

Rehun lisäaineiden vaikutukset im- muunijärjestelmän toimintaan sekä vastustuskykyyn ja terveyteen nau- doilla

Kirjallisuuskatsaus - Tuottava pohjalainen naudanlihantuotanto -hanke, 16.4.2018

Leena Tuomisto ja Arto Huuskonen
Luonnonvarakeskus

Sisällys

1.	Tiivistelmä	3
2.	Johdanto	3
3.	Immuunipuolustus ja sen kehittyminen	4
4.	Immunomoduloivat rehun lisäaineet	5
4.1.	OmniGen-AF	5
4.2.	Muita immunomoduloivia rehun lisäaineita	9
5.	Yhteenveto ja pohdinta	9
6.	Kirjallisuus	10

1. Tiivistelmä

Rehun lisäaineiden tutkimus on ollut viime vuosina vilkasta. Erityinen tarve on syntynyt immunomoduloiville rehun lisäaineille, joilla pyritään vahvistamaan eläimen vastustuskykyä taudinaiheuttajia kohtaan ja sitä kautta parantamaan eläimen terveyttä ja tuotantoa. Immunomoduloivista rehujen lisäaineista toivotaan apua erityisesti stressaavissa tuotantovaiheissa, jolloin eläimen immuunijärjestelmän toiminta on heikentynyt stressin vaikutuksesta. Useiden immunomoduloivien rehun lisäaineiden on havaittu vaikuttavan eläimen immuunijärjestelmän toimintaan molekyyli- ja solutasolla ja vaikutusmekanismeja ovat esimerkiksi geenien ilmentymisen muuttaminen tai antioksidanttina toimiminen. Molekyyli- tai solutasen vaikutus ei kuitenkaan ole aina näkynyt eläinten parantuneena terveytenä tai tuotantona tai tutkimuksessa ei ole seurattu eläinten tuotantoa ja terveyttä. Paljon tutkitulla ja ilmeisen laajalti käytetyllä OmniGen-AF rehun lisäaineella on tutkimuksissa havaittu edullinen vaikutus liharotuisten vasikoiden kasvuun ennen vieroitusta ja neutrofiilien (valkosolujen) toimintaan maitorotuisilla vasikoilla, joiden emot olivat saaneet ennen poikimista OmniGen-AF rehun lisäainetta. OmniGen-AF rehun vaikutuksesta erityisesti vasikoiden suolistoterveyteen ei nähtävästi (vielä) ole vertaisarvioitua tutkimustietoa lainkaan. Kasvavilla ja aikuisilla nautoilla OmniGen-AF rehulla on havaittu edullinen vaikutus lypsylehmien interleukiini-8:a ja L-selektiinia koodaavien lähetti-RNA-molekyylien pitoisuuksiin veressä, feedlot-härkien veren kortisolipitoisuuteen ja interleukiini-8:a koodaavan lähetti-RNA:n pitoisuuteen, feedlot-härkien maksan toimintaan väkirehupitoisella dieetillä, lypsylehmien neutrofiilien geenien ilmentymiseen poikimisen jälkeen, hiehojen leukosyyttien toimintaan ja utareterveyteen siirtymäkaudella, lypsylehmien maitotuotokseen ja synnynnäiseen immunitettiin siirtymäkaudella ja maitorotuisten hiehojen leukosyyttien toimintaan.

2. Johdanto

Eläimen immuunijärjestelmän toimintaan vaikuttavia rehun lisäaineita voidaan kutsua immunomoduloiviksi (immunomodulatory) rehun lisäaineiksi (LT oma määritelmä). Niitä annetaan pieninä määrinä nautojen varsinaisen rehun ohessa. Niiden tarkoituksena on vaikuttaa eläimen immuunijärjestelmän toimintaan ja erityisesti vahvistaa eläimen vastustuskykyä taudinaiheuttajia kohtaan ja sitä kautta parantaa eläimen terveyttä ja tuotantoa. Immunomoduloivat rehut voivat sisältää yhtä tai useampaa orgaanista tai epäorgaanista ainesosaa, ja niistä on saatavilla kaupallisia valmisteita.

Tarve immunomoduloiville rehuille on osittain syntynyt tarpeesta vähentää antibioottien rutiinomaista käyttöä tuotantoeläinten rehuissa. Rutiininomaisessa antibioottien syöttämisessä on pelkona esimerkiksi antibiootille resistenttien mikrobikantojen syntyminen. Antibiootteja lisätään nautojen rehuun yleisesti Pohjois-Amerikassa, mutta Euroopan Unionin alueella se on kiellettyä. Immunomoduloivien rehujen avulla eläinten elimistön omaa vastustuskykyä saataisiin parannettua taudinaiheuttajia vastaan, jolloin antibioottien käytön tarve vähenisi. Eläinten kasvuympäristöä parantamalla ja eläimen kokeman stressin vähentämisellä voitaisiin todennäköisesti saavuttaa samansuuntainen vaikutus.

Immunomoduloivista rehuista toivotaan apua erityisesti tuotantovaiheissa, joissa eläimeen kohdistuu erityisiä stressitekijöitä. Stressi ja stressin aikana erittyvä stressihormoni kortisoli vaikuttavat immuunijärjestelmän toimintaan heikentämällä sitä, jolloin eläin on alttiimpi sairastumaan ympäristön taudinaiheuttajista (Burton ym. 2005). Poikimista pidetään lypsylehmillä ja hiehoilla erityisen stressaavana tuotantovaiheena, ja sen yhteydessä eläimillä onkin todettu immuunisuppressiota ja neutrofiilien toiminnan muutoksia (Meglia ym. 2001, Wu ym. 2017). Stressihormonien (glukokortikoidien) on esimerkiksi todettu aiheuttavan neutrofiilien (veren valkosolu) normaalille toiminnalle välttämättömän adheesioproteiinin L-selektiinin pitoisuuden pienenemistä (Wang ym. 2007). Vasikoilla puolestaan esimer-

kiksi vieroitus, toimenpiteet (nupoutus, kastointi), kuljetus jatkokasvatukseen ja ryhmittely ovat stressitekijöitä, jotka altistavat sairastumiselle.

Immunomoduloivien rehujen vaikutusten tutkiminen on ollut vilkasta ja tutkimuskohteena on ollut monia elimistön immuunipuolustukseen osallistuvia molekyyliä. Useilla rehuilla on havaittu vaikutuksia immuunijärjestelmän toimintaan molekyylylasolla, ja joissakin tutkimuksissa molekyylylason vaikutus on onnistuttu todentamaan myös eläinten parantuneena terveytenä tai tuotantona. Immunomoduloivien rehujen havaittuja vaikutusmekanismeja ovat esimerkiksi vaikutus geenien ilmentymiseen (esimerkiksi OmniGen-AF) ja antioksidanttina toimiminen (esimerkiksi sinkki ja E-vitamiini).

Tämän kirjallisuuskatsauksen tarkoituksena on selvittää, millaisia immunomoduloivia rehun lisäaineita on tarjolla nautoille ja millaisia vaikutuksia niillä on havaittu nautojen immuunijärjestelmän toimintaan. Katsauksessa keskitytään rehuihin, joiden vaikutuskohteena ovat olleet interleukiinit (erityisesti interleukiini-8) ja adheesioproteiini L-selektiini, koska niiden on esitetty olevan keskeisimmät Omnigen-rehun vaikutuskohteet vasikoiden suolistossa.

3. Immuunipuolustus ja sen kehittyminen

Immuunipuolustuksen tehtävänä on torjua elimistöstä vieraita ja haitallisia bakteereita, viruksia, alkueläimiä ja matoja (Lumio 2016). Puolustus on moninainen ja siihen osallistuu yhteistyössä useita elimiä, soluja ja molekyyliä (Meri 2011, Lumio 2016). Synnynnäinen eli luontainen immunitetti on perimän säätelemä ja läsnä heti syntymästä. Se on luonteeltaan nopea, epäspesifinen ja samankaltaisena toistuva. Järjestelmään kuuluvia osia ovat kudosten yleispuolustusmekanismit (limakalvot, eritteet, matala pH, monet entsyymit, jne.) sekä immuunijärjestelmään kuuluvat leukosyytit eli valkosolut (esimerkiksi syöjäsolut kuten neutrofiilit ja NK-tappajasolut) ja molekyylit (esimerkiksi tunnistinmolekyylit ja tulehduksen välittäjäaineet). Synnynnäisen immunitetin keskeisenä osana toimivat neutrofiilit ovat verenkierrossa olevista valkosoluista yleisimpiä (Salmi ja Meri 2011). Ne ovat hyvin liikkuvia ja niiden pääasiallinen tehtävä on akuutti tulehdusvaste kudoksessa, jossa ne syövät ja tuhoavat vaurioituneen kudoksen ja kehoon tunkeutuneet mikrobit, erityisesti bakteerit.

Elämän varrella sairastetut infektiot ja rokotteissa kohdatut vieraat mikrobit tai niiden osat muokkaavat immunitettia ja rakentavat lisäsuojaa (Meri 2011, Lumio 2016). Tämän opitun eli hankitun immunitetin keskeisiä ominaisuuksia ovat muisti ja muokkautuvuus. Sen reaktiot käynnistyvät hitaasti, mutta ovat spesifisiä ja niiden tunnistusvalikoima on laaja. Uusintainfektiossa puolustusreaktio on nopeampi ja voimakkaampi muistijäljen ansiosta. Opittu immunitetti perustuu T-lymfosyyttien ja B-lymfosyyttien toimintaan ja erittämiin vasta-aineisiin. Synnynnäinen ja opittu immunitetti toimivat yhteistyössä elimistön puolustusreaktioissa.

Elimistössä toimii monimutkainen säätelyjärjestelmä, joka ohjaa kaikkien solujen toimintoja. Viestinviejinä tässä säätelyjärjestelmässä toimivat sytokiinit (Silvennoinen ja Hurme 2003, Meri ja Julkunen 2011). Ne ovat rakenteeltaan pienimolekyyliisiä proteiineja ja niitä tunnetaan lähes 200. Sytokiinin tuotanto lisääntyy esimerkiksi infektioissa ja immuunivasteen aikana (Silvennoinen ja Hurme 2003). Immuunipuolustuksen kannalta keskeisimmät sytokiiniiryhmät ovat interleukiinit, interferonit, tuumorinekrositekijä alfa ja solutyypispesifiset kasvutekijät. Sytokiineihin kuuluvia interleukiineja (IL) tunnetaan useita kymmeniä, ja ne voivat toimia immuunireaktiossa eri tavoin (Meri ja Julkunen 2011). IL-1 ja IL-6 ovat tulehdusta voimistavia. IL-4 ja IL-10 vaimentavat tulehdusreaktion voimakkuutta estäen liian voimakkaan solujen stimuloitumisen ja tulehduksen aiheuttaman kudostuhon. IL-2 voimistaa soluvälitteistä

puolustusta (T-lymfosyyttien ja tappajasolujen toimintaa) ja IL-4, IL-5 ja IL-13 voimistavat humoraalista puolustusta (B-lymfosyyttien toimintaa).

Kemokiinit ovat kemotaksisia eli soluja houkuttelevia sytokiineja. Ne houkuttelevat selektiivisesti eri valkosolutyyppejä perifeerisiin kudoksiin erityisesti tulehdusreaktion aikana. Interleukiini-8 (IL-8, CXCL8) toimii kemokiinina ja houkuttelee neutrofiileja tulehduspaikalle (Meri ja Julkunen 2011). Neutrofiilien siirtyminen verestä kudoksiin on monivaiheinen tapahtuma, jossa eri molekyylit toimivat tarkoin määrättyneessä järjestyksessä. Ensimmäisessä vaiheessa neutrofiilit rullaavat verisuonten endoteelisolujen pinnalla. Rullausvaiheessa adheesioproteiinit (L-selektiini, CD62L) muodostavat heikkoja, lyhytkestoisia sidoksia valkosolujen pintarakenteiden kanssa, jolloin neutrofiilien liike hidastuu. Ilman L-selektiinin vaikutusta neutrofiilin vauhti ei hidastu, eikä se pääse siirtymään verenkierrosta alla oleviin kudoksiin (Weber ym. 2001). Onnistuneen rullausvaiheen jälkeen IL-8 sitoutuu neutrofiilin pinnan reseptoreihin aiheuttaen valkosolun aktivaation. Aktivaation tapahduttua neutrofiili pysähtyy verisuonen pinnalle ja sen morfologia muuttuu, mikä mahdollistaa luikertelun verisuonen endoteelisolujen välistä tai läpi kudokseen (Meri ja Julkunen 2011). Kemokiinit huolehtivat myös kudoksessa valkosolujen ohjaamisesta oikeaan kohteeseen. Tulehdusalueella neutrofiilit syövät ja tuhoavat kehoon tunkeutuneet mikrobit ja vaurioituneen kudoksen.

Vasikoiden immuunipuolustus on pääpiirteiltään samanlainen kuin muillakin nisäkkäillä. Vasikoilla on heti syntymästään käytössään synnynnäinen eli luontainen immunitaetti, jota täydentävät emon ternimaidosta saadut vasta-aineet. Kolmen viikon iässä vasikan opittu eli hankittu immunitaetti alkaa kehittyä ja vasikka alkaa tuottaa omia vasta-aineita kohdattuja taudinaiheuttajia vastaan. Vasikka kohtaa varhaisessa vaiheessa useita stressitekijöitä, jotka vaikuttavat immuunipuolustuksen toimintaan. Esimerkiksi vieroitus emosta, nupoutus, kuljetus jatkokasvatukseen, ryhmittely ja vieroitus juotolta aiheuttavat vasikassa stressireaktion.

Suoliston ehjä limakalvo toimii mekaanisena esteenä taudinaiheuttajien pääsulle limakalvon alaiseen kudokseen. Lisäksi ruuansulatuskanavan erittämät entsyymit, (juoksutus)mahan matala pH ja limakalvojen erittämä lima toimivat epäspesifisinä puolustustekijöinä. Suoliston pinnan luontainen bakteeristo (normaalifloora) estää patogeenisten mikrobien kiinnittymistä suolen pinnan soluihin. Suoliston limakalvon läpäisseet ja limakalvon alaiseen kudokseen siirtyneet mikrobit saavat aikaan epiteelisoluissa sytokiinin tuotannon. Kemokiinit houkuttelevat tulehdusalueelle syöjäsoluja (neutrofiileja), jotka tunnistavat mikrobit ja tuhoavat ne sulkemalla sisäänsä. Suoliston epiteelisolut liittyvät toisiinsa tiiviillä liitoksilla, jotka säätelevät suoliston läpäisevyyttä. Suoliston läpäisevyys on suurin vastasyntyneellä, mutta alkaa nopeasti vähentyä jo 12 tunnin kuluttua syntymästä. Tämän vuoksi hyvälaatuisen ternimaidon juottaminen vasikalle mahdollisimman pian syntymän jälkeen on tärkeää, jotta emon vasta-aineet pystyvät siirtymään vasikkaan.

4. Immunomoduloivat rehun lisäaineet

4.1. OmniGen-AF

Paljon tutkittu ja ilmeisen laajalti käytetty, patentoitu rehun lisäaine on OmniGen-AF (Phibro Animal Health Corporation, Quincy, IL). Valmisteen on raportoitu sisältävän muun muassa aktiivista *Saccharomyces cerevisiae* -kuivahiivaa (leiviniiva), *Trichoderma longibrachiatum* -sienen fermentaatiotuotetta, B-ryhmän vitamiineja, kasviproteiineja, piimaata (diatomaceous earth), riisin kuorta, mineraaliöljyä, alumiinisilikaattia, piidioksidia, kalsiumkarbonaattia ja koliinikloridia (Ryman ym. 2013, Playford ym. 2014, Brandão ym. 2016, Skibieli ym. 2017). Rehun yksityiskohtainen koostumus on yrityssalaisuus. OmniGen-AF:n pääasiallinen vaikutus eläimen immuunijärjestelmän toimintaan välittyy muutoksina lähetti-

RNA-molekyylien ilmentymisessä, vaikkakaan tarkkaa vaikutusmekanismia ei ole täysin havainnollistettu (Nace ym. 2014). Lähetti-RNA:lla on keskeinen rooli proteiinisynteesissä. Se välittää geenin sisältämän geneettinen informaation proteiinisynteesin lopputuotteena syntyvän proteiinimolekyylin aminohappojärjestykseksi.

OmniGen-AF rehun lisäaineen vaikutuksesta vasikoiden suolistoterveyteen ei ainakaan toistaiseksi ole tieteellisesti julkaistua tutkimustietoa. Kyseisen lisäaineen vaikutusta vasikoiden kasvuun ja immuunijärjestelmän toimintaan on tutkittu yleisemmällä tasolla, ja voitaisiin ajatella, että lisäaineen mahdolliset edulliset vaikutukset immuunipuolustukseen pätevät niin suoliston alueella kuin muuallakin vasikan elimistössä. Seuraavassa on esitetty yksityiskohtaisemmin vasikoilla, kasvavilla nautoilla, aikuisilla nautoilla ja lampaila tehtyjä OmniGen-AF-tutkimuksia.

Laiduntavilla lypsylehmillä OmniGen-AF lisäaineen todettiin nostavan interleukiini-8 ja L-selektiinia koodaavien lähetti-RNA-molekyylien pitoisuuksia veressä verrattuna bentoniittia (saviyhdiste, kemialliselta rakenteeltaan osin samantapainen kuin OmniGen-AF) saaneeseen kontrolliryhmään (Playford ym. 2014). Rehun lisäaineita syötettiin lehmille 60 päivän ajan. Ero koeryhmien välillä oli merkitsevä 60 päivän kulluttua kokeen alusta ja edelleen 90 päivän kulluttua kokeen alusta, vaikkakin silloin ero oli jo pienentynyt. Tässä tutkimuksessa ei selvitetty lehmien sairastuvuutta, joten tutkimuksen perusteella ei voi päätellä Omnigen-AF lisäaineen vaikutusta infektioiden estämisessä tai vähentämisessä.

Lippolis ym. (2017) tutkivat kahden immunomoduloivan rehun lisäaineen vaikutusta liharotuisten härkien (alkupaino 220 kg) immunokompetenssiin ja tuotantoon feedlot-kasvatukseen saapumisen jälkeen 80 päivän pituisessa kokeessa. Eläimet olivat kohdanneet useita stressitekijöitä (vieroitus, huutokauppa, pitkä kuljetus, rokotukset, uudelleenryhmittely) lyhyen ajan sisällä ennen kokeen alkua ja kokeen alussa, minkä katsottiin lisänneen niiden sairastumisalttiutta. Koerehut olivat kontrolli (ei lisäainetta), OmniGen-AF lisäaine päivinä 0-30 ja IPF-lisäaine (Ramaekers Nutrition, Santa Cruz, CA), joka käsitti suun kautta annetut Stocker Immune Primer-kapselit päivänä 0 ja Stocker Preconditioned Premix -rehun lisäaineen päivinä 7-30. IPF-lisäaineen vaikutus perustuu muun muassa sen sisältämiin maitohappoa tuottaviin probiootteihin ja transfer factor -proteiineihin, jotka on eristetty nautojen ternimaidosta ja munankeltuaisista. Härkien päiväkasvu ja loppupaino olivat suurimmat kontrolliryhmän eläimillä, seuraavaksi suurimmat IPF-ryhmän eläimillä ja pienimmät OmniGen-AF-ryhmän eläimillä. Erot olivat tilastollisesti merkitsevät kaikkien ryhmien välillä. Plasman keskimääräinen kortisolipitoisuus oli suurempi kontrolliryhmän eläimillä kuin muilla ryhmillä (mittaukset päivinä 0,3,7,10,14, 21 ja 31). Interleukiini-8:a koodaavan lähetti-RNA:n pitoisuus veressä oli suurempi OMN- ja IPF-ryhmän eläimillä kuin kontrolliryhmän eläimillä päivänä 3 ja OMN-ryhmän eläimillä kuin muiden ryhmien eläimillä päivänä 14 (mittaukset päivinä 0,3,7,10 ja 14). Käsitelyjen välillä ei ollut eroa L-selektiiniä koodaavan lähetti-RNA:n pitoisuuksissa veressä, sairastuvuudessa nautojen hengitystietulehdukseen tai kuolleisuudessa. Tässä tutkimuksessa immunomoduloivat rehun lisäaineet vaikuttivat joihinkin veriparametreihin edullisesti, mutta vaikutus ei kuitenkaan näkynyt eläinten parantuneena kasvuna tai terveytenä.

Crook ym. (2017) raportoivat lyhyesti tutkimuksestaan (abstrakti), jossa Omnigen-AF rehun lisäaineella havaittiin positiivinen vaikutus liharotuisten vasikoiden kasvuun. Vasikoiden emot (lehmät ja hiehot) saivat lisäainetta 60 päivän ajan ennen poikimista ja syntyneet vasikat 90 päivän ajan ennen vieroitusta. Omnigen-AF ruokitut vasikat kasvoivat koejaksolla paremmin kuin kontrolliryhmän vasikat, mutta vasikoiden vieroituspainoissa ei kuitenkaan ollut eroa ryhmien välillä.

Armstrong ym. (2016) raportoivat lyhyesti tutkimuksestaan (abstrakti), jossa liharotuisille härille annettiin Omnigen-AF lisäainetta kokeen ensimmäisen 28 päivän ajan. Lisäaineen saaneilla härillä todettiin

muutoksia lähetti-RNA ilmentymisessä erilaisissa synnynnäisen immunitetin kannalta merkityksellisissä geeneissä verrattuna kontrolliryhmän eläimiin, mutta L-selektiiniä koodaavan geenin ilmentymiseen lisäaineella ei ollut vaikutusta. Tutkijoiden mukaan tulokset viittaavat siihen, että Omnigen-AF voi säädellä antigeenien esittämistä ja signaalien transduktiota naudoilla.

Toisessa lyhyessä raportissaan (abstrakti) Armstrong ym. (2017) raportoivat OmniGen-AF rehun lisäaineen vaikutuksesta liharotuisten härkien maksan toimintaan. Härät saivat OmniGen-AF lisäainetta 28 päivän pituisen backgrounding-jakson ajan, 14 päivän pituisen transition-jakson ajan ja 56 päivän pituisen high-concentrate diet -jakson ajan (yhteensä 104 päivää). Kontrolliryhmä ei saanut OmniGen-AF-rehua. OmniGen-AF-lisä lievensi veren paraoxonase-entsyymin konsentraation laskua ja vähensi tilastollisesti suuntaa antavasti maksasolujen nekroosimarkkerin aspartate aminotransferase -entsyymin pitoisuuden nousua kokeen viimeisen vaiheen aikana. Tutkijat päättelivät, että OmniGen-AF rehun lisäaine voi lieventää maksavaurioita loppukasvatettavien härkien korkeaväkirehuisen dieetin aikana.

Skibieli ym. (2017) tutkivat tiineyden aikaisen OmniGen-AF lisäaineen ja lämpöstressin vähentämisen vaikutusta syntyneiden maitorotuisten vasikoiden painoon ja synnynnäisen immunitetin toimintaan. Koeasetelma oli 2x2 faktoriaalinen. Ruokintäkäsittelyt olivat OmniGen-AF lisäaine tai bentoniitti-lisäaine (kontrollikäsittely, AB20, Phibro Animal Health Corporation) alkaen 60 päivää ennen umpeenpanoa ja viilennyskäsittelyt olivat viilennys ummessaolokaudella noin 46 päivän ajan tuulettimilla ja sadettimilla tai ei viilennystä lainkaan (kontrolli). Viilennettyjen emojen vasikat olivat syntymäpainoltaan merkittävästi suurempia kuin viilentämättömien emojen vasikat. Omnigen-AF-ruokittujen emojen vasikat olivat syntymäpainoltaan tilastollisesti suuntaa-antavasti suurempia kuin bentoniitilla ruokittujen emojen vasikat. Vasikoiden verinäytteistä (0, 10, 28 ja 49 päivän iässä) paljastui, että neutrofiilien toiminta oli tehostunut Omnigen-AF-ruokittujen viilennettyjen emojen vasikoilla 10 päivän iässä. Lymfosyyttien määrä oli suurempi syntymän jälkeen Omnigen-AF-ruokittujen emojen vasikoilla kuin bentoniittia saaneiden emojen vasikoilla. Tutkijat päättelivät tulosten perusteella, että OmniGen-AF-lisällä yhdessä emojen viilennämisen kanssa voidaan lieventää sikiöajan lämpöstressin haittavaikutuksia syntyneiden vasikoiden kasvuun ja immunokompetenssiin.

Wang ym. (2009) antoivat maitorotuisille lehmille OmniGen-AF rehun lisäainetta yhden kuukauden ennen stressitekijää eli poikimista ja tutkivat 15 tunnin kuluttua poikimisen jälkeen, oliko lisäaineella vaikutusta neutrofiilien geenien ilmentymiseen. Omnigen-AF muutti neutrofiilien geenien ilmentymistä verrattuna kontrolliryhmän lehmiin: ilmeneminen vähentyi osalla geeneistä ja lisääntyi osalla geeneistä. Tutkijat arvioivat, että muutokset geenien ilmentymisessä tarkoittavat, että Omnigen-AF voi vaikuttaa neutrofiilien apoptoosiin, signaalointiin ja sensitiivisyyteen. Lisäksi valkosolujen kokonaismäärä ja lymfosyyttien määrä lisääntyivät lisäaineella ruokittujen lehmien veressä. Lehmien terveyttä ei seurattu tutkimuksessa, joten geenien ilmentymisen muutosten vaikutusta lehmien terveyteen ei voitu arvioida. Wang ym. (2005) havaitsivat myös toisessa kokeessaan saman tyyppisellä koeasetelmalla muutoksia maitorotuisten lehmien geenien ilmentymisessä. Monet geenit, joiden ilmentymisen lisääntyi, olivat yhteydessä apoptoosiin (ohjelmoitu solukuolema) kontrollointiin ja siten tutkijat arvelivat, että OmniGen-AF rehulla aiemmissa tutkimuksissa lampailta saavutettu neutrofiilien pitoisuuden nouseminen voi liittyä OmniGen-AF rehun kykyyn vähentää neutrofiilien apoptoosia.

Wu ym. (2017) tutkivat OmniGen-AF rehun lisäaineen vaikutusta ja annostusta neutrofiilien toimintaan lehmillä siirtymäkaudella. OmniGen-AF lisäainetta annettiin lehmille 0 g (kontrolli), suosituksen mukainen annos (60 g/eläin/päivä) tai 1,5-kertainen annos (90 g/lehmä/päivä). OmniGen-AF lisäaineen syöttäminen aloitettiin 62 päivää ennen odotettua poikimista ja lopetettiin 28 päivän kuluttua maidontuotannon alettua. Verinäytteet kerättiin ennen poikimista päivinä -60, -28, -14, -7 ja poikimisen jälkeen

päivinä 1, 7, 14, 28, 32 ja 35. Omnigen-AF rehun lisäaine vaikutti edullisesti lehmien neutrofiilifunktioon. Neutrofiilien fagosyyttinen aktiivisuus *Escherichia coli* ja *Staphylococcus aureus* -bakteereja kohtaan oli suurempi ajanjaksolla 28 päivää ennen poikimista ja 28 päivää poikimisen jälkeen OmniGen-AF lisäainetta 60 g saaneilla lehmillä kuin kontrolliryhmän eläimillä. Lisäksi interleukiini-8-geenin ilmentyminen oli korkeampaa ajanjaksolla 60 päivää ennen poikimista ja 28 päivää poikimisen jälkeen OmniGen-AF lisäainetta 60 g saaneilla lehmillä kuin kontrolliryhmän eläimillä.

Nace ym. (2014) aloittivat OmniGen-AF lisäaineen antamisen hiehoille 60 päivää ennen odotettua poikimista. Hiehoilta otetuista verinäytteistä päivinä -60 ja -30 ennen poikimista sekä päivinä 1, 7, 14 ja 30 poikimisen jälkeen mitattiin leukosyyttien aktiivisuutta. Granulosyyttien osuus, joiden pinnalla oli L-selektiiniä, oli tilastollisesti suuntaa-antavasti suurempi OmniGen-AF-ryhmällä kuin kontrolliryhmällä poikimisen jälkeisellä viikolla. Granulosyyttien fagosytoiva aktiivisuus oli tilastollisesti suuntaa-antavasti suurempi OmniGen-AF-ryhmällä kuin kontrolliryhmällä *E. coli* -bakteeria kohtaan päivästä -30 alkaen ja *S. aureus* -bakteeria kohtaan päivästä 7 alkaen. Ryhmien välillä ei ollut eroa maidon tuotannossa tai somaattisten solujen määrässä maidossa, mutta OmniGen-AF-ryhmässä esiintyi vähemmän utareen pöhöttymistä (udder edema) ja tilastollisesti suuntaa-antavasti vähemmän utaretulehdusta. Tutkijat päättelivät, että OmniGen-AF rehun lisäaineella on positiivinen vaikutus leukosyyttien toimintaan eläinten luontaista immunitettia heikentävällä siirtymäkaudella.

Brandão ym. (2016) havaitsivat OmniGen-AF lisäaineella edullisen vaikutuksen maitotuotokseen ja synnyntäiseen immunitettiin maitorotuisilla lehmillä siirtymäkaudella. OmniGen-AF-ruokinta aloitettiin koeryhmällä 35 päivää ennen oletettua poikimista ja sitä jatkettiin 46 päivää poikimisen jälkeen tai pidempään (lehmät, jotka saivat lipopolysakkaridi-injektion). Koeryhmän ja kontrolliryhmän välillä ei ollut eroa eläinten elopainossa, kuntoluokassa tai mitatuissa veriparametreissa. OmniGen-AF-ryhmän lehmien maitotuotos oli parempi, ja niiden kohdun limakalvolla todettiin enemmän granulosyyttejä poikimisen jälkeen kuin kontrolliryhmän eläimillä. Poikimisen jälkeen päivänä 48 lehmille annettiin laskimon-sisäiset lipopolysakkaridi-injektiot. Lipopolysakkarideja esiintyy gramnegatiivisten bakteerien ulkokalvon pinnalla, jossa ne toimivat endotoksiineina ja aktivoivat elimistön immuunijärjestelmän. OmniGen-AF-ryhmän eläimillä synnyntäiseen immunitettiin reaktio tätä lipopolysakkaridi-haastetta kohtaan oli ensimmäisten tuntien aikana voimakkaampi kuin kontrolliryhmällä.

Ryman ym. (2013) havaitsivat jatkuvan Omnigen-AF-ruokinnan vaikuttavan edullisesti leukosyyttien toimintaan maitorotuisilla hiehoilla kaksiosaisessa kokeessa. Ensimmäisessä osakokeessa OmniGen-AF-ruokinta aloitettiin koeryhmällä kokeen alkaessa 6,5 kuukauden iässä ja sitä jatkettiin 16 kuukauden ajan. Kontrolliryhmä ei saanut OmniGen-AF-rehua. L-selektiinin ja IL-8R:n lähetti-RNA-molekyylien ilmentymistä (pitoisuutta) leukosyyteissä mitattiin verinäytteistä päivänä 0 ja sen jälkeen kuukauden välein. L-selektiinin lähetti-RNA:n ilmentyminen oli numeerisesti voimakkaampaa OmniGen-AF-ryhmällä kuin kontrolliryhmällä ja 7, 12 ja 14 kuukauden kohdalla ero oli tilastollisesti merkitsevä. Ryhmien välillä oli tilastollisesti merkitsevä ero IL-8R:n lähetti-RNA:n ilmentymisessä ainoastaan 4 kuukauden kohdalla, jolloin ilmentyminen oli voimakkaampaa OmniGen-AF-ryhmällä. Toisessa osakokeessa neutrofiilien fagosyyttistä aktiivisuutta ja reaktiivisten happiradikaalien tuotantoa mitattiin päivinä 0, 30 ja 60. Päivien 30 ja 60 kohdalla Omnigen-AF-ryhmässä neutrofiilien todettiin olevan tilastollisesti merkitsevästi tai suuntaa-antavasti fagosyyttisesti aktiivisempia *E. coli* ja *S. aureus* -bakteereja kohtaan kuin kontrolliryhmän neutrofiilien. Lisäksi OmniGen-AF-ryhmässä neutrofiilit tuottivat happiradikaaleja päivänä 30 tilastollisesti merkitsevästi enemmän kuin kontrolliryhmän neutrofiilit. Hiehojen terveyttä ei seurattu kokeessa, mutta tutkijat päättelivät tulosten perusteella, että OmniGen-AF-rehu voi toimia apukeinona hiehojen utareterveyden parantamisessa.

Myös lampailla OmniGen-AF-lisäaineella on todettu edullisia vaikutuksia immuunijärjestelmään. Wang ym. (2007) havaitsivat OmniGen-AF-lisäaineen lisäävän neutrofiilien ja lymfosyyttien pitoisuutta verenkierrossa ja L-selektiinin pitoisuutta neutrofiilien pinnalla lampailla, joiden immuunijärjestelmää oli vaiennettu kortisonilla (deksametasoni). Lampailla, joiden immuunijärjestelmää oli lisäksi haastettu homeen (*Aspergillus fumigatus*) saastuttamalla rehulla, myös interleukiini-1 β :n pitoisuus neutrofiilien pinnalla oli Omnigen-AF-ryhmällä kontrolliryhmää suurempi.

4.2. Muita immunomoduloivia rehun lisäaineita

Sinkki-aminonohappo-kompleksin (Availa-Zn; Zinpro Corporation, Eden Prairie, MN) yhdessä raktopamiinin (Optaflexx; Elanco Animal Health, Greenfield, IN) kanssa todettiin parantavan liharotuisten härkien kasvua ja rehuhyötysuhdetta feedlot-kasvatuksen viimeisen 28 vuorokauden aikana verrattuna pelkkään raktopamiinilisään tai kontrolliruokintaan (Genther-Schroeder ym. 2016). Lisäksi muutama päivä ennen teurastusta raktopamiinilisän saaneilla härillä mitattiin verestä korkeammat kupari-, leukosyytti- ja interleukiini-8 -pitoisuudet ja matalampi rautapitoisuus. Raktopamiini on β 1-adrenerginen agonisti ja sen käyttö nautojen kasvunestäjänä on kielletty EU:n alueella.

Chandra ym. (2014) tutkivat E-vitamiinin ja sinkin vaikutusta Sahiwal-lehmien immuunireaktioon. Käsitteletyt olivat: kontrolli, sinkkilisä (60 mg/kg), E-vitamiinilisä (1000 IU) ja sinkkilisä (60 mg/kg) + E-vitamiinilisä (1000 IU). Ruokintakäsittelyt alkoivat 60 päivää ennen poikimista ja päättyivät 90 päivää poikimisen jälkeen. Poikimisen jälkeen sinkki + E-vitamiini -käsittelyllä olleiden lehmien plasman kokonaisimmunoglobuliinipitoisuus, IgG-pitoisuus ja interleukiini-2-pitoisuus olivat suuremmat kuin muilla koeryhmillä. Lisäksi E-vitamiinikäsittelyllä ja sinkki + E-vitamiinikäsittelyllä olleiden lehmien plasman E-vitamiinipitoisuus oli suurempi kuin muilla käsittelyillä ja sinkkikäsittelyllä ja sinkki + E-vitamiinikäsittelyllä olleiden lehmien plasman sinkkipitoisuus oli suurempi kuin muilla käsittelyillä. Tutkijat päättelivät, että poikimiseen tienoille ajoittuvaa immuunitoiminnan heikkenemistä voidaan kohentaa sinkki- ja E-vitamiinilisällä.

Li ym. (2015) havaitsivat kitosaanin (chitosan), äyriäisten kuoresta valmistettavan polysakkaridin, vaikuttavan edullisesti joihinkin liharotuisten eläinten immuunitoiminnasta ja antioksidatiivisesta toiminnasta kertoviin veriparametreihin. Kitosaanilisät olivat 0 mg/kg (kontrolli), 500 mg/kg tai 1000 mg/kg. Koe kesti 84 päivää. Kitosaanilisä nosti seerumin IgA (kitosaania 500 mg/kg) ja interleukiini-1 (kitosaania 500 ja 1000 mg/kg) -pitoisuuksia koepäivinä 29–56 verrattuna kontrollikäsittelyyn. Lisäksi 500 mg/kg kitosaanilisä vähensi malondialdehydin pitoisuutta seerumissa koepäivinä 1-28.

5. Yhteenveto ja pohdinta

Immunomoduloivia rehun lisäaineita on tutkittu viime vuosina vilkkaasti. Paine antibioottien rutiinomaisten käytön vähentämiseen kannustaa osaltaan immunomoduloivien rehujen kehittämiseen ja tutkimukseen. Tutkimuksia on tehty kasvavilla ja aikuisilla naudoilla ja vähemmässä määrin vasikoilla. Immunomoduloivilla rehun lisäaineilla on todettu vaikutusta moniin immuunijärjestelmässä vaikuttaviin molekyyleihin ja soluihin. Molekyylitai solutaso vaikutus ei kuitenkaan ole aina näkynyt eläinten parantuneena terveytenä tai tuotantona tai tutkimuksessa ei ole seurattu eläinten tuotantoa ja terveyttä.

OmniGen-AF rehun lisäaineella on tutkimuksissa havaittu edullinen vaikutus liharotuisten vasikoiden kasvuun ennen vieroitusta ja neutrofiilien (valkosolujen) toimintaan maitorotuisilla vasikoilla, joiden emot olivat saaneet ennen poikimista OmniGen-AF rehun lisäainetta. OmniGen-AF rehun vaikutuksesta erityisesti vasikoiden suolistoterveyteen ei nähtävästi (vielä) ole vertaisarvioitua tutkimustietoa lainkaan. Kasvavilla ja aikuisilla naudoilla OmniGen-AF rehulla on havaittu edullinen vaikutus lypsylehmien

interleukiini-8:a ja L-selektiinia koodaavien lähetti-RNA-molekyylien pitoisuuksiin veressä, feedlot-härkien veren kortisolipitoisuuteen ja interleukiini-8:a koodaavan lähetti-RNA:n pitoisuuteen, feedlot-härkien maksan toimintaan väkirehupitoisella dieetillä, lypsylehmien neutrofiilien geenien ilmentymiseen poikimisen jälkeen, hiehojen leukosyyttien toimintaan ja utareterveyteen siirtymäkaudella, lypsylehmien maitotuotokseen ja synnynnäiseen immunitettiin siirtymäkaudella sekä maitorotuisten hiehojen leukosyyttien toimintaan.

Tutkimusten ajankohta on usein keskittynyt stressaaviin tuotantovaiheisiin, jolloin eläinten immuunijärjestelmän toiminta on normaalista heikentynyt. Stressin vaikutuksesta esimerkiksi neutrofiilien normaalille ja tehokkaalle toiminnalle akuutissa infektiossa välttämättömien interleukiini-8 ja L-selektiinin pitoisuudet laskevat. OmniGen-AF rehun lisäaineella on saatu useissa tutkimuksissa edullinen vaikutus kyseisten molekyylien geenien ilmentymiseen. Interleukiini-8 ja L-selektiini kulkeutuvat elimistössä veren mukana ja siten teoriassa, niiden vaikutus neutrofiilien tehostuneena toimintana voi välittyä koko elimistöön, niin lehmien utarekudokseen kuin vasikoiden suoliston alueelle. Erityisesti vasikoiden osalta tutkimustietoa kuitenkin tarvitaan lisää.

6. Kirjallisuus

Armstrong, S.A., McLean, D.J., Schell, T.H., Bobe, G. & Bionaz, M., 2016. Evaluation of immune function markers in OmniGen-AF® supplemented steers. *Journal of Animal Science* 94 (Supplement 5): 46. (abstrakti)

Armstrong, S.A., McLean, D.J. Bionaz, M. & Bobe, G. 2017. Omnigen-AF supplementation may attenuate liver damage during a high concentrate diet in finishing steers. *Journal of Animal Science* 95 (Supplement.4): 17–18. (abstrakti)

Ballantine, H.T., Chapman, J.D., Wang, Y.-Q. & Forsberg, N.E. 2007: Effect of feeding an immunostimulatory feed supplement (OmniGen-AF) during the dry period on somatic cell scores (SCS) in early lactation Holstein cows. *Journal of Animal Science* 85 (Supplement 1): 10. (abstrakti)

Brandão, A.P., Cooke, R.F., Corra, F.N., Piccolo, M.B., Gennari, R., Leiva, T. & Vasconcelos, J.L.M. 2016. Physiologic, health, and production responses of dairy cows supplemented with an immunomodulatory feed ingredient during the transition period. *Journal of Dairy Science* 99: 5562–5572.

Broadway, P.R., Carroll, J.A. & Burdick Sanchez, N.C. 2015. Live yeast and yeast cell wall supplements enhance immune function and performance in food-producing livestock: A review. *Microorganisms* 3: 417–427.

Burton, J.L., Madsen, S.A., Chang, L.C., Weber, P.S., Buckham, K.R., van Dorp, R., Hickey, M.C. & Earley, B. 2005. Gene expression signatures in neutrophils exposed to glucocorticoids: a new paradigm to help explain “neutrophil dysfunction” in parturient dairy cows. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 105: 197–219.

Chandra, G., Aggarwal, A., Kumar, M., Singh, A.K., Sharma, V.K. & Upadhyay, R.C. 2014. Effect of additional vitamin E and zinc supplementation on immunological changes in peripartum Sahiwal cows. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 98: 1166–1175.

Crook, T.S., Koltes, J.E., Stewart, B., Shelton, C., Sims, M.B., McLean, D.J., Chapman, J.D. & Beck, P.A. 2017. Effect of Omnigen-AF on the preweaning performance of beef calves. *Journal of Animal Science* 95 (Supplement 4): 42 (abstrakti)

Fudenberg, H.H. & Fudenberg, H.H. 1989. Transfer factor: Past, present and future. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 29: 475–516.

Genther-Schroeder, O.N., Branine, M.E. & Hansen, S.L. 2016. The effects of increasing supplementation of zinc-amino acid complex on growth performance, carcass characteristics, and inflammatory response of beef cattle fed ractopamine hydrochloride. *Journal of Animal Science* 94: 3389–3398.

Heine, H. & Ulmer, A.J. 2005. Recognition of bacteria products by Toll-like receptors. *Chemical Immunology and Allergy* 86: 99–119.

Meglia, G.E., Johannisson, A., Petersson, L. & Waller, K.P. 2001. Changes in some blood micronutrients, leukocytes and neutrophil expression of adhesion molecules in periparturient dairy cows. *Acta Veterinaria Scandinavica* 42: 139–150.

Rozzo, S.J. & Kirkpatrick, C.H. 1992. Purification of transfer factors. *Molecular Immunology* 29: 167–182.

Li, T., Na, R., Yu, P., Shi, B., Yan, S., Zhao, Y. & Xu, Y. 2015. Effects of dietary supplementation of chitosan on immune and antioxidative function in beef cattle. *Czech Journal of Animal Science* 60: 38–44.

Lippolis, K.D., Cooke, R.F., Schumacher, T. Brandão, A.P., Silva, L.G.T., Schubach, K.M., Marques, R.S. & Bohnert, D.W. 2017. Physiologic, health, and performance responses of beef steers supplemented with an immunomodulatory feed ingredient during feedlot receiving. *Journal of Animal Science* 95: 4945–4957.

Lumio, J. 2016 Elimistön vastustuskyky, immunitaetti. *Lääkärikirja Duodecim*.
http://www.terveyskirjasto.fi/kotisivut/tk.koti?p_artikkeli=dlk01150. Viitattu 16.3.2018

Meri, S. 2011. Johdanto immunologiaan. Kirjassa: *Immunologia, Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet*, kirja 2. Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S. & Vaara, M. (toim.) Duodecim, Helsinki.

Meri, S. & Julkunen, I. 2011. Luontaiset puolustusmekanismit. Kirjassa: *Immunologia. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet*, kirja 2. Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S. & Vaara, M. (toim.) Duodecim, Helsinki.

Nace, E.L., Nickerson, S.C., Kautz, F.M., Breidling, S., Wochele, D., Ely, L.O. & Hurley, D.J. 2014. Modulation of innate immune function and phenotype in bred dairy heifers during the periparturient period induced by feeding an immunostimulant for 60 days prior to delivery. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 161: 240–250.

Playford, M.C., Dawson, K., Playford, S.E., Smith, A.N., Page, S.W., Collins, K. & Forsberg, N. 2014. Effect of an immunomodulatory feed additive on markers of immunity in pasture-fed dairy cows. *Australian Veterinary Journal* 92: 479–481.

Puntenney, S.B., Wang, Y., Rowson, A. & Forsberg, N.E. 2010. Effects of OmniGen-AF on development of humoral immune responses in beef cattle and in rats following a vaccination program. *Journal of Dairy Science* 93 (Supplement 1): 764.

Ryman, V.E., Nickerson, S.C., Kautz, F.M., Hurley, D.J., Ely, L.O., Wang, Y.Q. & Forsberg, N.E. 2013. Effect of dietary supplementation on the antimicrobial activity of blood leukocytes isolated from Holstein heifers. *Research in Veterinary Science* 95: 969–974.

Salmi, M. & Meri, S. 2011. Immuunijärjestelmän anatomis: solut ja kudokset Kirjassa: *Immunologia. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet*, kirja 2. Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S. & Vaara, M. (toim.) Duodecim, Helsinki.

Schramm, R.D., Shields, S.L., Sevier, D.L. McGuire, M.A. & Rezamand, P. 2010. Effects of a feed additive on neutrophil expression of immunomodulatory genes and production performance in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science* 93 (Supplement 1): 588.

Silvennoinen, O. & Hurme, M. 2003. Uutta sytokiineista. *Duodecim* 119: 773–779.

Skibieli, A.L., Fabris, T.F., Corra, F.N., Torres, Y.M., McLean, D.J., Chapman, J.D., Kirk, D.J., Dahl, G.E. & Laporta, J. 2017. Effects of feeding an immunomodulatory supplement to heat-stressed or actively cooled cows during late gestation on postnatal immunity, health, and growth of calves. *Journal of Dairy Science* 100: 7659–7668.

Wang, Y., Burton, J. & Forsberg, N. 2005. Microarray analysis of the immunoregulatory actions of OmniGen-AF in periparturient dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 88 (Supplement 1): 220.

Wang, Y., Puntenney, S.B., Burton, J.L. & Forsberg, N.E. 2007. Ability of a commercial feed additive to modulate expression of innate immunity in sheep immunosuppressed with dexamethasone. *Animal* 1: 945–951.

Wang, Y.-Q., Puntenney, S.B., Burton, J.L. & Forsberg, N.E. 2009. Use of gene profiling to evaluate the effects of a feed additive on immune function in periparturient dairy cattle. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 93: 66–75.

Weber, P.S.D., Madsen, S.A., Smith, G.W., Ireland, J.J. & Burton, J.L. 2001. Pre-translational regulation of neutrophil L-selectin in glucocorticoid-challenged cattle. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 83: 213–240.

Wu, Z.H., Yu, Y., Alugongo, G.M., Xiao, J.X., Li, J.H., Li, Y.X., Wang, Y.J., Li, S.L. & Cao, Z.J. 2017. Short communication: Effects of an immunomodulatory feed additive on phagocytic capacity of neutrophils and relative gene expression in circulating white blood cells of transition Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 100: 7549–7555.