بازی می‌کند وقتی Q₁₀ به اندازه کافی و در مکان صحیح خود در زنجیره تنفسی وجود داشته باشد دقیقاً در محلی قرار می‌گیرد که رادیکال‌های آزاد تولید می‌شوند و با پاکسازی رادیکال‌ها از تخریب شدید ساختار سلول‌ها جلوگیری می‌کنند (۱۱).

بهبود پاسخ ایمنی سلولی و تکثیر لنفوسیت‌ها در نتیجه افزودن ویتامین E و Q₁₀ به صورت جداگانه در جیره توسط تعدادی از محققین گزارش شده است (۷، ۹، ۱۱، ۱۲). با توجه به افزایش تولید رادیکال‌های آزاد تحت شرایط تنش سرمایی (۱۸) و تأثیرپذیری سیستم ایمنی در شرایط تنش، آزمایش حاضر به منظور بررسی نقش و اهمیت ویتامین E و کوانزیم Q₁₀ در حذف رادیکال‌های آزاد و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی تحت شرایط تنش سرمایی طرح‌ریزی شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌منظور بررسی تأثیر آنتی‌اکسیدان‌های ویتامینی (ویتامین E و کوانزیم Q₁₀) بر پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی تحت شرایط تنش سرمایی انجام شد. برای این منظور ۵۰۰ قطعه جوجه گوشتی نر آراین در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار، ۵ تکرار و ۲۰ قطعه جوجه در هر تکرار در نظر گرفته شد تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: گروه بدون تنش سرمایی

1- Sheep Red Blood Cell (SRBC)

2- Coetaneous Basophile Hypersensitivity (CBH)

3- Phytohemaghtenine

گنگ و همکاران (۱۲) گزارش شده است که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.

نتایج مربوط به تعداد گلبول‌های سفید، هتروفیل، لنفوسیت و نسبت هتروفیل به لنفوسیت در جدول ۱ آمده است. افزایش معنی‌داری در تعداد هتروفیل‌ها، لنفوسیت‌ها و نسبت هتروفیل به لنفوسیت در نتیجه تنش سرمایی دیده نشد. افزایش نسبت هتروفیل و کاهش نسبت هتروفیل به لنفوسیت طی تنش سرمایی توسط تعدادی از محققین (۳۷، ۱۳، ۵) گزارش شده است. تحت شرایط تنش سرمایی مقدار تولید کورتیکوسترون از غدد فوق کلیوی افزایش می‌یابد و مشخص شده است که یک رابطه منفی بین سطح کورتیکوسترون پلاسما و تکثیر لنفوسیتی وجود دارد (۱۳). دوارج و همکاران (۷) نشان دادند که در شرایط عادی پرورش، افزودن ویتامین E به جیره منجر به کاهش تعداد هتروفیل می‌شود. افزودن آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند با کاهش تنش اکسیداتیو ایجاد شده از افزایش هتروفیل‌ها به عنوان سلول‌های فاگوسیت‌کننده قوی که غلظت آنها در فرآیندهای التهابی، تنش و عفونت‌ها افزایش می‌یابد، جلوگیری کند (۳۰).

وزنی تکرار انتخاب و پس از کشتار، اندام‌های ایمنی وزن و لنفوسیت‌های طحال برای پاسخ تکثیری به کانکاناوالین A (Con A) با استفاده از روش یانگ و همکاران (۳۶) با اندکی تغییر مورد آزمایش قرار گرفت. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار SAS انجام شد (۲۶). برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه دانکن در سطح ۵ درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به وزن نسبی اندام‌های ایمنی در جدول ۱ آمده است. تنش سرمایی باعث کاهش غیر معنی‌دار وزن نسبی طحال ($P > 0.05$) و افزایش وزن نسبی بورس ($p < 0.01$) شد. تحقیقات اخیر نشان می‌دهند که سلول‌های بورس اولویت بالایی برای استفاده از گلوکز، ایزولوسین و لیزین دارند. به علاوه، به هنگام مواجه شدن با کمبود، سلول‌های بورس توانایی خود را برای بدست آوردن گلوکز و لیزین افزایش می‌دهند (۱۷). افزایش وزن نسبی بورس و کاهش وزن نسبی طحال تحت شرایط تنش احتمالاً ناشی از اولویت این بافت‌ها در تامین مواد مغذی باشد. افزایش وزن نسبی طحال در نتیجه استفاده از کوآنزیم Q₁₀ توسط

جدول ۱- تاثیر ویتامین E و کوآنزیم Q میانگین وزن نسبی اندام‌ها و تعداد سلول‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی تحت شرایط تنش سرمایی

تیمارهای آزمایشی*							صفت
ارزش احتمال	میانگین خطای استاندارد	NC+E+Q ₁₀	Q ₁₀ +NC	NC+E	NC	PC	
۰/۱۳	۰/۰۱۳	۰/۱۶۵	۰/۱۲۹	۰/۱۴۱	۰/۱۱۹	۰/۱۴۲	اندام‌های ایمنی (درصدی از وزن بدن)
<۰/۰۱	۰/۰۱۵	۰/۱۸۶ ^a	۰/۱۷۹ ^a	۰/۱۸۴ ^a	۰/۲۲۱ ^a	۰/۱۲۰ ^d	طحال
							بورس
							گلبولهای سفید
۰/۸۳	۱۱۷۹	۲۷۴۰۰	۲۸۴۸۰	۲۹۳۲۰	۲۸۴۸۰	۲۷۹۲۰	تعداد کل گلبول‌های سفید (در هر میکرولیتر)
۰/۸۳	۱/۴۳	۲۸/۴۰	۲۷/۶۰	۲۸/۵۰	۲۹/۰۰	۲۶/۸۰	درصد هتروفیل
۰/۳۹	۱/۴۵	۶۸/۵۰	۶۸/۰۰	۶۸/۵۰	۶۷/۵۰	۷۱/۲۰	درصد لنفوسیت
۰/۷۹	۰/۰۳	۰/۴۲۲	۰/۴۲۵	۰/۴۱۷	۰/۴۳۰	۰/۳۷۷	لنفوسیت/هتروفیل

حروف غیر مشابه در هر ردیف به مفهوم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

* تیمارهای آزمایشی شامل PC: کنترل مثبت (بدون تنش سرمایی)، NC: تیمار کنترل منفی (تنش سرمایی بدون دریافت آنتی‌اکسیدان)، NC+VE(150mg/kg)، NC+Q₁₀(40mg/kg) و NC+VE(150mg/kg)+Q₁₀(40mg/kg)

بهبود معنی‌دار سیستم ایمنی سلولی شد. بر اساس نتایج گنگ و همکاران (۱۲) افزودن کوآنزیم Q₁₀ در شرایط معمول پرورش باعث کاهش تکثیر لنفوسیت‌های T با استفاده از کانکاناوالین A می‌شود. افزایش سطح فعالیت لیزوزومی، فعالیت و یا حضور آنتی ژن موجب افزایش دفاع ضد میکربی بدن می‌شود. افزودن کوآنزیم Q₁₀ منجر به بهبود معنی‌دار فعالیت لیزوزوم سرم شده و بهبود سیستم ایمنی را منجر می‌شود. نیاز جوجه‌ها به کوآنزیم Q₁₀ تحت شرایط تنش سرمایی زیاد بوده و افزودن آن به جیره می‌تواند کمکی

نتایج مربوط به تیترا واکسن‌ها علیه ویروس بیماری آنفولوانزا، نیوکاسل، برونشیت و گامبرو (جدول ۲) حاکی از عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی است. که با نتایج قبلی (۲۵) مطابقت دارد.

نتایج مربوط به پاسخ حساسیت بازوفیلی جلدی و تکثیر لنفوسیت‌های T به‌عنوان ایمنی با واسطه سلولی در جدول ۲ آمده است. کاهش پاسخ حساسیت بازوفیلی جلدی ($p < 0.01$) و تکثیر لنفوسیت‌های T ($p < 0.05$) در نتیجه تنش سرمایی نسبت به گروه کنترل مثبت معنی‌دار بود و افزودن ویتامین E و کوآنزیم Q₁₀ منجر به

شده است (۲۰،۹) که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد.

تاکنون تحقیقات بسیار کمی در زمینه تأثیر تنش سرمایی بر ایمنی سلولی انجام شده است ولی آتا و همکاران (۲) نشان دادند که استرس گرمایی در جوجه‌ها منجر کاهش معنی‌دار تکثیر لنفوسیت‌های T می‌شود. استرس گرمایی موجب پراکسیداسیون غشای سلولی شده و تنش اکسیداتیو ناشی از تنش گرمایی از تکثیر آزمایشگاهی لنفوسیت‌های T ممانعت می‌کند (۲۴). همچنین تنش گرمایی سطح ورتیکواستروئیدهای پلازما را افزایش می‌دهد (۲۳). در شرایط آزمایشگاهی کورتیکواسترون‌ها مانع از تکثیر لنفوسیت‌های T می‌شوند (۳۲). به طور کلی در جوجه‌های تحت تنش گرمایی، تکثیر لنفوسیت‌های T محدود شده و افزودن ملاتونین (به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان) به جیره باعث افزایش معنی‌دار در تکثیر لنفوسیت‌ها نشد ولی باعث کاهش سطح کورتیکواسترون‌ها تا حد شاهد شد. کورتیکواسترون‌ها موجب مرگ ناگهانی سلول‌های T موجب می‌شوند (۱۹).

در این راستا باشد و ظرفیت دفاعی بدن را افزایش داده و سبب کاهش بروز ناهنجاری‌هایی از جمله آسیت شود. در مورد اثر تنش سرمایی بر پاسخ ایمنی هومورال و سلولی (CMI)^۱ در جوجه‌های گوشتی و سایر پرندگان گزارشات متناقضی وجود دارد. در برخی از گزارشات کاهش پاسخ آنتی‌بادی (۱۶) و اکثراً افزایش پاسخ آنتی‌بادی (۳۳،۲۹،۱۴) ناشی از تنش سرمایی گزارش شده است. اختلافات در نتایج مشاهده شده می‌تواند ناشی از نوع تنش، مدت تنش، مرحله زمانی پس از تنش که پارامترهای ایمنی اندازه‌گیری می‌شوند، متفاوت بودن اجزای سیستم ایمنی اندازه‌گیری شده و پیش زمینه ژنتیکی حیوانات آزمایشگاهی استفاده شده باشد. هانگالاپورا و همکاران (۱۴) بیان کردند که تنش سرمایی طولانی مدت همیشه ایمنی سلولی را افزایش نمی‌دهد ولی به شدت ایمنی هومورال را تحت تأثیر قرار می‌دهد و اثر تنش سرمایی بر سیستم ایمنی، بیشتر تحت تأثیر مرحله زمانی پس از تنش است که این پارامترهای ایمنی اندازه‌گیری می‌شوند، تا شدت و مدت تنش. افزایش پاسخ ایمنی به ویروس بیماری نیوکاسل و برونشیت در نتیجه مصرف ویتامین E گزارش

جدول ۲- تأثیر ویتامین E و کوانزیم Q بر سیستم ایمنی هومورال و سلولی جوجه‌های گوشتی تحت شرایط تنش سرمایی

ارزش احتمال	میانگین خطای استاندارد	تیماهای آزمایشی*					صفت
		NC+E+Q ₁₀	Q ₁₀ +NC	NC+E	NC	PC	
۰/۹۷	۰/۵۰	۳/۲۰	۳/۶۰	۳/۲۰	۳/۲۰	۳/۴۰	ایمنی هومورال (تیترا واکسن‌ها)
۰/۵۳	۰/۴۲	۴/۴۰	۵/۲۰	۵/۴۰	۵/۰۰	۵/۲۰	انفلو انزا
۰/۳۵	۶۱۲	۳۵۳۲	۳۱۵۸	۲۰۶۴	۲۰۵۷	۲۷۸۵	نیوکاسل
۰/۳۸	۹۰/۲۳	۵۱۰/۳	۳۱۶/۶	۲۳۳/۸	۳۳۲/۸	۳۵۹/۴	برونشیت
۰/۱۱	۰/۴۴	۳/۵۶	۴/۱۴	۳/۷۸	۳/۵۵	۵/۱۴	گامبرو
							SRBC
							ایمنی با واسطه سلولی
۰/۰۰۴	۰/۱۲	۰/۹۲ ^{bc}	۱/۱۷ ^{ad}	۱/۳۷ ^a	۰/۶۶ ^c	۱/۲۶ ^{ab}	CBH (میلی‌متر)
۰/۰۱۳	۰/۰۲۵	۰/۳۰۵ ^a	۰/۳۳۹ ^a	۰/۳۴۲ ^a	۰/۲۲۴ ^b	۰/۳۴۹ ^a	T Cell Proliferation (O.D.)

حروف غیرمشابه در هر ردیف به مفهوم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.
 * تیمارهای آزمایشی شامل PC: کنترل مثبت (بدون تنش سرمایی)، NC: تیمار کنترل منفی (تنش سرمایی بدون دریافت آنتی‌اکسیدان)، NC+VE (150mg/kg)، NC+Q₁₀(40mg/kg) و NC+VE (150mg/kg)+Q₁₀ (40mg/kg)
 **: برای تیترا آنتی‌بادی در هنگام قرانت نمونه‌ها، لگاریتم در مبنای ۲ عکس آخرین رقتی که در آن هم‌آگلوتیناسیون دیده می‌شود به عیار پادتنی ثبت گردید.

دارد. بلاهوا و همکاران (۴) بیان کردند که تنش سرمایی منجر به افزایش معنی‌داری در هورمون T₃ پلازما می‌شود زیرا هورمون T₃ با تنظیم دما رابطه دارد و برای آغاز رشد در جوجه گوشتی با اهمیت می‌باشد و در تعدیل سرعت رشد به‌وسیله دمای محیط نقش مهمی بر عهده دارد. اندازه تیروئید و سرعت ترشح هورمون‌های آن در دمای بالای محیطی کاهش و در دمای پایین افزایش

نتایج مربوط به هورمون‌های تیروئیدی (جدول ۳) نشان داد که تنش سرمایی منجر به افزایش غلظت هورمون T₃ می‌شود و استفاده از مواد آنتی‌اکسیدان می‌تواند تا حدودی این افزایش را کاهش دهد. روند T₄ برخلاف T₃ بود زیرا تحت شرایط تنش سرمایی به دلیل نیاز به انرژی بیشتر T₄ به شکل فعالتر خود یعنی T₃ تبدیل می‌شود. که با نتایج تعدادی از محققین (۳۵،۱۳) مطابقت

1- Cell Mediated Immune (CMI)

استفاده از آنتی اکسیدان‌ها به خصوص Q₁₀ مرگ و میر ناشی از این سندرم را کاهش داد (جدول ۳).

در برخی تحقیقات درصد تلفات کل و ناشی از آسیب در پرندگان تحت تنش سرمایی بالاتر از دمای معمول پرورش گزارش شد (۲۲،۶). استفاده از مکمل‌های ویتامینی باعث کاهش هورمون T₃ شد و این هورمون رابطه مهمی با متابولیسم در حیوان دارند و از شدت کار قلب با کاهش هورمون تیروئیدی کاسته می‌شود.

می‌یابد. بنابراین در دمای پایین اندازه غده تیروئید در نتیجه فعالیت و سرعت متابولیسم ممکن است، افزایش یابد از سوی دیگر دمای پایین محیطی با تأثیر بر محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-تیروئید موجب افزایش هورمون تحریک‌کننده تیروئید (TSH) شده که آن با تأثیر بر تیروئید موجب افزایش هورمون T₄ می‌شود که در بدن تبدیل به شکل فعال T₃ می‌شود که دارای اثر فیدبک منفی بر تیروئید بوده و باعث کاهش T₄ می‌شود (۲۷). تلفات ناشی از تنش سرمایی در تیمار کنترل منفی تفاوت معنی‌دار با دیگر گروه‌ها داشت و

جدول ۳- تأثیر ویتامین E و کوانزیم Q بر هورمون‌های تیروئیدی و تلفات جوجه‌های گوشتی تحت شرایط تنش سرمایی

صفات مورد مطالعه	تیمارهای آزمایشی					ارزش احتمال
	NC+E	Q ₁₀ +NC	NC+E+Q ₁₀	میانگین خطای استاندارد		
هورمون‌های تیروئیدی						
T ₃ (ng/ml)	۱/۴۰	۱/۳۷	۱/۴۷	۰/۱۸	۰/۵۷	
T ₄ (ng/ml)	۶/۲۵	۶/۲۵	۶/۵۰	۰/۹۲	۰/۱۳	
T ₃ /T ₄	۰/۳۳ ^a	۰/۳۳ ^{ab}	۰/۲۴ ^{ab}	۰/۰۴	۰/۰۴	
درصد تلفات	۲۰/۰۳ ^a	۱۶/۸۶ ^{ab}	۱۱/۵۶ ^c	۱/۵۷	۰/۰۰۵	

حروف غیر مشابه در هر ردیف به مفهوم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.
 **: تیمارهای آزمایشی شامل PC: کنترل مثبت (بدون تنش سرمایی)، NC: تیمار کنترل منفی (تنش سرمایی بدون دریافت آنتی‌اکسیدان)، NC+VE (150mg/kg) ، NC+Q₁₀(40mg/kg) و NC+VE (150mg/kg) +Q₁₀ (40mg/kg)

تشکر و قدردانی

از مسوولین محترم موسسه تحقیقات علوم دامی کشور برای فراهم آوردن امکانات انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می‌شود.

به‌طور کلی استفاده از آنتی اکسیدان‌های ویتامین E و کوانزیم Q₁₀ تحت شرایط تنش سرمایی وزن طحال، سیستم ایمنی با واسطه سلولی و نسبت هورمون‌های تیروئیدی را بهبود بخشید و تلفات را کاهش داد.

منابع

- Ahmed O.A., A.E. Gehad, G.L. Hendricks, H.B.A. Gharib and M.M. Mashaly. 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. *International Journal of Poultry Science*, 6: 651-660.
- Atta, A.M., S.M.T. El-Tantawy, A. Osman and A.A. El-Far. 1996. Suppression of cellular immune response of chickens following in vivo and in vitro heat stress. *Egyptian Journal of Animal Production*, 33: 71-77.
- Benzie, I.F.F. 2003. Evolution of dietary antioxidants. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A*. 136: 113- 126.
- Blahova, J., R. Dobsikova, E. Strakova and P. Sucha. 2007. Effect of Low Environmental Temperature on Performance and Blood System in Broiler Chickens (*Gallus domesticus*). *Acta Veterinaria Brno*, 76: S17-S23
- Campo J.L., M.T. Prieto and S.G. Da'vila. 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.
- Daneshyar, M., H. Kermanshahi and A. Golian. 2009. Changes of biochemical parameters and enzyme activities in broiler chickens with cold-induced ascites. *Poultry Science*, 88:106-110.
- Devaraj, S., D. Li and I. Jialal. 1996. The effects of alpha tocopherol supplementation on monocyte function. Decreased lipid oxidation, interleukin 1 beta secretion, and monocyte adhesion to endothelium. *Journal of Clinical Investigation*. 98:756-763.
- Dhanalakshmi, S., R.S. Devi, R. Srikumar, S. Manikandan and R. Thangaraj. 2007. Protective effect of Triphala on cold stress induced behavioral and biochemical abnormalities in rats. *Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, 127: 1863-1867.

9. Erf, G.F., W.G. Bottje, T.K. Bersi, M.D. Headrick and C.A. Fritts. 1998. Effects of dietary vitamin E supplementation on the immune system in broilers: Altered proportions of CD4 T cells in thymus and spleen. *Poultry Science*, 77: 529-537.
10. Ernster, L. and G. Dallner. 1995. Biochemical, physiological and medical aspects of ubiquinone function. *Biochim. Biochimica et Biophysica Acta*. 1271: 195-204.
11. Folkers, K., G.P. Littarru and T. Yamagami. 1991. Biomedical and Clinical Aspects of Coenzyme Q. *Journal of Clinical Investigation*, 6: 409-415.
12. Geng, A.L., Y.M. Guo and Y. Yang. 2004. Reduction of Ascites Mortality in Broilers by Coenzyme Q10. *Poultry Science*, 83: 1587-1593.
13. Hangalapura, B.N., G.B. Nieuwland, J. Buysel, B. Kemp and H.K. Parmentier. 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.
14. Hangalaputa, B.N., M.G.B. Nieuwland, G. De Vries Reilingh, M.J.W. Heetkamp, H. Van den Brand, B. Kemp and H.K. Parmentier. 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: 1692-1700.
15. Hay, L. and F.C. Hudson. 1989. *Practical immunology*. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
16. Hester, P.Y., W.M. Muir and J.V. Craig. 1996. Group selection for adaptation to multiple-hen cages: Humoral immune response. *Poultry Science*, 75: 1315-1320.
17. Humphrey B.D., C.B. Stephensen, C.C. Calvert and K.C. Klasing. 2006. Lysine deficiency and feed restriction independently alter cationic amino acid transporter expression in chickens (*Gallus gallus domesticus*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: Molecular and Integrative Physiology*, 143: 218-27.
18. Kidd, M.T. 2004. Nutritional modulation of immune function in broilers. *Poultry Science*, 83: 650-657.
19. Kirsch, A.H., A.A. Mahmood, J. Enders, L. Bohra, B. Bonish, K. Weber and D.A. Fox. 1999. Apoptosis of human T-cells: Induction by glucocorticoids or surface receptor ligation in vitro and ex vivo. *Journal of biological regulators and homeostatic agents*, 13: 80-89.
20. Leshchinesky, T.V. and K.C. Klasing. 2001. Relationship between the level of dietary vitamin E and the immune response of broiler chickens. *Poultry Science*, 80: 1590-1599.
21. Madden, K.S. and D.L. Felten. 1995. Experimental basis for neural-immune interactions. *Physiological Reviews*, 75: 77-106.
22. Mendes, A.A., S.E. Watkins, J.A. England, E.A. Saleh, A.L. Waldroup and P.W. Waldroup. 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.
23. Nathan, D.B., E.D. Heller and M. Perek. 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.
24. Pahlavani, M.A. and M.D. Harris. 1998. Effect of in vitro generation of oxygen free radicals on T cell function in young and old rats. *Free Radical Biology and Medicine*, 25: 903-913.
25. Santin, E., A. Maiorka, W.J.C. Polveiro, A.C. Paulillo, A.C. Laurenztiz, S.A. Borges and A.V. Fischer da Silva. 2003. Effect of environmental temperature on immune response of broilers. *Journal of Applied Poultry Research*, 12: 247-250.
26. SAS (2002-2003). *SAS/STAT Software:chang and enhancement through release 9.1* SAS Instit. Inc., Cary, USA.
27. Shahir, M.H., S. Dilmagani and B. Tzschentke. 2012. Early-age cold conditioning of broilers: effects of timing and temperature. *British Poultry Science*, 53: 538-544.
28. Siegel, H.S. 1995. Stress, strains and resistance. *British Poultry Science*, 36: 312-329.
29. Subba Rao, D.S.V. and B. Glick. 1977. Effects of cold exposure on the immune response of chickens. *Poultry Science*, 56: 992-996.
30. Surail, P.F. 2002. Selenium in poultry nutrition 1. Antioxidant properties, deficiency and toxicity. *World's Poultry Science Journal*. 58: 333-347.
31. Tatli Seven, P. and . Seven. 2009. Effects of Selenium and Vitamin C Supplemented with High Energy Diet on the Performance of Broilers in Cold (15 C°) Environment. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*. 12, 1: 25-32.
32. Trout, J.M. and M.M. Mashaly. 1995. Effects of in vitro corticosterone on chicken T- and B-lymphocyte proliferation. *British Poultry Science*, 36: 813-820.
33. Van Loon, D.P.R., B.N. Hangalapura, M.G.B. Nieuwland, G. de Vries Reilingh, B. Kemp and H.K., Parmentier. 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.
34. Wilckens, T. and R.De. Rijk. 1997. Glucocorticoids and immune function: Unknown dimensions and new frontiers. *Immunology Today*, 18: 418-424.
35. Yahav, S. 2002. Limitations in energy intake affect the ability of young turkeys to cope with low ambient temperatures. *Journal of Thermal Biology*, 27: 103-108.
36. Yang L.S., Y.L. Hu, J.B. Xue, F. Wang, D.Y. Wang X.F. Kong, P. Li and W.Z. Xu. 2008. Compound Chinese herbal medicinal ingredients can enhance immune response and efficacy of RHD vaccine in rabbit. *Vaccine*. 26: 4451-4455.
37. Zulkifli, I. and P.B. Siegel. 1995. Is there a positive side to stress? *World's Poultry Science Journal*, 51: 63-76.

Humeral and Cellular Immunity Response of Broiler Under Cold Stress Condition to Vitamin E and Coenzyme Q₁₀

Mohammad Hossein Nemati¹, Mohammad Hossein Shahir², Mohammad Taher Harakinezhad³ and Hushang Lotfallahyan⁴

1- Assistant Professor, Animal Science Research Department, Zanjan Agriculture and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Zanjan (Corresponding author: mh_nemati@yahoo.com)

2 and 3- Associate and Assistant Professor, University of Zanjan

4- Assistant Professor. of Animal Science Research Institute. Karai

Accepted: December 11, 2013

Received: July 31, 2013

Abstract

This experiment was designed to determine the role of vitamin E and coenzyme Q₁₀ antioxidant on immunity of broilers in cold stress conditions. For this purpose, 500 male chicks in a completely randomized design with 5 treatments, 5 replicates and 20 chicks in each replicate were tested in 25 experimental units. Treatments were: positive control (normal conditions growth without antioxidants), negative control (cold stress without antioxidants), vitamin E (150 mg/kg diet), Q₁₀ (40 mg/kg diet) and E+Q₁₀ (cold stress associated with antioxidants). Temperature was fixed at 15°C from day 15 until the end of experiment. Results showed that the relative weight of spleen decreased in cold stress condition and using of antioxidants improve its relative weight. The relative weight of bursa was increased in cold stress condition ($p < 0.01$). There was no significant difference between treatments in white blood cell parameters, vaccines titer and injecting SRBC showed no significant differences between experimental groups ($p > 0.05$). Results showed that coetaneous basophile Hypersensitivity response to phytohemagglutinin ($p < 0.01$) and proliferation in vitro T cell-mediated immunity ($p < 0.05$) were significant and the use of antioxidants under cold conditions improves cell-mediated immune response. The use of antioxidants especially Q₁₀ under cold stress conditions decreased mortality. The use of antioxidants in cold stress condition improves cell-mediate immune system and decrease mortality.

Keywords: Vitamin E, Coenzyme Q10, Cold stress, Immunity, Broiler