



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

PROGRAM ROZWOJU OBSZARÓW WIEJSKICH 2014-2020

Operacja współfinansowana ze środków Europejskiego Funduszu Rolnego na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich

" Wzrost konkurencyjności spółki na rynku drobiarskim poprzez wdrożenie innowacji dotyczącej wylęgu piskląt"

Numer umowy o dofinansowanie: 00020.DDD.6509.00006.2018.04.

Temat zadania badawczego:

Wpływ dimeru lizozymu, laktoferyny oraz białka Y (jolkiny), podanych *in ovo* na rozwój i status immunologiczny piskląt

Wstęp

Możliwość farmakologicznego sterowania endogennymi mechanizmami układu odpornościowego zwierząt prowadzi do znacznego postępu w terapii wielu schorzeń o podłożu immunologicznym. W lecznictwie weterynaryjnym zarówno u ssaków jak również u ptaków do regulacji funkcji komórek układu immunologicznego stosowane są leki o działaniu immunomodulującym, które w zależności od stanu funkcjonalnego docelowych komórek immunologicznych mogą pobudzać lub hamować ich aktywność. Kierunek i efekt działania immunomodulatora jest zatem zależny od statusu odpornościowego zwierzęcia, ale również od wielkości dawki, drogi podania i liczby kolejnych podań. Z reguły leki immunomodulujące nie wpływają na prawidłową czynność komórek immunologicznych. Ze względu na to, że efektywność terapii lekami immunomodulującymi zależy przede wszystkim od stanu funkcjonalnego komórek immunologicznych istotne jest określenie przed rozpoczęciem terapii biologicznie czynnymi immunomodulatorami (*Biological Response Modifiers*) statusu immunologicznego pacjenta. W weterynarii leki o działaniu immunomodulującym stosowane są w stanach nabytych wtórnych niedoborów odpornościowych, które mogą manifestować się

Operacja pt. „Wzrost konkurencyjności spółki na rynku drobiarskim poprzez wdrożenie innowacji dotyczącej wylęgu piskląt”, realizowana w ramach działania 16 „Współpraca” Programu Rozwoju Obszarów Wiejskich 2014-2020. Operacja współfinansowana ze środków Europejskiego Funduszu Rolnego na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich.



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

zwiększoną zapadalnością na infekcje bakteryjne, wirusowe i grzybicze, występowaniem nawracających i/lub oportunistycznych infekcji, występowaniem chorób alergicznych, autoimmunologicznych oraz nowotworowych (indukcja lub poprawa nadzoru immunologicznego). Korzystne efekty terapeutyczne uzyskuje się po stosowaniu immunomodulatorów w terapii schorzeń bakteryjnych w leczeniu których można stosować leki immunomodulujące *per se* (terapia *pro-host*) lub w interakcji z chemioterapeutykami przeciwbakteryjnym. Leki o działaniu immunomodulującym mają również zastosowanie do rekonstrukcji układu odpornościowego zwierzęcia poddanego wcześniejszej terapią środkami immunosupresyjnymi, cytotoksycznymi lub po przewlekłej terapii antybiotykami wywierającymi negatywny wpływ na układ odpornościowy (aminoglikozydy, tetracykliny) lub lekami z innych grup, które wykazują niekorzystny wpływ na czynność komórek immunologicznych (antagoniści receptora β -adrenergicznego, leki przeciwzapalne, uspokajające). Biologicznie czynne immunomodulatory ze względu na działanie osłaniające i normalizujące upośledzoną odporność mogą być stosowane u zwierząt, które narażone są na immunosupresyjne wpływy środowiskowe (transport, hałas, zimno, słońce). Niektóre leki o działaniu immunomodulującym mają zastosowanie jako adiuwanty farmakologiczne do potencjalizacji odpowiedzi immunologicznej po uodpornianiu czynnym (wzmaganie odpowiedzi poszczepiennej).

Celem obecnych badań było określenie immunotropowego działania trzech związków immunomodulujących o różnej strukturze i mechanizmie immunotropowego działania takich jak dimer lizozymu, laktoferyna oraz białko Y (jolkina), które w zależności od wielkości dawki zostały sterylnie inokulowane *in ovo* w 18 dniu rozwoju embrionalnego pisklęcia czyli trzy doby przed wykluciem, na rozwój oraz status immunologiczny piskląt, który został oznaczony w układzie dynamicznym tj. bezpośrednio po wylęgu, 7, 14, 21, 28, 35 i 42 dnia życia kurcząt.

Wnioski z przeprowadzonych badań:

- 1. Dimer lizozymu podany *in ovo* w badanych dawkach (2, 20 i 200 μ g/jajo) wykazuje zdolność modulacji badanych wskaźników immunologicznych, przy czym efekt**



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

działania badanego związku zależy zarówno od wielkości podanej *in ovo* dawki jak również wieku kurcząt co wyrażone jest w następujący sposób:

- a. Dimer lizozymu podany *in ovo* wykazuje zdolność modulacji odsetka i liczbę limfocytów B i T CD3+ oraz subpopulacji limfocytów T CD4+ i CD8+ we krwi obwodowej, przy czym najefektywniejsze działanie obserwowane jest po podaniu dimeru lizozymu *in ovo* w dawce 2 µg/jajo co manifestuje się wzrostem w stosunku do grup kontrolnych liczby limfocytów B i T we krwi obwodowej bezpośrednio po wykluciu, oraz wzrostem liczby limfocytów B we krwi obwodowej w 14, 35 i 42 dniu życia kurcząt. Wzrost liczby limfocytów T we krwi obwodowej kurcząt obserwowany bezpośrednio po wylęgu po podaniu dimeru lizozymu w dawce 2 µg/jajo spowodowany jest zwiększeniem subpopulacji limfocytów T o funkcji indukująco-wspomagającej (komórki CD4+). Również podanie dimeru lizozymu w dawce 2µg/jajo powoduje wzrost w 1, 21, 35 i 42 dniu kurcząt we krwi obwodowej limfocytów T o funkcji cytotoksyczno-supresyjnej (komórki CD8+) co wskazuje, że dimer lizozymu ma zdolność nasilania w miarę dojrzewania kurcząt fizjologicznego wzrostu tej subpopulacji limfocytów T we krwi obwodowej.
- b. Od 14 do 42 dnia życia w grupach ptaków, którym podawano dimer lizozymu niezależnie od wielkości dawki, odsetek śledzionowych limfocytów B jest obniżony w porównaniu do grup ptaków kontrolnych, zmiany takie zanotowano po podaniu dimeru lizozymu w dawce 2 µg/jajo w dniu 14, 21, 35 i 42, w dawce 20 µg/jajo w dniu 21, 28 i 35, w dawce 200 µg/jajo w 21 dniu życia ptaków. Nie przekłada się to na obniżenie bezwzględnej liczby limfocytów B w śledzionie, z wyjątkiem podania dimeru lizozymu w dawce 2 µg/jajo, które również powoduje zmniejszenie limfocytów B w śledzionie w 42 dniu życia kurcząt. Natomiast podanie dimeru lizozymu 2 µg/jajo zwiększa odsetek i liczbę bezwzględną śledzionowych limfocytów T CD3+ w 21, 35 i 42 dniu życia ptaków, taki efekt jest również widoczny po podaniu dawki 20 µg/jajo w 35 i 42 dniu życia. Obserwowany po podaniu dimeru lizozymu *in ovo* w dawce 2 i 20 µg/jajo wzrost odsetka śledzionowych limfocytów T związany jest ze wzrostem zarówno odsetka jak i liczby bezwzględnej obu subpopulacji



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

- limfocytów T CD4+ i CD8+, przy czym silniejsze działanie wykazuje podanie dawki 2 $\mu\text{g/jajo}$.
- c. Podanie dimeru lizozymu w dawce 2 i 20 $\mu\text{g/jajo}$ powoduje bezpośrednio po wykluciu piskląt istotny wzrost bezwzględnej liczby leukocytów CD45+ we krwi obwodowej oraz w śledzionie. Wzrost liczby tych komórek we krwi obwodowej stwierdza się również w 35 dniu życia kurcząt po podaniu dimeru lizozymu w dawce 2 $\mu\text{g/jajo}$, natomiast w śledzionie liczba tej populacji komórek ulega wzrostowi pomiędzy 21 a 42 dniem życia kurcząt po podaniu dimeru lizozymu w dawce 2 i 20 $\mu\text{g/jajo}$.
 - d. Przejściowy wzrost liczby monocytów KUL-01+ we krwi obwodowej obserwuje się jedynie w 21 dniu życia ptaków po podaniu najwyższej dawki dimeru lizozymu (200 $\mu\text{g/jajo}$), natomiast w śledzionie wzrost bezwzględnej liczby makrofagów wykazujących ekspresję antygeny KUL-01+ w porównaniu z grupą kontrolną stwierdza się w 21 i 42 dniu życia kurcząt po podaniu dimeru lizozymu w dawce 2 $\mu\text{g/jajo}$.
 - e. Dimer lizozymu w dawce 2 $\mu\text{g/jajo}$ w 28 dniu życia kurcząt zmniejsza w osoczu krwi stężenie IL-1, natomiast w 35 dniu życia podwyższa stężenie tej cytokiny w stosunku do grup kontrolnych, przy czym najwyższe stężenie IL-1 w grupach kurcząt kontrolnych stwierdzono w 28 dniu życia kurcząt co mogło być związane z uodpornieniem czynnym ptaków, które nastąpiło w 21 dniu życia ptaków, dlatego też modulacja stężenia IL-1 może być związana z aktywnością biologiczną badanego związku. Dimer lizozymu w dawce 2 i 20 $\mu\text{g/jajo}$ powoduje w 28 dniu życia przejściowe zmniejszenie stężenia IL-2 w osoczu, z kolei podany w dawce 2 $\mu\text{g/ml}$ powoduje w 7 dniu życia przejściowe obniżenie stężenia w osoczu IL-6, w dawce 2 i 20 $\mu\text{g/jajo}$ równie w 7 dniu życia ptaków przejściowy wzrost w osoczu IL-10.
2. **Laktoferyna podana *in ovo* w badanych dawkach (1, 10 i 100 $\mu\text{g/jajo}$) wykazuje zdolność modulacji badanych wskaźników immunologicznych, przy czym efekt działania badanego związku zależy zarówno od wielkości podanej *in ovo* dawki jak również wieku kurcząt co wyrażone jest w następujący sposób:**



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

- a. Podanie laktoferyny *in ovo* moduluje we krwi obwodowej kurcząt liczbę limfocytów B, T CD3+, w tym subpopulacje CD4+ i CD8+. Liczba limfocytów B we krwi obwodowej wzrasta w stosunku do grupy kontrolnej po podaniu *in ovo* laktoferyny w dawce 10 µg/jajo bezpośrednio po wykluciu, po dawkach 100 i 10 µg/jajo w 7 dniu życia kurcząt, ponadto najwyższa badana dawka przedłuża stymulujący wpływ badanego związku na liczbę limfocytów B w krwi obwodowej do 35 dnia życia kurcząt. Z kolei liczba limfocytów T CD3+ we krwi obwodowej po podaniu laktoferyny *in ovo* wzrasta w 14, 28, 35 i 42 dniu życia ptaków, przy czym efekt działania zależy od wielkości podanej dawki. Najsilniejsze działanie zwiększające liczbę bezwzględną krążących we krwi limfocytów CD3+ obserwuje się po podaniu laktoferyny w dawce 100 µg/jajo. Subpopulacja limfocytów T która ulega zwiększeniu po podaniu *in ovo* laktoferyny to limfocyty T o funkcji indukująco-wspomagającej (komórki CD4+) co wskazuje, że laktoferyna w najwyższej badanej dawce ma zdolność nasilania w miarę dojrzewania kurcząt fizjologicznego wzrostu tej subpopulacji limfocytów T we krwi obwodowej, natomiast subpopulacja limfocytów T cytotoksyczno-supresyjna we krwi obwodowej ulega przejściowemu zmniejszeniu jedynie w 7 dniu życia kurcząt po podaniu laktoferyny w dawce 10 i 100 µg/jajo.
- b. Liczba limfocytów B w śledzionie kurcząt ulega obniżeniu w stosunku do grup kontrolnych w 1, 7, 14 i 28 dniu życia ptaków. Przy czym efekt ten obserwuje się w 1 dniu życia kurcząt tylko po dawce 10 µg/jajo, w 7 i 28 dniu po dawkach 10 i 1 µg/jajo, natomiast w 14 dniu życia kurcząt po podaniu laktoferyny w dawkach 100 i 10 µg/jajo. Laktoferyna podana *in ovo* wykazuje również wpływ na liczbę śledzionowych limfocytów T, w 14 dniu życia kurcząt w dawkach 100 i 10 µg/jajo powoduje przejściowe obniżenie liczby śledzionowych limfocytów T CD3+, natomiast od 28 do 42 dnia życia kurcząt liczba limfocytów T CD3+ w śledzionie ulega wzrostowi, przy czym w 28 i 35 dniu efekt ten obserwuje się po podaniu laktoferyny w trzech badanych dawkach, a w 42 dniu po dawce 1 µg/jajo. Wzrost limfocytów T w śledzionie po podaniu laktoferyny związany jest ze wzrostem pomiędzy 7 a 42 dniem życia kurcząt liczby subpopulacji limfocytów T CD4+ w śledzionie co powoduje obserwowany wzrost współczynnika CD4+/CD8+. W 7 i 35 dniu efekt ten



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

- obserwuje się po dawkach 100 i 1 $\mu\text{g}/\text{jajo}$, w 28 dniu po wszystkich dawkach a w 42 dniu po dawce 1 $\mu\text{g}/\text{jajo}$. Z kolei po podaniu *in ovo* laktoferyny we wszystkich badanych dawkach dochodzi do przejściowego obniżenia liczby w śledzienie limfocytów T CD8+ co obserwuje się w 7 i 14 dniu życia kurcząt.
- c. Laktoferyna podana *in ovo* nasila fizjologiczny wzrost leukocytów CD45+ we krwi obwodowej obserwowany w miarę procesu dojrzewania kurcząt. Efekt działania laktoferyny zależy od podanej dawki. Najsilniejsze działanie obserwuje się po podaniu laktoferyny *in ovo* w dawce 100 $\mu\text{g}/\text{jajo}$ co powoduje sukcesywny wzrost liczby leukocytów CD45+ we krwi obserwowany od 7 dnia życia kurcząt do ukończenia przez kurczęta 42 dnia życia. Z kolei wpływ laktoferyny podanej *in ovo* na liczbę śledzionowych leukocytów CD45+ jest modulujący ponieważ podanie *in ovo* laktoferyny w dawkach 10 i 1 $\mu\text{g}/\text{jajo}$ powoduje jedynie w 28 dniu życia ptaków wzrost odsetka leukocytów CD45+ w śledzienie, natomiast liczba śledzionowych leukocytów CD45 jest niższa w 7 i 14 dniu życia w grupach ptaków, w których *in ovo* podano laktoferynę, przy czym w 7 dniu efekt ten wykazano po dawkach 10 i 1 $\mu\text{g}/\text{jajo}$, a w 14 dniu po dawkach 100 i 10 $\mu\text{g}/\text{jajo}$.
- d. Bezpośrednio po wykluciu się kurcząt liczba bezwzględna we krwi obwodowej monocytów wykazujących ekspresję antygenu KUL-01+ jest wyższa niż w grupie kontrolnej po podaniu laktoferyny w dawce 10 $\mu\text{g}/\text{jajo}$. Z kolei w 7 dniu po podaniu laktoferyny we wszystkich trzech badanych dawkach i 14 dniu po dawce 1 $\mu\text{g}/\text{jajo}$ liczba tej populacji komórek we krwi ulega przejściowemu zmniejszeniu w stosunku do grup kontrolnych. Następnie w 21 dniu życia kurcząt po dawkach 100 i 1 $\mu\text{g}/\text{jajo}$ i 35 dniu życia kurcząt po dawkach 100 i 10 $\mu\text{g}/\text{jajo}$ liczba bezwzględna komórek KUL-01+ we krwi obwodowej ponownie wzrasta. Laktoferyna podana *in ovo* w badanych dawkach nie zmienia w śledzienie liczby makrofagów wykazujących ekspresję antygenu KUL-01+ od momentu wyklucia do ukończenia przez kurczęta 42 dnia życia.
- e. Bezpośrednio po wykluciu kurcząt oraz od 28 do 42 dnia życia ptaków podanie laktoferyny *in ovo* w badanych dawkach (1, 10 i 100 $\mu\text{g}/\text{jajo}$) nie zmienia stężenia interleukiny-1 w osoczu kurcząt w porównaniu do kurcząt grup kontrolnych, natomiast w 7, 14 i 21 dniu życia laktoferyna w dawkach 1 i 10 $\mu\text{g}/\text{jajo}$ powoduje przejściowe obniżenie w osoczu IL-



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

1. Podanie laktoferyny *in ovo* w dawce 1 i 10 $\mu\text{g}/\text{jajo}$ powoduje w 7 dniu życia kurcząt przejściowy wzrost stężenia w osoczu IL-2, natomiast bezpośrednio po wykluciu, w 14 i 35 dniu życia stężenie tej cytokiny ulega obniżeniu po podaniu laktoferyny w dawce 1 $\mu\text{g}/\text{jajo}$. Obniżenie stężenia w osoczu IL-6 obserwuje się w 14 dniu życia kurcząt po podaniu *in ovo* laktoferyny w dawce 10 i 1 $\mu\text{g}/\text{jajo}$, natomiast w 35 dniu po dawce 10 $\mu\text{g}/\text{jajo}$. Laktoferyna podana *in ovo* powoduje jedynie w 42 dniu życia kurcząt wzrost stężenia w osoczu krwi interleukiny przeciwzapalnej jaką jest interleukina 10, efekt działania wykazano po dawce 1 $\mu\text{g}/\text{jajo}$.

3. **Jolkina podana *in ovo* w badanych dawkach (1, 10 i 100 $\mu\text{g}/\text{jajo}$) wykazuje zdolność modulacji badanych wskaźników immunologicznych, przy czym efekt działania badanego związku zależy zarówno od wielkości podanej *in ovo* dawki jak również wieku kurcząt co wyrażone jest w następujący sposób:**
 - a. Podanie jolkiny *in ovo* wykazuje zdolność modulacji we krwi obwodowej kurcząt odsetka i liczbę limfocytów B, T CD3+, w tym subpopulacje CD4+ i CD8+. W 7 dniu życia kurcząt podana *in ovo* jolkina w dawce 100 $\mu\text{g}/\text{jajo}$ powoduje przejściowy wzrost odsetka i liczby limfocytów B we krwi obwodowej. Podanie badanego związku w dawce 10 krotnie niższej (10 $\mu\text{g}/\text{jajo}$) powoduje bezpośrednio po wykluciu i w 14 dniu życia kurcząt wzrost we krwi obwodowej wzrost odsetka i liczby limfocytów T wykazujących ekspresję antygenu CD3+, również podanie dawki 1 i 100 $\mu\text{g}/\text{jajo}$ powoduje wzrost liczby limfocytów T CD3+ we krwi w 42 dniu życia kurcząt. Subpopulacją limfocytów T, która ulega wzrostowi we krwi obwodowej pod wpływem jolkiny podanej *in ovo* są zarówno limfocyty T o funkcji indukująco-wspomagającej (komórki CD4+) jak i o funkcji cytotoksyczno-supresyjnej (komórki CD8+). W dawce 10 $\mu\text{g}/\text{jajo}$ jolkina powoduje wzrost we krwi obwodowej limfocytów T CD4+ bezpośrednio po wykluciu oraz w 14 dniu życia kurcząt, w dawce 100 $\mu\text{g}/\text{jajo}$ w 28 dniu życia a w dawce 1 $\mu\text{g}/\text{jajo}$ w 42 dniu życia. Z kolei wzrost we krwi obwodowej limfocytów T CD8+ występuje bezpośrednio po wykluciu i w 14 dniu życia po podaniu jolkiny *in ovo* w dawce 1 i 10 $\mu\text{g}/\text{jajo}$, natomiast zwiększenie dawki podanego



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

- związku do 100 $\mu\text{g}/\text{jajo}$ przedłuża stymulujące działanie yolki na liczbę limfocytów CD8+ do 42 dnia życia kurcząt.
- b. Podanie yolki *in ovo* niezależnie od wielkości dawki powoduje w 14 dniu życia kurcząt przejściowe zmniejszenie liczby limfocytów B w śledzionie, w miarę procesu dojrzewania ptaków liczba limfocytów B w śledzionie ulega sukcesywnemu wzrostowi osiągając wartości jak w grupach kontrolnych. Podanie *in ovo* yolki również niezależnie od wielkości podanej dawki powoduje bezpośrednio po wykluciu piskląt wzrost zarówno odsetka jak i liczby bezwzględnej limfocytów T CD3+ oraz CD4+ w śledzionie. Dawka yolki 1 i 10 $\mu\text{g}/\text{jajo}$ powoduje również w 42 dniu życia kurcząt wzrost liczby limfocytów T CD3+ w tym CD4+ w śledzionie. Z kolei liczba limfocytów T o funkcji cytotoksyczno-supresyjnej (komórki CD8+) ulega zwiększeniu w 42 dniu życia kurcząt po podaniu *in ovo* yolki we wszystkich badanych dawkach.
 - c. Jolka podana *in ovo* nasila fizjologiczny wzrost leukocytów CD45+ we krwi obwodowej obserwowany w miarę procesu dojrzewania kurcząt w stosunku do grup kontrolnych. Najsilniejsze działanie obserwuje się po podaniu yolki *in ovo* w dawce 100 $\mu\text{g}/\text{jajo}$ co powoduje sukcesywny wzrost liczby leukocytów CD45+ we krwi obserwowany od 1 do ukończenia przez kurczęta 35 dnia życia. Jolka podana *in ovo* w dawce 1 $\mu\text{g}/\text{jajo}$ powoduje również w 42 dniu życia kurcząt wzrost w śledzionie leukocytów wykazujących ekspresję antygeny CD45+.
 - d. Jolka podana *in ovo* w dawce 1 $\mu\text{g}/\text{jajo}$ powoduje w 1 i 42 dniu życia kurcząt istotny wzrost w stosunku do grup kontrolnych liczby monocytów we krwi obwodowej wykazujących ekspresję antygeny KUL-01+. Z kolei jolka w dawce 10 i 100 $\mu\text{g}/\text{jajo}$ powoduje przejściowy spadek śledzionowych makrofagów wykazujących ekspresję antygeny KUL-01+, natomiast podana w dawce 1 $\mu\text{g}/\text{jajo}$ powoduje spadek tej populacji komórek w śledzionie również w 28 i 35 dniu życia ptaków.
 - e. Jolka podana *in ovo* w dawce 1 $\mu\text{g}/\text{jajo}$ powoduje w 1, 14 i 28 dniu życia w stosunku do wartości w grupach kontrolnych wzrost stężenia IL-1 w osoczu, natomiast w dawkach 10 i 100 krotnie wyższych badany związek powoduje przejściowy spadek w osoczu tej cytokiny obserwowany w 21 dniu życia ptaków. Wpływ modulujący yolki na stężenie



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

IL-1 w osoczu w pierwszych 4 tygodniach życia kurcząt może być związany z oddziaływaniem badanego związku na odpowiedź immunologiczną po standardowym uodparnianiu czynnym kurcząt przeciwko zakaźnemu zapaleniu oskrzeli oraz chorobie Gumboro, które jest przeprowadzane w dniu wylęgu i rewakcynacja w 10 dniu życia przeciwko zakaźnemu zapaleniu oskrzeli oraz w 21 dniu życia szczepienie przeciwko chorobie Gumboro. Podanie jolkiny *in ovo* w dawce 1 i 10 $\mu\text{g}/\text{jajo}$ powoduje w 1 i 42 dniu życia wzrost stężenia IL-2 w osoczu w porównaniu do grup kontrolnych. Z kolei podanie *in ovo* najwyższej badanej dawki jolkiny (100 $\mu\text{g}/\text{jajo}$) powoduje w 35 dniu życia obniżenie stężenia IL-6 w osoczu. Najniższa badana dawka jolkiny (1 $\mu\text{g}/\text{jajo}$) powoduje z kolei w 35 dniu życia kurcząt wzrost IL-10 w osoczu.

4. Poziom ekspresji hormonu wzrostu (cGH) w dniu wylęgu była wyższa we wszystkich badanych dawkach jolkiny, w grupie która otrzymała średnią dawkę lizozymu i w grupie która otrzymała najwyższą dawkę lizozymu oraz w grupie która otrzymała najniższą dawkę laktoferyny. Wyższy poziom ekspresji hormonu wzrostu w dniu wylęgu nie korelował z poziomem ekspresji genów mięśniowych (myoD, myoG, MRF4). Nie stwierdzono zależności między podanymi dawkami immunomodulatorów a późniejszym utrzymującym się wyższym (lub niższym) poziomem ekspresji cGH, myoD, myoG, MRF4. Wyniki te są zbieżne z obrazem klinicznym ptaków, gdzie nie obserwowano wyraźnie wyższych końcowych mas ciała w żadnej z grup doświadczalnych. Nie obserwowano wyraźnego trendu poprawy przyrostów masy ciała w żadnej z badanych grup doświadczalnych.