

## Формирование колострального иммунитета и становление неспецифической резистентности у новорождённых телят-трансплантантов под действием иммуотропных препаратов микробного происхождения\*

**В.И. Сорокин**, к.б.н., **А.П. Жуков**, д.в.н., профессор, **Е.Б. Шарафутдинова**, к.б.н., **М.А. Пойманов**, аспирант, ФГБОУ ВО Оренбургский ГАУ

Если при искусственном осеменении используется потенциал производителей – их сперма, то при трансплантации эмбрионов используется потенциал самок – их яйцеклетка, которая оплодотворяется, превращаясь в процессе дробления в эмбрион [1]. При трансплантации эмбрион, полученный от донора, является для реципиента аллотрансплантантом и действует так же как антиген, но при этом вызывает более сильный иммунный ответ, чем оплодотворённая клетка собственного организма, в результате чего эмбрион должен бы отторгаться. Тем не менее он не отторгается, так как в организме реципиента образуются иммуносупрессорные факторы, которые и оберегают эмбрион [2, 3].

Техника трансплантации эмбрионов в настоящее время достаточно широко разработана и предстоит лишь её совершенствовать, но до сих пор управлению и коррекции иммунного статуса новорождённых телят-трансплантантов уделяется мало внимания [4].

**Целью настоящего исследования** явилось изучение влияния иммуотропных препаратов

природного происхождения – спорономина жидкого и споропротектина на иммунобиологическое состояние коров-реципиентов в третьем триместре стельности и телят, полученных от них.

**Материал и методы исследования.** Исследование проведено в условиях НПО «Южный Урал» Саракташского района, где были подобраны две группы стельных коров-реципиентов симментальской породы, которым были трансплантированы эмбрионы от коров герефордской породы.

Коровам-реципиентам за 30 дней до отёла вводили интраперитонеально по 5 мл споропротектина и в течение недели с концентратами задавали спорономина из расчёта 0,5 мл на 1 кг живой массы. Коровы контрольной группы препараты не получали.

В качестве средств коррекции были использованы препараты А.В. Воробьева [5]: перорально – спорономина жидкий, состоящий из *Bacillus subtilis*, штамма ВКПМ – 2335, *Bacillus Licheniformis* штамма ВКПМ – 2336 и *Lactobacillus acidophilus*. В 1 мл препарата содержится  $1...2 \times 10^9$ /л представителей рода *Bacillus* и не менее  $2...5 \times 10^9$  представителей родов *Lactobacillus*. Интраперитонеально вводили споропротектин, состоящий из полного бактериального комплекса непатогенных бактерий *Bacillus subtilis*, штамм

\* Статья подготовлена при грантовой поддержке правительства Оренбургской области.

ВКПМ – 2335, *Bacillus Licheniformis* штамм ВКПМ – 2336.

В течение опыта постоянно велись наблюдения за состоянием здоровья и выраженностью аппетита у животных. Полученных от коров-реципиентов телят разделили на две группы по 10 гол. в каждой. Опытная группа состояла из телят, полученных от коров, которых обрабатывали препаратами.

Кровь от телят-трансплантантов получали в утренние часы до кормления по схеме: 1-е сутки – до кормления молозивом, а также на 5-, 30- и 60-е сутки.

При проведении работы использовались клинико-физиологические методы, гематологические с исследованием на автоматическом геманализаторе ВС-2800vet, биохимические – с использованием диагностических наборов ЗАО «ЭКОлаб» и автоматического биохимического анализатора BS-380, иммунологических – по содержащимся в ГОСТах методикам в условиях комплексной межкафедральной аналитической лаборатории университета.

Цифровой материал экспериментальных данных обработан методом вариационной статистики с применением программного комплекса Microsoft Excel 7.0.

**Результаты исследования.** Клинический статус новорождённых телят-трансплантантов характеризовался параметрами и тестами, свойственными для животных этой породы (табл. 1). Так, при рождении температура тела молодняка была близкой к 39,4°C, пульс – 141,6±6,83 – 146,2±6,19 ударов в минуту и 50,1±6,96 – 50,7±6,44 дыхательных движений в минуту. Телята опытной группы попытку подъёма на конечности и стояния в течение 45–78 сек. осуществляли на 67,8±4,38-й мин., а их сверстники из контрольной группы – на 68,9±3,69-й мин. Масса тела телят при рождении была сравнима и равнялась 32,3±1,83 кг. Сосательный рефлекс появлялся на 72,4±4,78-й и 74,3±4,84-й мин. соответственно у телят опытной и контрольной группы, сила и частота сосательных движений различались незначительно.

Среднесуточный прирост массы тела после 1-го месяца жизни у телят опытной группы был равен 353,4±27,86 г, в контрольной – 318,2±18,43 г. На 5-е сутки жизни у телят регистрировали уменьшение массы тела на 1,5–2,0 кг, что было связано с реализацией процесса адаптации и преобладания процессов энергетического обеспечения над пластическими. Начиная с месячного возраста, у телят обеих групп прослеживалась тенденция к более интенсивному набору массы тела. Более энергично этот процесс проходил в опытной группе, и уже к 2-месячному возрасту молодняк опытной группы превосходил контрольных сверстников на 7,5±1,85 кг (P<0,05).

Гуморальные факторы неспецифической резистентности представлены разнообразными белками и пептидами, содержащимися в крови и других жидкостях организма. Обладая антимикробными свойствами, они способны активировать друг друга, а также стимулировать фагоцитарные клетки. Основным из них является бактерицидная активность сыворотки крови (БАСК), считающаяся финальным отображением противомикробных процессов, вызванных комплексом гуморальных факторов естественной защиты [6].

Определено, что после выпойки молозива процент бактерицидности повышался в сыворотке крови телят-трансплантантов обеих групп на 9–12 % вне зависимости от стартовых возможностей. Наиболее существенно инициирует ЛАСК выпойка молозива. Так, у телят контрольной группы она увеличилась от 2,74±0,32 % до 23,96±2,78 %, а у сверстников опытной группы – более чем в 9 раз (табл. 2). Комплементарная активность также возрастала у всех наблюдаемых животных в первые 5 сут. жизни на 40–50 ед/л. Характеризуя динамику гуморальных факторов в первые два месяца жизни, следует признать, что наиболее значимые изменения произошли в крови телят-трансплантантов после выпойки молозива.

Клеточные и гуморальные факторы естественной резистентности имеются уже при

#### 1. Клинико-статистические и гравиметрические показатели у новорождённых телят-трансплантантов ( $X \pm S_x$ )

Показатель	Опытная	Контрольная
Количество животных, гол.	10	10
Масса тела при рождении, кг	32,3±1,83	32,2±1,96
Уверенное состояние на ногах, мин.	67,8±4,38	68,9±3,69
Появление сосательного рефлекса, мин.	72,4±4,78	74,3±4,84
Частота сосательных движений в мин.	53,4±4,81	50,2±4,34
Вакуум сосания, кг/см <sup>2</sup>	0,46±0,09	0,39±0,09
Температура тела, °C	39,43±0,67	39,37±0,61
Число сердечных сокращений, уд/мин	141,6±6,83	146,2±6,19
Частота дыхания, дыхательных движ/мин	50,1±6,96	50,7±6,44
Среднесуточный прирост массы тела в 1-й месяц жизни, г	353,4±27,86	318,2±18,43

рождении телят, однако эта система остаётся толерантной и будет функционировать, если не произойдет её активация биологически активными веществами молозива. Особенно мощной является самая древняя в филогенетическом плане форма защиты – система фагоцитоза. Замечено, что количество фагоцитов у новорождённых на единицу массы тела значительно больше, чем у взрослых животных [7]. Но при этом следует учитывать, что среднее число фагоцитированных микробов на один активный фагоцит с возрастом животных увеличивается, особенно это выражено у 2-месячных телят, достигая двукратного передела по сравнению с новорождёнными (табл. 2).

Фагоцитарная ёмкость, фагоцитарное число и показатель фагоцитарной активности нейтрофилов в проведённом опыте были заметно выше у телят опытной группы. Клеточные факторы естественной резистентности существенные изменения претерпели в 2-месячном возрасте, когда экспоненты первого месяца жизни телят практически удвоились (табл. 2).

Лимфоциты являются продуцентами лейконов, некоторых фракций комплемента лизоцима

и интерферона. Кроме того, они участвуют в выработке антител, способствуют реализации иммунного ответа, играют видную роль в гуморальных опосредованных антителами иммунных реакциях, занимают одну из более активных позиций в системе гуморально-клеточной кооперации крови и соединительной ткани [8].

Установлено, что содержание лимфоцитов в крови телят обеих групп при рождении находилось в интервале от  $3,48 \pm 0,29$  до  $3,65 \pm 0,39 \times 10^9/\text{л}$  ( $P < 0,05$ ), и в течение первого месяца жизни эти показатели существенно не отличались. К 2-месячному возрасту насыщение лимфоцитами крови телят опытной группы превышало аналогичный показатель у контрольных сверстников на 20 % (табл. 3). Содержание Т- и В-лимфоцитов в крови телят опытной группы на всех этапах наблюдения превышало результаты в контрольной группе на 3–8 %. За первый месяц жизни насыщение крови Т-лимфоцитами увеличилось у особей контрольной группы всего лишь на 4 %, а опытной – на 2 %, тогда как содержание В-лимфоцитов за этот же период у молодняка обеих групп повысилось на 12 % (табл. 3).

## 2. Динамика показателей неспецифической резистентности телят-трансплантантов ( $X \pm Sx$ )

Показатель	Группа	Возраст, сут.			
		1	5	30	60
БАСК, %	контроль	20,49±1,12	28,24±1,16	33,49±2,08	39,76±3,43
	опытная	23,44±3,18	33,86±2,87	39,98±2,38	43,56±3,74
ЛАСК, %	контроль	2,74±0,32	23,96±2,78	21,53±2,94	29,75±3,17
	опытная	3,18±0,26	28,49±2,68	25,83±3,16	34,95±3,68
Комплемент, ед/л	контроль	147,8±9,11	177,5±12,17	219,6±13,68	208,1±12,83
	опытная	153,2±10,26	192,9±11,69	238,6±12,06	214,9±12,63
ФАНК, %	контроль	29,29±1,78	27,33±2,09	34,58±2,24	50,27±0,72
	опытная	33,07±2,79	30,4±1,96	35,02±2,29	58,83±3,14
Фагоцитарное число	контроль	1,88±0,09	1,63±0,06	2,29±0,12	4,89±0,72
	опытная	2,36±0,09	1,98±0,08	2,85±0,11	5,63±0,79
Фагоцитарная ёмкость, микроб. тел $\times 10^9/\text{л}$	контроль	5,24±0,74	4,81±0,63	5,26±0,74	10,79±0,98
	опытная	6,18±0,89	5,38±0,72	6,95±0,83	12,53±1,13

## 3. Динамика показателей специфического иммунитета у телят-трансплантантов ( $X \pm Sx$ )

Показатель	Группа	Возраст, сут.			
		1	5	30	60
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	контрольная	3,48±0,29	3,98±0,6	4,13±0,39	4,04±0,38
	опытная	3,65±0,39	4,09±0,41	4,49±0,62	4,91±0,54
Т-лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	контрольная	0,76±0,08	0,86±0,09	0,85±0,11	0,91±0,19
	опытная	0,89±0,06	0,98±0,07	0,91±0,06	1,04±0,09
В-лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	контрольная	0,17±0,01	0,29±0,02	0,38±0,03	0,43±0,04
	опытная	0,24±0,02	0,38±0,04	0,48±0,04	0,52±0,05
Общий белок, г/л	контрольная	39,53±2,31	47,93±2,49	50,86±2,73	57,81±2,97
	опытная	44,62±2,59	52,63±3,09	56,89±3,53	62,83±4,08
IgG, г/л	контрольная	0,23±0,06	9,61±0,98	9,36±1,29	10,77±1,26
	опытная	0,29±0,07	10,96±1,19	10,99±1,19	12,84±1,26
IgM, г/л	контрольная	0,41±0,08	1,23±0,24	1,37±0,31	1,48±0,39
	опытная	0,49±0,07	1,34±0,23	1,59±0,21	1,68±0,24

Белки сыворотки крови играют ведущую роль в обменных процессах в организме животных и функционально связаны с развитием у них основных хозяйственно ценных признаков. По насыщенности крови общим белком суточные телята-трансплантанты контрольной группы уступали своим сверстникам из опытной группы на 4–9 г/л, и на последующих этапах наблюдения данное неравенство сохранялось. Выпойка молозива существенно стимулировала белковосинтезирующую функцию печени, повышая концентрацию белка на 9–12 г/л (табл. 3).

Наблюдения показали, что первые 5–6 сут. приёма молозива существенно изменили насыщение крови иммуноглобулинами. Так, IgG в сыворотке крови телят контрольной группы увеличился на 5-е сут. в 42 раза, опытной – в 38 раз. В последующие возрастные периоды их концентрация нарастала. Иммунодефицит у новорождённых телят можно было бы отнести к врождённому, но он не является следствием генетических дефектов эмбрионального развития, характерных для различных врождённых иммунодефицитов. У них относительно развита Т-система лимфоцитов, следовательно, и синтез антител практически не происходит вследствие отсутствия в эмбриональный период антигенной стимуляции. Исходя из этого, концентрация IgM в сыворотке крови после выпойки молозива увеличилась у телят обеих групп в 3 раза, все последующие этапы наблюдения свидетельствовали о статистически недостоверных изменениях данного признака (табл. 3).

Особое внимание заслуживает возможность выработки антител к вариабельным участкам иммуноглобулинов. Выработка антител может подавить иммунный ответ на соответствующий антиген. Вот почему важно своевременно выявлять уровень аутоиммунизации, особенно у животных с генетической дискриминацией.

Уровень циркулирующих антител к лизату собственных эритроцитов в крови телят свидетельствует о том, что к аутоагрессии и развитию патологии на этой основе были более предрасположены животные контрольной группы, поскольку во все возрастные периоды у них выше балл реакции Уанье. Следует отметить, что присутствие противоорганных антител является нормальным

физиологическим состоянием, поскольку жизнедеятельность организма всегда сопровождается накоплением в нём продуктов метаболизма, которые, обладая антигенными свойствами, обеспечивают свою элиминацию. Поэтому несколько выраженную реакцию Уанье нужно отнести к физиологической системе аутоиммунитета, а не к искажению гомеостаза (табл. 4).

Аутоантителообразующие клетки (АОК) обнаруживаются у здоровых животных в пределах 0,5–3,0 % в органах, которые являются наиболее иммунокомпетентными, т.е. с непрерывным обменом веществ. По данным таблицы 4 следует, что содержание клеток-антителопродуцентов находится в зависимости от возраста. Выпойка молозива стимулировала активность антителообразования в организме телят обеих групп в 2–3 раза, чем и объясняется особое внимание практикующих ветеринарных специалистов на животных в этот период онтогенеза. Динамика содержания АОК соответствовала динамике антителообразования на всех этапах наблюдения за телятами (табл. 4).

В здоровом организме уровень циркулирующих в крови иммунных комплексов (ЦИК) незначителен. Их определение важно для характеристики тех или иных систем при комплексной оценке резистентности. Формирование ЦИК – обязательный компонент нормального иммунного ответа, так как они представляют собой физиологический продукт реакции «антиген – антитело». Но при определённых условиях наблюдают переход нормальной функции этих комплексов в патологическую. Анализ данных таблицы 4 свидетельствует о комфортном прохождении взаимодействия антигена и антитела, с указанием признаков явного угнетения антителообразования, поэтому концентрация ЦИК изменялась однонаправленно и литически.

По результатам исследования можно сделать **вывод**, что иммунный дефицит у новорождённых телят-трансплантантов возникает вследствие незрелости иммунокомпетентных органов, которые необходимо активизировать на заключительных этапах внутриутробного развития. Применение иммуностимуляторов микробного происхождения позволяет оживить иммуногенез уже к первому месяцу жизни телёнка. В 2-месячном

#### 4. Динамика аутоиммунных процессов в организме телят-трансплантантов ( $X \pm Sx$ )

Показатель	Группа	Возраст, сут.			
		1	5	30	60
Реакция Уанье, балл	контрольная	0,12±0,01	0,16±0,03	0,28±0,07	0,56±0,19
	опытная	0,09±0,01	0,12±0,01	0,21±0,04	0,45±0,11
Уровень АОК, %	контрольная	1,96±0,26	4,61±0,38	5,56±0,62	6,98±0,54
	опытная	1,05±0,26	3,67±0,41	4,11±0,33	5,63±0,62
Концентрация ЦИК, г/л	контрольная	0,22±0,06	0,77±0,11	1,12±0,13	0,49±0,18
	опытная	0,13±0,03	0,48±0,09	0,81±0,11	0,98±0,13

возрасте иммунный статус телят-трансплантантов опытной группы имеет заметное преимущество как в гуморальной линии защиты, так и в клеточной.

### Литература

1. Петров А.М. Интенсивность иммунных реакций у телят-трансплантантов // Ветеринария. 1995. № 10. С. 22–24.
2. Петров А.М. Иммунологическая реактивность телят-трансплантантов и её коррекция // Сельскохозяйственная биология. 1995. № 4. С. 37–41.
3. Мадисон В.В. Чем полезна трансплантация эмбрионов для специалистов-практиков // Биотехнология и воспроизводство: матер. 2-й межгосударств. науч.-практич. конф. Брест, 1995. С. 68–69.
4. Романов А.А., Руднев А.С., Безин А.Н. Особенности становления иммунной системы телят-трансплантантов мясных пород // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2012. № 5 (91). С. 93–95.
5. Воробьев А.В., Седова О.Н. Иммуотропная профилактика послеродовых эндометритов коров // Вестник ветеринарии. 2011. № 53 (4). С. 126–127.
6. Гугушвили Н.Н., Доми И.А. Применение препаратов для повышения резистентности телят // Труды Кубанского государственного аграрного университета. 2007. № 2. С. 121–129.
7. Воробьев А.В., Садов К.М. Иммуотропная терапия в профилактике мастита коров: влияние на продуктивность и качество молока // Ветеринарный врач. 2012. № 6. С. 44–46.
8. Никитин А.О., Никитина З., Васильев И. О применении иммунобиотехнологической технологии в воспроизводстве // Молочное и мясное скотоводство. 2000. № 3. С. 28–30.