

УДК 619 : 615.37 : 576.8.097.3 : 636.5

## ВЛИЯНИЕ ТИМОГЕНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ ОРГАНОВ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ

Беляева С.Н., младший научный сотрудник

Белгородская государственная сельскохозяйственная академия (БелГСХА)

**Аннотация:** Статья посвящена иммунокорректору тимоген, с помощью которого можно восстановить функциональную активность иммунной системы цыплят-бройлеров.

**Summary:** The paper is devoted to the theme of immunocorrector thymogen, with help of them it is possible to recover the functional activity of chicks' immune system.

**Ключевые слова:** птицеводство, иммунная система цыплят-бройлеров, иммунокорректор тимоген.

**Key Words:** poultry industry, immune system of the chickens-broilers, immunocorrector Thymogen (Glu-Trp).

Иммунная система — это структурно-функциональная совокупность лимфоидной ткани, которая обеспечивает специфический гомеостаз внутренней среды организма. Стресс-факторы, характерные для современного птицеводства, вызывают угнетение функциональной активности иммунной системы цыплят. Если в иммунокомпетентных органах не произошли серьезные деструктивные изменения, приобретенные иммунодефициты обратимы, но только после устранения вызвавших их причин [2, 3].

Однако период их восстановления даже в оптимальных для птицы условиях среды может оказаться долгим. Его можно значительно сократить с помощью фармакологических средств — иммунокорректоров. С этой целью был испытан 0,01%-ный раствор тимогена. Это синтетический дипептид (глутамил-триптофан), разработанный ЗАО МБ НПК «Цитомед» (г. Санкт-Петербург), в результате экспериментальных исследований цитомединов, выделенных из тимуса [5].

### Материал и методы

Во время лабораторных испытаний 0,01%-ного раствора тимогена в условиях вивария, на базе *Wroclaw University of Environmental and Life Sciences* (Вроцлавского государственного сельскохозяйственного университета, Польша), объектом исследования служили цыплята-бройлеры кросса «Росс-508» в течение 42-х

дней выращивания — I серия опыта. Цыплята, содержащиеся в клеточных батареях, по принципу пар-аналогов были разделены на опытные (II, III, IV) и контрольные группы (I, IIa, IIIa, IVa) по 20 голов в каждой. Препарат вводили клинически здоровым птицам различными методами: парэнтерально — внутримышечно в дозе 0,1 мл/кг массы тела птицы — II и III группам и перорально в дозе 0,1 мл/гол. — IV группе, и в разные периоды онтогенеза: с 5-х по 14-е сутки — II и III группам и с 15-х по 24-е сутки откорма — IV группе в течение 10 дней с учетом возрастных физиологических иммунодефицитов. Методом проточной цитофлюориметрии определяли иммунофенотипирование клеток периферической крови и лимфоидных органов птицы (тимуса, бursы и селезенки) — количество Т- и В-лимфоцитов (CD3 и CD19), а также субпопуляции Т-лимфоцитов (TCR, CD4 и CD8) на цитометре *FACS Calibur* фирмы *Becton Dickinson* (США) с про-

граммным обеспечением *Cell Quest* на 15-е, 21-е, 26-е и 35-е сутки выращивания цыплят.

Производственная часть эксперимента проходила на птицефабрике ООО «Лопанское» Белгородского агрохолдинга «БЭЗРК-Белгранкорм» Белгородской области на 58,2 тыс. цыплятах-бройлерах кросса «Хаббард F 15» — II серия опыта. Условия содержания (напольное выращивание) и кормления птицы (гранулированным комбикормом по ГОСТ Р 51851-2001) были идентичными. В опытной V группе цыплятам-бройлерам (n=29200) применяли методом выпойки 0,01%-ный раствор тимогена в дозе 0,1 мл/гол/сут. в течение 7 дней, с 15-х по 21-е сутки

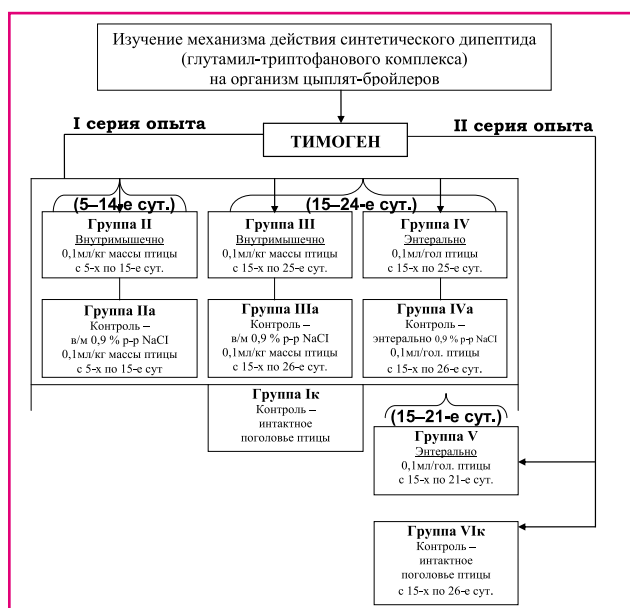


Рис. 1 Алгоритм исследований

откорма, дополнительно к основным лечебно-профилактическим мероприятиям, установленным в хозяйстве. В контрольной VІk группе цыплятам ( $n=29000$ ) тимоген не применяли. Учетный период продолжался до конца откорма бройлеров (рис. 1).

Гистологические исследования органов иммуногенеза проводили после декапитации птицы во II серии эксперимента, на 42-е сутки, учитывая отправные критерии, разработанные для определения иммуносупрессии и иммунодефицитов у птицы [4]. Для морфологического изучения иммунокомпетентных органов у подопытных цыплят V и VІk групп отбирали тимус, фабрициеву сумку и селезенку ( $n=6$ ). Материал фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина. Гистологические препараты приготавливали по общепринятым методам, окрашивая гематоксилин-эозином и просматривая под сканирующим микроскопом «Микмед-2» установки «Видео-тест».

### Результаты исследований

Известно, что периферические органы иммунитета птицы отличаются тем, что заселяются Т- и В-клетками в разное время постнатального развития цыпленка и подвергаются динамичным колебаниям численности в период наблюдения, за исключением лимфоцитов крови [2].

Данное положение подтвердилось и в ходе нашего эксперимента: процентное соотношение количества Т- к В-лимфоцитам в разные периоды жизни цыплят оставалось одинаковым, при этом Т-клетки значительно доминировали около 70% в периферической крови по отношению к В-клеткам, а соотношение Т- и В-лимфоцитов оставалось постоянным: Т-(65–85%) / В-(15–35%). Так, в периферической крови из общего количества лейкоцитов преобладало процентное содержание лимфоцитов (до 75–80%). Затем наблюдалось их снижение до 60% за счет увеличения других видов лейкоцитов, в частности, псевдоэозинофилов с 15 до 30%. Таким образом, в первые дни жизни птицы более активно функционирует клеточный иммунитет.

С возрастом у цыплят, по мере морфофункциональной зрелости иммунной системы (вторая—третья неделя жизни), начинает более активно включаться гуморальный иммунитет, функциональная активность которого зависит от присутствия В-лимфоцитов, начинающих активно продуцировать АТ и, как следствие этого, формируется приобретенный иммунитет. Достоверное увеличение В-лимфоцитов происходило с 15-х по 35-е сутки исследования птицы с  $3,70 \pm 0,61$  до  $8,35 \pm 0,60\%$ .

Цитофлюориметрическая оценка уровня лимфоцитов в крови птицы показала, что функциональная активность клеточного иммунитета в разные периоды онтогенеза была выше у цыплят, которым применяли 0,01%-ный раствор тимогена [1].

Так, количество Т-лимфоцитов в разные периоды онтогенеза было выше у опытных групп, в отличие от дополнительных контролей, от 8% до 44%.

Известно, что не только количество иммунокомпетентных клеток в крови, но и соотношение их субпопуляций играет важную роль для согласованной координации иммунологического ответа, происходящего в организме.

Так, объективным тестом, позволяющим оценить функцию лимфоцитов, служит регуляторный индекс, определяемый как соотношение CD4/CD8, который часто снижен при иммунодефицитных состояниях [3, 7]. Регуляторный индекс был выше у всех групп (II, III и IV), которым дополнительно вводили раствор дипептида от 9 до 40%.

Увеличение количества CD4-клеток в опытных группах свидетельствует о повышении реактивности лимфоцитов и доминировании Т-хелперов, в то время как увеличение CD8 свидетельствует о снижении лимфоцитарной активности клеток. Особенно это выражено было на 21-е сутки выращивания птицы, где снижение данного показателя у контрольных групп цыплят доходило до 40% по сравнению с опытными группами цыплят при  $p < 0,05$ . В то же время динамика цитотоксических клеток, экспрессирующих CD8 рецепторы на своей поверхности, существенно не изменялась за весь

исследуемый период у наблюдаемых групп бройлеров. Возрастание же количества CD4 Т-клеток свидетельствует об активации как клеточного иммунитета через 1-й класс Т-хелперов по линии активации макрофагов с помощью секреции цитокинов, так и гуморального звена, в виде продукции антител, через участие 2-го класса Т-хелперов.

Наблюдаемые эффекты в опыте согласуются с литературными данными по проявлению на третьей неделе жизни у цыплят возрастных физиологических иммунодефицитов [2, 9]. Приведенные выше показатели подтверждают иммуномодулирующее действие тимогена на организм цыплят-бройлеров, у которых уровень клеточного звена выражен активнее. А уровень естественных киллерных клеток, представленных рецепторами  $\gamma\delta$  цепи TCR — молекулы клеточной поверхности Т-лимфоцитов, отвечающих за специфическое распознавание комплекса МНС — выше на 20–50%, обеспечивая тем самым первую линию защиты организма против основных бактерий и выполняя важную роль в защите слизистых оболочек от инфекций.

Полученные результаты во время проведения эксперимента в исследуемых группах цыплят свидетельствуют о непрямом действии АКТГ (адренкортикотропного гормона) на лимфоидные ткани через рецепторные механизмы нейроиммунноэндокринной системы организма, регулирующих иммунные процессы. Это отразилось на процессах пролиферации и дифференциации Т-лимфоцитов как в самом тимусе из недифференцированных предшественников Т-клеток, так и на активизации выработки собственных клеток, несущих на своей поверхности рецептор TCR, в миелоидной ткани костного мозга из единой полипотентной клетки, приведя к увеличению количество клеток с рецепторами TCR в 5 раз.

Механизм непрямого действия АКТГ или стрессора проявляется не только в снижении массы тела цыплят, наблюдаемой в I и во II сериях эксперимента, но и в массе лимфоидных органов (тимуса, фабрициевой сумки и селезенки), что

изображено на графиках 1, 2, 3 и 4 для I серии опыта (рис. 2).

Отображенные на графиках данные свидетельствуют об изменениях, происходящих в растущем организме цыплят и снижении иммунологической реактивности в контрольных группах. Известно, что

Так, в I группе цыплят (общий контроль) количество общего белка в сыворотке крови имело тенденцию к достоверному увеличению с 5-х по 26-е сутки — с 17 г/л до 34 г/л, но в дальнейшем концентрация его оставалась неизменной — 33,22 и 33,65 г/л. В опытных группах цыплят наблюда-

мероприятий — с 15-х по 21-е сутки выращивания, в течение 7 дней, методом выпаивания в дозе 0,1 мл/гол.

Проведенные нами гистологические исследования иммунокомпетентных органов (тимуса, бursы и селезенки) цыплят-бройлеров в производственных условиях позволили выяснить иммунологический статус поголовья — определить уровень иммунодефицитного состояния птицы и биостимулирующее действие иммунокорректора тимогена.

Наши исследования совпадают с исследованиями других авторов, которые установили, что более тяжелые иммунодефицитные состояния развиваются сначала в фабрициевой сумке, а затем в тимусе и селезенке [4, 8]. Таким образом, по гистологическому состоянию фабрициевой сумки (при отсутствии возможности полной морфологической экспертизы) можно ориентировочно судить об иммунодефицитных состояниях у бройлеров.

Так, в контрольной группе (рис. 3) наблюдали слабо выраженную зональность фолликулов бursы. Размеры их были уменьшены, разобщены широкими просветами с соединительнотканными волокнами, а контуры округлые. Кортковое вещество было представлено несколькими рядами клеток, а нередко эпителиальный слой располагался на периферии фолликулов. Наблюдалось обеднение или резкое снижение лимфоцитов в фолликулах, представленных в основном blastными

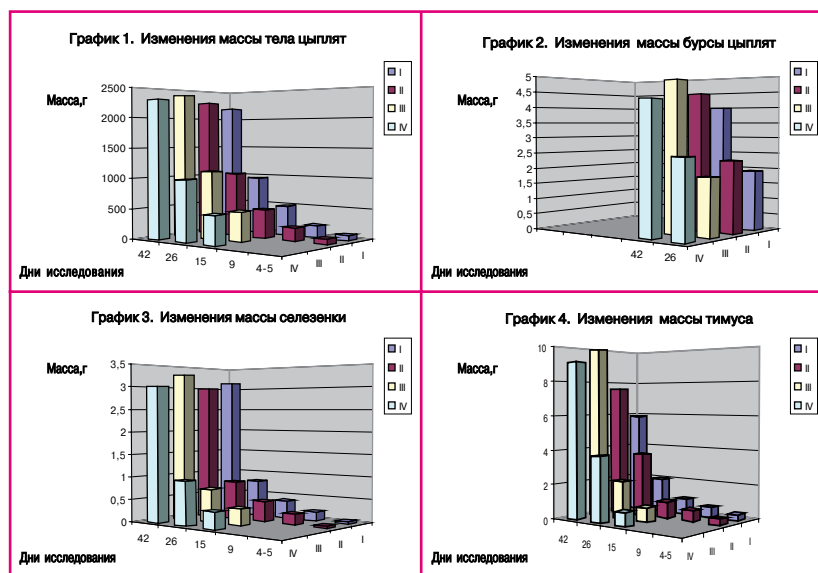


Рис. 2. Динамика роста и развития цыплят-бройлеров за весь период выращивания (42 дня)

нормальный рост и развитие бursы и тимуса (центральные органы иммунитета), их функциональная активность в процессе постнатального онтогенеза могут служить критерием оценки обмена веществ организма птиц, и оптимальности течения биохимических процессов [2].

Сопоставляя данные по функциональному состоянию иммунной системы птиц и массе иммунокомпетентных органов, можно сделать вывод, что вес тимуса коррелирует с содержанием Т-лимфоцитов в крови, а масса бursы — с количеством В-лимфоцитов и иммуноглобулинов, так как при увеличении у опытных цыплят массы данных органов отмечается увеличение количества Т- и В-лимфоцитов и иммуноглобулинов.

Иммуностимуляторы относятся к регуляторам обмена веществ (эрготропикам), которые направляют энергию питательных веществ на повышение продуктивности, что характеризуется увеличением синтеза белка, а следовательно, и массы иммунокомпетентных органов.

лась иная закономерность: достоверное увеличение концентрации белка прослеживалась до конца откорма. Это подтверждает более динамичное развитие птицы в этих группах. К 42-м суткам выращивания цыплят разница по уровню белка между I контрольной группой ( $33,65 \pm 2,26$  г/л) и опытными группами птицы имела следующие значения: для II группы была выше на 14% (38 г/л) — внутримышечное введение 0,01%-ного раствора тимогена с 5-х по 14-е сутки в дозе 0,1мл/гол/сут.; III — 20% при  $p < 0,05$  (40 г/л) — внутримышечно с 15-х по 24-е сут. и IV — 11% (37 г/л) — энтерально с 15-х по 24-е сутки выращивания в дозе 0,1 мл/гол.

Таким образом, на основании полученных иммунобиохимических показателей крови и иммунокомпетентных органов цыплят, была разработана наиболее рациональная схема применения 0,01%-ного раствора дипептида в условиях промышленного птицеводства и в последующем апробирована на птицефабрике в составе лечебно-профилактических

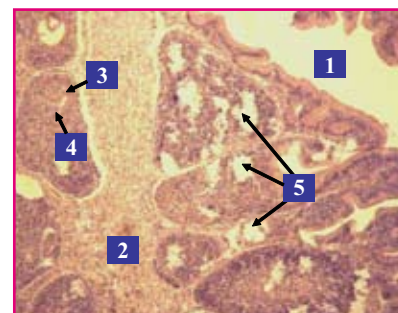


Рис. 3. Бурса цыплят контрольной группы. Иммунодефицитное состояние. Окраска: Г+Э. Ув. 10×16. 1 — складка слизистой оболочки; 2 — прослойка рыхлой соединительной ткани; 3 — корковая зона; 4 — мозговая зона; 5 — множественные кисты





**Рис. 4. Бурса цыплят контрольной группы. Образование кисты. Окраска: Г+Э. Ув. 40×16.**  
1 – прослойка рыхлой соединительной ткани; 2 – киста



**Рис. 5. Бурса цыплят опытной группы. Выражена зональность органа. Окраска: Г+Э. Ув. 40×16.**  
1 – фолликулы; 2 – прослойки рыхлой соединительной ткани; 3 – корковая зона; 4 – мозговая зона; 5 – плазмциты; 6 – лимфоциты



**Рис. 6. Бурса цыплят опытной группы. Активизация корковой зоны. Окраска: Г+Э. Ув. 40×16.**  
1 – складка слизистой оболочки; 2 – прослойка рыхлой соединительной ткани; 3 – корковая зона; 4 – мозговая зона

формами, и клеток с пиронинофильной цитоплазмой. Мозговое вещество было сильно изрежено: в его центральных зонах наблюдались светлые поля, лишенные лимфоидных клеток. Наряду с этим в органе были видны огромные внутрифолликулярные полости (кисты) (рис. 4).

По морфологическим показателям развития для фабрициевой сумки контрольной VIк группы характерно иммунодефицитное состояние третьей степени.

По сравнению с контрольной группой (VIк) в фабрициевой сумке опытной группы (V) патологических изменений не наблюдали, на что указывала хорошо выраженная зональность фолликулов, наблюдаемая при морфофункциональной зрелости органа, четко выраженный эпителий с активно пролиферирующими клетками (рис. 5). Корковое вещество было представлено четырьмя-пятью рядами клеток, при этом во многих фолликулах происходило резкое его выпячивание, достигающее до пятнадцати рядов, что является показателем функциональной активности органа (рис. 6). Фолликулы были заполнены лимфоцитами, находящимися на разных стадиях дифференциации, что особенно характерно было для мозгового вещества, где встречались участки гиперсекреции с большим количеством бластных форм клеток при снижении зрелых лимфоцитов. Кроме зрелых В-лимфоцитов, встречались также макрофаги и плазматические клетки, обуславливающие образование антител.

Выявленные иммуноморфологические изменения в первичных и вторичных лимфоидных органах цыплят позволили установить у бройлеров контрольной группы патологическое состояние, соответствующее иммунодефициту третьей степени. Известно, что иммунодефициты третьей степени обратимы, тогда как восстановление нарушенных функций органа с четвертой и пятой степенью иммунодефицита имеет необратимый характер [4].

Цыплята-бройлеры, которым применяли 0,01%-ный раствор тимогена методом выпаивания в дозе 0,1 мл/гол/сут. с 15-х по 21-е сутки выращивания, имели соответствующее возрасту морфофункциональное развитие органов иммуногенеза.

### Заключение

На основании анализа функциональных возможностей иммунитета можно корректно воздействовать на адаптивные системы и прогнозировать течение стресс-реакции. Так как иммунная система «работает» по системе сообщающихся весов, т.е. наличие груза на одной из чашек приводит в движение всю систему [6], то любой иммуномодулятор вне зависимости от направленности действия будет в той или иной степени изменять функциональную активность всей иммунной системы [7]. Известно, что именно тимусу принадлежит основная роль в формировании лимфоидной системы, который не только контролирует созревание и функциональную

активность лимфоцитов, но и осуществляет иммунный надзор всего организма. Т-система птиц, как и у млекопитающих, является эффектором клеточного иммунитета, хелпером и супрессором гуморального ответа [2, 9], одновременно поддерживая в равновесии весь иммунологический аппарат и участвуя в адаптивно-компенсаторных процессах иммуногенеза.

Таким образом, иммунокорректор тимоген (0,01%-ный раствор) проявляет свое иммунокорректирующее действие на функциональную активность иммунной системы цыплят-бройлеров в критические периоды ее развития — на 5- и 15-е сутки выращивания. Тимоген может применяться различными способами введения как внутримышечно в дозе 0,1 мл/кг в течение 10 дней, так и энтерально (методом выпаивания) в дозе 0,1 мл/гол/сут. в течение 7 или 10 дней.

При промышленном выращивании цыплят-бройлеров рекомендуется применять 0,01%-ный раствор тимогена методом выпаивания, в дозе 0,1 мл/гол/сут., в течение 7 дней, дополнительно к основным лечебно-профилактическим мероприятиям, установленным на птицефабриках. □

Список литературы доступен на сайте

Для контактов с автором:  
Беляева Светлана Николаевна  
e-mail: behsveta2@yandex.ru