

## ДЕЯКІ ПОКАЗНИКИ КЛІТИННОГО ІМУНІТЕТУ У ПОРОСЯТ ПІСЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ ІМУНОМОДУЛЯТОРА ТИМУСНОГО ПОХОДЖЕННЯ

*Н. О. Салига, Р. Я. Іскра*

Інститут біології тварин УААН

*Наведено результати дослідження впливу імуномодулятора тималіну на клітинний імунітет у поросят у ранньому віці. Встановлено, що введення поросят досліджуваного імуномодулятора приводить до підвищення у крові загальної кількості лейкоцитів, лімфоцитів, загальної кількості Т-лімфоцитів і Т-лімфоцитів-хелперів*

**Ключові слова:** ПОРОСЯТА, ІМУННА СИСТЕМА, ІМУНОМОДУЛЯТОРИ, ЛІМФОЦИТИ, ТИМАЛІН

Тималін — препарат поліпептидної природи, отриманий шляхом екстракції з тимусу великої рогатої худоби. Він володіє імунобіологічною активністю: регулює кількість і співвідношення Т та В лімфоцитів і їх субпопуляцій, посилює фагоцитоз, стимулює реакції клітинного імунітету та імунної відповіді на тимус-залежні антигени [1, 2]. Результати проведених раніше досліджень показали, що пептиди, які містяться в тималіні, при взаємодії з поверхневою мембраною Т-лімфоцитів активують експресію специфічних рецепторів і підвищують їх функціональну активність [3]. Було висловлено припущення, що фактор тимусу відноситься до групи клітинних медіаторів пептидної природи (цитомединів), які регулюють міжклітинні взаємодії в системі імунітету. Виходячи з цього, імуномодулюючу дію пептидів тимусу можна пояснити їх впливом на співвідношення субпопуляцій Т-лімфоцитів, які знаходяться на різних стадіях свого розвитку. При більшості вивчених імунодефіцитів в крові тварин при введенні тималіну виявлено збільшення кількості В-лімфоцитів, які несуть на своїй поверхні імуноглобуліни. Це дає підстави вважати, що тималін, як і інші поліпептиди, які містяться в тимусі, впливають на процеси диференціювання Т- і В-лімфоцитів. У літературі є дані про те, що специфічна індукція диференціювання імунокомпетентних клітин під дією пептидних факторів тимусу супроводжується змінами внутрішньоклітинного вмісту циклічних нуклеотидів — цАМФ і цГМФ, матричної активності хроматину і активності ферментативних систем обміну нуклеотидів [1, 4, 5].

У зв'язку з цим, тималін є ефективним препаратом для корекції вторинної імунологічної недостатності. Цим зумовлена актуальність вивчення дії тималіну на імунну резистентність молодняку сільськогосподарських тварин, зокрема поросят, при імунодефіцитах. У дослідженнях проведених нами раніше було встановлено позитивний вплив тималіну на клітинний та гуморальний імунітет у поросят раннього віку [6, 7]. Метою даної роботи було спростити схему введення імуномодулятора тималіну поросят за рахунок збільшення його дози та зменшення кратності застосування.

### Матеріали і методи

Дослідження проведені на двох групах поросят, по 5 голів у кожній, протягом першого місяця після народження. У 3-, 10- і 20-денному віці поросят дослідної групи внутрішньом'язово вводили тималін у дозі 6 мг на голову. Поросят контрольної групи (К) замість вказаного препарату вводили відповідний об'єм 0,9 % розчину NaCl.

Для біологічних досліджень від поросят обох груп одержували кров шляхом пункції передньої порожнистої вени на 10-, 20- і 30-й день. У цільній крові визначали кількість

лейкоцитів (у камері Горяєва), лейкоцитарну формулу (Кондрахин І. П., Курилов Н. В., 1985), кількість лімфоцитів окремих субпопуляцій (Чумаченко В. С., Высоцкий Н. А., 1990), фагоцитарну активність нейтрофілів (Масляноко Р. П., 1987). У сироватці крові визначали активність комплементу (Желтова В. О., Чекопиго В. І., 1978). Цитологічний аналіз клітин проводили шляхом фарбування фіксованих метанолом висушених мазків за методом Романовського-Гімза.

Одержані дані опрацьовували статистично.

### Результати й обговорення

Період раннього онтогенезу поросят відноситься до одного з найбільш критичних етапів їх розвитку, що характеризується рядом особливостей. Це стосується як розвитку загальних фізіологічних функцій у поросят, так і особливо формування імунної системи, котра відіграє важливу роль у захисті їх від інфекцій. Відомо, що після споживання молозива в крові поросят відбувається збільшення кількості лейкоцитів, особливо лімфоцитів, загального білка і імуноглобулінів [8, 9]. Результати наших досліджень (табл. 1) свідчать про достовірне збільшення загальної кількості лейкоцитів у крові поросят дослідної групи в 30-денному віці життя ( $p < 0,001$ ), порівняно до їх кількості в крові поросят контрольної групи. Це збільшення можна пояснити імуностимулюючим впливом тималіну, як антигенного подразника організму, і адекватною відповіддю організму на введення антигену.

Таблиця 1

**Вплив тималіну на вміст лейкоцитів у крові поросят ( $M \pm m$ ;  $n=5$ )**

Показники	Групи тварин	Вік тварин, дні		
		10	20	30
Лейкоцити $10^9/\text{л}$	Д	$5,00 \pm 0,27$	$6,30 \pm 0,34$	$8,90 \pm 0,43^{***}$
	К	$5,20 \pm 0,25$	$5,50 \pm 0,47$	$6,10 \pm 0,37$
Сегментоядерні нейтрофіли, %	Д	$26,20 \pm 1,65^{**}$	$28,00 \pm 1,67$	$24,20 \pm 2,31$
	К	$34,30 \pm 1,25$	$26,60 \pm 1,94$	$23,40 \pm 1,17$
Лімфоцити, %	Д	$71,60 \pm 1,99^{**}$	$68,80 \pm 1,20$	$65,40 \pm 2,31$
	К	$63,80 \pm 1,20$	$68,40 \pm 2,11$	$69,00 \pm 0,84$

Примітка: у цій і наступних таблицях, \* — статистично вірогідні різниці між досліджуваними показниками у тварин дослідної групи, порівняно до контрольної; \* —  $P < 0,05$ ; \*\* —  $P < 0,01$ ; \*\*\* —  $P < 0,001$

Загальна кількість лімфоцитів в крові поросят дослідної групи в 10-денному віці була вірогідно більша, ніж в крові поросят контрольної групи ( $p < 0,01$ ), а в 20- і 30-денному віці аналогічні різниці не були вірогідними. Що стосується сегментоядерних нейтрофілів — основних клітин білої крові, які відіграють важливу роль у фагоцитозі чужорідних антигенів, то їх кількість у крові поросят на 10-й день після народження була достовірно нижча, ніж в крові поросят контрольної групи ( $p < 0,01$ ), а в 20- і 30-денному віці міжгрупові різниці в цьому показнику були не вірогідні.

Здатність організму тварин відповідати на будь-який антиген забезпечується різними популяціями лімфоцитів, кожна з яких має специфічні рецептори до певних антигенів. Лімфоцити відрізняються між собою функціональними властивостями.

Наші дослідження показали, що введення поросятим тималіну, приводить до збільшення на поверхні Т-лімфоцитів кількості рецепторів, здатних взаємодіяти з більшою кількістю антигенних детермінант, внаслідок чого зростає активність імунної відповіді організму.

Таблиця 2

**Показники Т- і В-клітинного імунітету поросят при введенні тималіну, % ( $M \pm m$ ;  $n=5$ )**

Показник	Групи тварин	Вік тварин, дні		
		10	20	30
Загальні	Д	$24,40 \pm 1,80$	$21,20 \pm 1,28$	$23,80 \pm 1,16$

(E – РУЛ) 3–5	К	25,00±0,95	18,00±1,05	24,00±1,58
6–10	Д	8,40±0,93	8,80±0,73	8,20±0,48
	К	6,80±0,66	5,40±0,74	9,00±0,45
>10	Д	1,60±0,24	1,20±0,20**	2,40±0,24
	К	2,00	0,40	2,00
%	Д	34,40±2,60	31,20±1,20**	34,40±1,54
	К	33,80±1,12	23,80±1,15	35,00±1,51
Теофілін-резистентні Т-хелпери, 3–5	Д	12,20±1,02	16,20±1,46	18,80±1,65
	К	11,80±0,74	12,60±0,87	17,60±1,63
6–10	Д	6,00±0,45	7,60±0,68	9,00±0,95*
	К	6,20±0,80	6,80±0,73	6,20±0,58
>10	Д	0,80	1,80	1,60±0,24
	К	1,00	1,00	—
%	Д	19,00±1,34	25,60±1,03*	29,40±1,80*
	К	19,00±1,18	20,40±1,77	23,80±1,24

У результаті досліджень встановлено (табл. 2), що після введення поросятим тималіну в їх крові вірогідно збільшилась кількість загальних Т-розеткоутворюючих лімфоцитів (E-РУЛ) на 20-й день ( $p < 0,01$ ) порівняно до їх кількості в крові тварин контрольної групи. Кількість Т-хелперів у крові поросят дослідної групи була більша на 20-й та 30-й день ( $p < 0,05$ ), ніж у крові поросят контрольної групи. Тималін, як показали проведені дослідження, підвищує функціональну активність Т-хелперів, про що свідчить вірогідне збільшення кількості клітин із середньою щільністю рецепторів у крові поросят у 20-денному віці. При цьому, кількість загальних Т-розеткоутворюючих лімфоцитів в крові поросят дослідної групи за щільністю поверхневих рецепторів істотно не відрізнялась від їх кількості в крові поросят контрольної групи.

Згідно з сучасними уявленнями, в організмі тварин поряд з функціонуванням специфічних до окремих антигенів механізмів реагування (імуноглобуліни різних класів, реакції клітинного імунітету), наявні філогенетично більш старі фактори неспецифічної резистентності організму. Ця форма резистентності забезпечує першу лінію захисту організму до ушкоджуючих факторів і лежить в основі природного імунітету. Вона діє на початкових стадіях захворювання, тоді як функція специфічного імунітету проявляється на більш пізніх стадіях. Дослідження факторів природного імунітету у здорових поросят раннього віку дуже важливо, тому що дозволяє оцінити захисний потенціал новонародженого організму, його адаптаційні властивості до умов позаутробного існування. Наші дослідження показали (табл. 3), що фагоцитарна активність нейтрофільних гранулоцитів крові, оцінювана за НСТ-тестом, у поросят обох груп знаходилась на одному рівні і суттєво не змінювалась після введення імуномодулятора тималіну.

Таблиця 3

**Вплив імуномодулятора тималіну на показники природного імунітету у поросят ( $M \pm m$ ;  $n=5$ )**

Показник	Група тварин	Вік тварин, дні		
		10	20	30
НСТ-тест, %	Д	27,40 ± 1,33	27,60 ± 0,40	28,20 ± 0,37
	К	28,20 ± 0,66	26,40 ± 0,74	27,20 ± 1,02
Комплементарна активність сироватки крові, ум.од.	Д	0,052 ± 0,006	0,052 ± 0,001	0,054 ± 0,007
	К	0,054 ± 0,007	0,052 ± 0,006	0,052 ± 0,006

Безпосередню участь у природній резистентності та специфічних реакціях імунітету бере система комплементу. Становлення найважливіших функцій комплементу (очищення крові від імунних комплексів, лізуюча дія на клітини, нейтралізація вірусів, імунорегуляторна дія) відбувається пізніше, ніж розвиток інших факторів імунітету. Через плацентарний бар'єр комплемент не проникає, тому плід свині не може отримати їх від матері.

У результаті проведених досліджень не виявлено вірогідних різниць комплементарної активності сироватки крові поросят при введенні їм різних доз тималіну, що узгоджується з даними інших авторів [10, 11] про відносну стабільність цього захисного фактора.

## Висновки

Встановлено, що введення поросят у 10-, 20- і 30-денному віці імуномодулятора тималіну приводить до підвищення загальної кількості Т-лімфоцитів і Т-лімфоцитів-хелперів, а також кількості лейкоцитів та лімфоцитів у крові.

*N. O. Salyha, R. Ya. Iskra*

## SOME EXPONENTS OF CELL IMMUNITY AFTER USING THYMUS IMMUNOMODULATOR

### Summary

The influence of immunomodulator thymalin on cell immunity of young age piglets was investigated. It has been shown that use this immunomodulator thymalin increased the relative number of lymphocytes and decreased the relative number neutrophils.

The Institute of Animal Biology of the Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Lviv

1. Иммунобиология гормонов тимуса. Под ред. Ю. А. Гриневича, В. Ф. Чеботарева. — К.: Здоровья, 1989. — 150 с.

2. Полипептидный фактор тимуса — тималин в эксперименте и клинике / Софронов Б. Н., Морозов В. Г., Хавинсон В. Х. и др. // Физиология человека. — 1984. — Т. 10, № 2. — С. 229–233.

3. Морозов В. Г., Хавинсон В. Х. Новый класс биологических регуляторов многоклеточных систем-цитомедины // Успехи соврем. биологии. — 1983. — Т. 96, № 3. — С. 339–352.

4. Вплив низькомолекулярного фактора виличкової залози на лімфоцити крові людини. / Ялкуп С. І., Котова С. О., Безвершенко І. А., Білова О. Б., Премислов В. Х.. // Доп. АН УРСР. Сер. Б. Геол., хім. та біол. науки. — 1989. — № 12. — С. 68–69.

5. Trainin N., Pecht M., Handzel Z.T. Thymic hormones: inducers and regulators of the T-cell system. — Immunology Today. — 1983. — V. 4. — № 1. — P. 269–273.

6. Салига Н., Віщур Щ. Формування Т- і І-системи клітинного імунітету під впливом імуномодулятора тималіну // Вісник Львівського університету. — 2002. — Серія біологічна. — Вип. 29. — С. 165–170.

7. Салига Н. О., Снітинський В. В. Вплив імуномодуляторів риботан та левамізолу на показники клітинного імунітету у поросят в період раннього онтогенезу // Біологія тварин. — 2003. — Т. 5. — № 1–2. — С. 144–148.

8. Взаимодействие клеточного и гуморального звеньев иммунной системы у свиней в процессе их роста и развития. / Бакшеев А. Ф., Ефанова Н. В., Бакшеева К. А., Осина Л. М. // Актуальные вопросы ветеринарии: Материалы научно-практической конференции факультета ветеринарной медицины НГАУ, Новосибирск. — 2001. — С. 56–58.

9. Butler J. E., Sun J., Weber P. et al. Antibody repertoire development in fetal and neonatal piglets. II Colonisation of the gastrointestinal tract selectively diversifies the preimmune repertoire in mucosal lymphoid tissues // Immunology. — 2000. — Vol. 100. — P. 119–130.

10. Tizard J. Immunity in the fetus and newborn // Vet. Immunol. Introduct. — W. B. Saunders. Philadelphia. — 1987. — P. 171–184.

11. Tyler J. W., Cullor J. S. Ontogeny of third component of complement in neonatal swine // Am. J. Vet. Res. — 1989. — V. 50. — P. 1141–1144.

12. Карпуть И. М. Иммунная реактивность свиней. — Минск.: Ураджай, 1981. — 143 с.

13. *Sun J., Hayward C.* Antibody repertoire development in fetal and neonatal piglets // *J. Immunol.* — 1998. — Vol. 161. — P. 5070–5078.