

Ленинградский ветеринарный институт

на правах рукописи

ОЛЕИНИК Евгения Константиновна

ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ РЕАКТИВНОСТЬ ЛИМФОИДНОЙ СИСТЕМЫ
В ОНТОГЕНЕЗЕ КУР В НОРМЕ И ПРИ ТЕПЛОВОМ СТРЕССЕ

СВ.00.07 - микробиология

Автореферат диссертации на соискание
ученой степени кандидата биологических наук

Ленинград - 1980

Работа выполнена в лаборатории микробиологии
и иммунологии Института биологии Карельского
филиала АН СССР

Научный руководитель - доктор биологических наук, доцент
БОЛОТНИКОВ И.А.

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, профессор ПОЛЯК Р.Я.
кандидат биологических наук, старший научный сотрудник
КОРОВИН Р.Н.

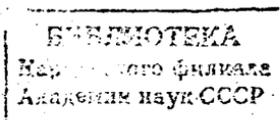
Ведущее учреждение: Всесоюзный ордена Ленина институт
экспериментальной ветеринарии

Защита состоится "28" ноября 1980 г. в 13 час. на
заседании специализированного совета Д 120.20.02 при
Ленинградском ветеринарном институте (196006, Ленинград,
Московский пр., 112, зал заседаний).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Ленин-
градского ветеринарного института.

Автореферат разослан "26" октября 1980 г.

Ученый секретарь специализированного
совета, профессор НЕКРАСОВА М.А.



Общая характеристика работы

Актуальность темы. Успешное развитие современного птицеводства во многом зависит от наличия надежной системы профилактики инфекционных заболеваний. Ньюкасская болезнь или псевдоочума птиц относится к особо опасным инфекциям, так как, вызывая массовую заболеваемость и гибель птиц, наносит хозяйствам значительный экономический ущерб. В связи с этим не ослабевает интерес к разработке наиболее эффективных способов профилактических вакцинаций и других мер борьбы с псевдоочумой. К настоящему времени изучены различные факторы, влияющие на результаты вакцинаций. Высокая напряженность иммунитета может быть достигнута только при нормальном физиологическом состоянии птицы. В связи с переходом птицеводства на промышленную основу и интенсификацией производства возросло количество стрессовых факторов, существенно влияющих на физиологическое состояние птиц. Среди таких факторов окружающей среды, влияющих на организмы птиц и в том числе на иммунологическую реактивность, температура занимает одно из первых мест. Известно, что высокая температура значительно снижает резистентность животных к инфекционным заболеваниям, ослабляет их репродуктивную способность. От температурного режима зависит эффективность вакцинаций животных (Коваленко Я.Р., 1974).

Показано, что высокотемпературные воздействия различной продолжительности задерживают формирование иммунитета против Ньюкассской болезни (Михкиева В.С., 1978).

Однако, действие высоких температур на реактивность клеток, участвующих в иммунном ответе (Т- и В-лимфоцитов) у птиц, практически не изучено. Иммунологи сделали крупные шаги в раскрытии клеточных и молекулярных основ иммунологического распознавания,

но исследования в основном проводятся на млекопитающих. Поэтому огромный интерес представляет изучение иммунологического аппарата у других видов, в частности, у птиц, которые в силу анатомических особенностей являются прекрасной моделью для иммунологических исследований, а их лимфоидная система существенно отличается от таковой млекопитающих. Подобные исследования актуальны и необходимы для практики. Всестороннее изучение иммуногенеза у птиц на различных этапах онтогенеза позволит эффективнее использовать существующие биопрепараты и обеспечивать стационарное ветеринарное благополучие птицеводства.

Иммунная система представляет собой один из главных приспособительных, защитных механизмов организма, реагирующего на различные повреждения. Любые стрессовые воздействия сопровождаются изменениями в численности лимфоцитов. Это значит, что иммунная система непосредственно участвует в восстановительных процессах после действия экстремальных факторов. В связи с этим изучение иммуногенеза на клеточном уровне значительно интереснее во взаимосвязи со стрессовыми состояниями у птиц, которые могут быть вызваны резкими изменениями температуры и другими факторами окружающей среды.

Важным моментом следует считать методический подход к подобным исследованиям. Досих пор иммунитет к вирусу Ньюкаслской болезни оценивали только с помощью серологических тестов. Успехи современной иммунологии позволяют проводить наблюдения на клеточном уровне. Учитывая это, мы впервые разработали методы выявления иммунореактивных клеток после вакцинации птиц против болезни Ньюкасла, а также введения эритроцитарного антигена.

Цель и задачи исследований. Актуальность иммунологических иссле-

дований у кур и ознакомление с литературой по вопросам клеточного иммунитета определили направление настоящей работы. Целью нашей работы являлось изучение иммунологических возможностей лимфоидной системы птиц в постнатальном онтогенезе при иммунизации корпускулярным и вирусным антигенами в обычной и стрессовой ситуации. В процессе исследований решались следующие задачи:

1. Разработка методов определения антигенспецифических розеткообразующих и бляшкообразующих клеток у кур для оценки реактивности лимфоцитов на антигенный стимул.

2. Изучение иммунологической реактивности лимфоидной системы птиц в различные периоды постнатального онтогенеза при иммунизации эритроцитами барана и вирусом Ньюкаслской болезни.

3. Изучение влияния высокотемпературного воздействия на клеточные механизмы иммуногенеза в различные возрастные периоды при иммунизации эритроцитарным и вирусным антигенами.

Эти основные положения выносятся на защиту.

Научная новизна работы. Изучение иммунитета у кур на клеточном уровне при антигенной стимуляции эритроцитами барана и вирусом Ньюкаслской болезни является одной из первых в стране работ по клеточным основам иммунологической реактивности птиц. Впервые разработаны методы оценки клеточного иммунитета у кур: реакция специфического розеткообразования и реакция бляшкообразования.

Получены данные, характеризующие особенности клеточного иммунитета у кур в различные периоды постнатального онтогенеза.

Впервые выделены этапы онтогенеза с повышенной и пониженной чувствительностью клеток лимфоидной системы к высокотемпературным воздействиям. Показано супрессивное действие тепловой

нагрузки на число розеткообразующих и бляшкообразующих клеток.

Научная и практическая ценность работы. Результаты исследований позволяют оценить иммунологический потенциал у птиц на клеточном уровне в различные периоды онтогенеза. Лимфоидная система кур представляет особый интерес в связи с наличием фабрициевой сумки, лимфоидного органа, анатомически обособленного только у птиц. Поэтому изучение иммунной системы птиц имеет общеприкладной биологический интерес, расширяя наши знания о формировании защитных приспособительных механизмов в процессе эволюции животного мира. Любой организм в процессе своей жизнедеятельности подвергается действию экстремальных факторов. Если учесть, что главное назначение иммунной системы заключается в поддержании гомеостаза, то представляется важным изучение иммунологических возможностей организма в стрессовых условиях. Практическое значение данной работы заключается в том, что впервые отработаны и предложены методы оценки иммунитета у кур на клеточном уровне. Разработанный метод специфического розеткообразования при вакцинации против Ньюкаслской болезни используется сотрудниками Института биологии Карельского филиала АН СССР и во Всесоюзном научно-исследовательском ветеринарном институте птицеводства при проведении иммунологических исследований у кур. Экспериментальные данные могут быть использованы при дальнейшем исследовании иммунологических процессов у кур с учетом особенностей иммунной реактивности на различных этапах онтогенеза.

Апробация работы. Основные положения диссертации доложены на научной конференции молодых ученых и специалистов Карелии, Петрозаводск, 1976; на конференции молодых ученых "Комплексные исследования биоресурсов Карелии", Петрозаводск, 1978; на конференции мо-

лодых ученых и специалистов "Адаптация животных и растительных организмов к условиям внешней среды", Петрозаводск, 1979; на XXII Всесоюзной конференции молодых ученых и аспирантов по птицеводству, ВНИТИП, 1979; на Всесоюзной конференции АМН СССР "Биологическая характеристика лабораторных животных и экстраполяция на человека экспериментальных данных", Москва, 1980.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 7 работ (4 статьи и 3 тезисов).

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 136 страницах машинописного текста и состоит из следующих разделов: введения, обзора литературы, методической части, результатов экспериментов, включающих 3 главы, обсуждения результатов, выводов, практических предложений. Список литературы включает 230 источников, из них 83 - отечественных и 147 - иностранных. Работа иллюстрирована 14 таблицами и 18 рисунками.

Содержание работы

Настоящая работа является результатом выполнения самостоятельного раздела плановой научно-исследовательской темы Института биологии Карельского филиала АН СССР в течение 1975-1979гг.

материалы и методы исследования

Объектом исследования служили лимфоидные органы (тимус, фабрициева сумка, селезенка) и периферическая кровь цыплят и кур в возрасте 30 - 210 дней. Изучали реактивность иммунокомпетентных клеток при иммунизации корпускулярным и вирусным антигенами при температурном стрессе. После введения антигена подопытных птиц помещали в зоотрон, климатическую камеру с автоматическим регулированием микроклимата (температуры, влажности, газовой среды) при +40°C на 2 часа. Этот режим стрессирования был подобран на

основании данных литературы и отработаны сотрудниками лаборатории микробиологии и иммунологии Института биологии Карельского филиала АН СССР (Болотников И.А. и др., 1978).

Для решения поставленных задач были отработаны и использованы следующие методы исследования:

1. Количество антигенреактивных клеток после антигенной стимуляции эритроцитами барана определяли методом прямых розеток. Реакция розеткообразования считается специфическим и весьма чувствительным методом изучения иммунного процесса. Принцип метода заключается в том, что к поверхности клеток определенных субпопуляций лимфоцитов "прилипают" корпускулярные антигены или антигены, адсорбированные на носителе, и образуется фигура, называемая розеткой (рис.1). Учитывая возможность использования реакции розеткообразования как одного из тестов для оценки клеточного иммунитета, мы отработали этот метод в экспериментах на птицах, так как в литературе не нашли его описания применительно к исследованиям у птиц (Болотников И.А., Олейник Е.К., 1978).

2. Количество лимфоцитов, участвующих в розеткообразовании после вакцинации против Ньюкаслской болезни; определяли в реакции непрямого розеткообразования с использованием эритроцитов, сенсibilизированных вирусом (Болотников И.А., Олейник Е.К., 1980).

В качестве антигена для адсорбции на эритроцитах использовали вирус вакцины Ла-Сота, которой птицы были преимунизированы.

Параллельно ставили контроль с несенсибилизированными эритроцитами. При этом розеток не обнаруживали. В предварительной серии опытов было установлено, что лимфоциты интактных птиц розеток не образуют. Поэтому, розетки, сформированные лимфоцитами вакцинированных кур с сенсibilизированными эритроцитами являются антигенспецифическими и отражают иммунореактивность птиц на введение вируса.

3. Лимфоциты крови птиц выделяли методом разделения в градиенте плотности фиколл-верографин и фиколл-урографин. Известно, что при наслаивании плазмы крови на градиент плотности, который создается в смеси рентгеноконтрастных веществ высокой плотности и вязких очищенных полисахаридов, можно разделить клетки, имеющие плотность выше (лимфоциты) и ниже (эритроциты, гранулоциты), чем плотность смеси. При отработке этого метода для выделения лимфоцитов птиц мы использовали два вещества высокой плотности: верографин и урографин. В качестве контроля использовали готовый препарат фиколл-гепак. Градиенты фиколл-верографин, фиколл-урографин, фиколл-гепак, использованные для сравнения чистоты получаемой фракции клеток и их жизнеспособности, не давали значительных различий.

4. Определение количества бляшкообразующих клеток. Метод локального гемолиза в геле (бляшкообразование) применяется для выявления клеток, образующих антитела. Существуют различные модификации метода бляшкообразования. Взяв за основу метод, применяемый в исследованиях на мышах в отделе иммунологии МНИИЭМ, мы разработали его для определения антителообразующих клеток в лимфоидных органах птиц, иммунизированных эритроцитами барана (Олейник Е.К., 1978). При использовании в реакции комплемента морской свинки, который эффективен при выявлении бляшек у мышей, зоны гемолиза вокруг антителопродуцирующих клеток птиц не проявлялись. Только добавление свежей сыворотки интактных кур в качестве источника комплемента вызывало проявление четких зон гемолиза (рис.2).

5. Определение уровня антител в сыворотке крови птиц, вакцинированных против Ньюкаслской болезни, определяли общепринятой



Рис.1. Розетка, образованная лимфоцитом (а) и эритроцитами барана (в). 40x7.

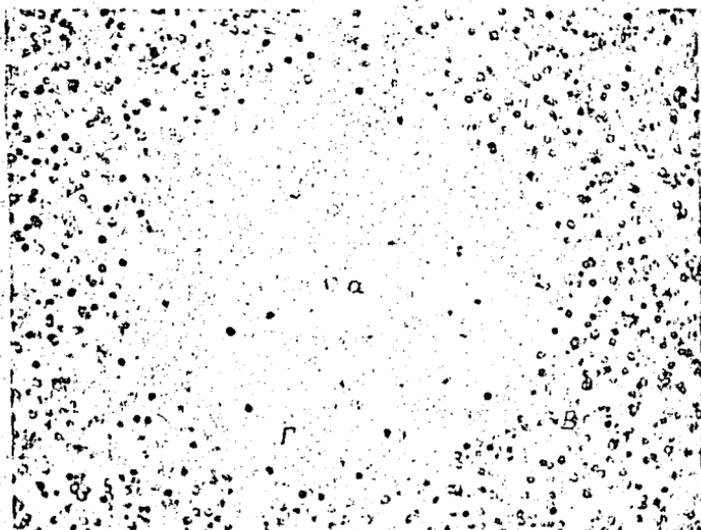


Рис.2. Бляшка, образованная антителообразующей клеткой. а - лимфоцит, в - эритроциты барана, г - зона гемолиза.

реакцией задержки гемагглютинации (РЭГА).

Средние показатели по группе птиц находили путем вычисления средней арифметической и её статистической ошибки. На основании величины и числа наблюдений определяли вероятность различий (P) между средними величинами у птиц сравниваемых групп по таблице распределения Стьюдента. Для оценки силы влияния стресс-фактора (Q) проводили дисперсионный анализ в отделе математических методов анализа (ОММАНИП) Карельского филиала АН СССР.

Участие Т- и В-лимфоцитов птиц в иммунном ответе на эритроциты барана в различные периоды онтогенеза

В ходе исследований было показано, что интенсивность иммунизаторного процесса в значительной степени зависит от возраста птиц. В иммунном ответе на эритроциты барана участвуют клетки селезенки и тимуса, а клетки фабрициевой сумки не обнаруживают ни розеткообразующей, ни бляшкообразующей способности.

Наблюдения за динамикой розеткообразующих клеток (РОК) в указанных органах показали, что у молодых цыплят в возрасте 30, 60, 90, 120 дней в иммунном ответе участвует в 2-3 раза больше клеток, чем у взрослых кур, в возрасте 210 дней. (рис.3). Если розеткообразующая популяция лимфоцитов у молодых цыплят составляла до 5,1-5,7% клеток селезенки, то у 210-дневных кур в моменты пика число РОК было значительно ниже - 1,7%. По количеству РОК, принимающих участие в иммунном ответе на эритроциты, можно проследить постепенное отключение тимуса от иммунологических процессов, отметив его максимальную активность в 60, 90, 120 дней после вылупления эмбрионов.

Иммунная реакция птиц на эритроциты барана характеризуется несколькими фазами накопления клеток-продуцентов антител. Индуктивная фаза продолжается до 2-х суток с момента иммунизации.

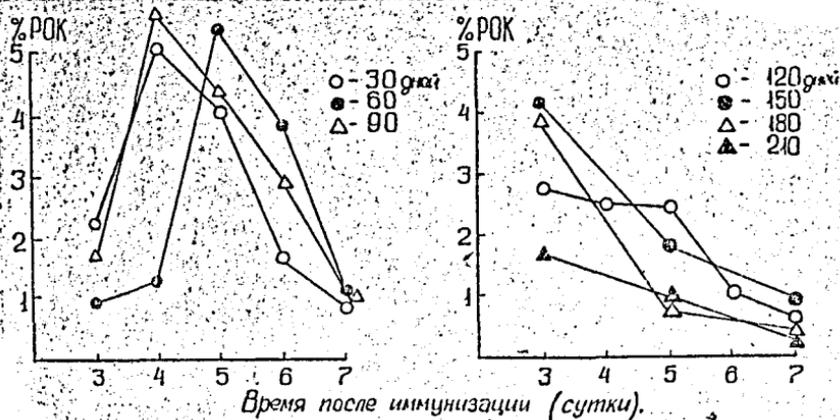


Рис.3. Динамика розеткообразующих клеток в селезенке птиц, иммунизированных эритроцитами барана. 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 дней - возраст птиц.

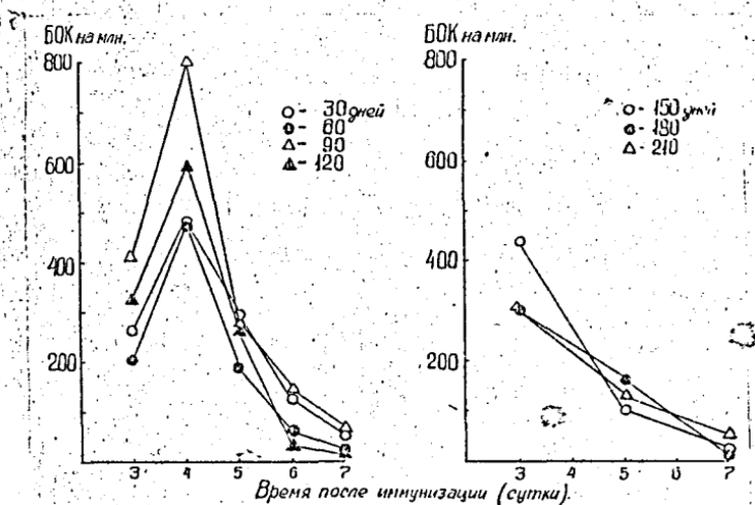


Рис.4. Динамика бляшкообразующих клеток в селезенке птиц, иммунизированных эритроцитами барана. 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 дней - возраст птиц.

II

В этот период не удается обнаружить бляшкообразующие клетки (БК). На 3-4 сутки количество антителосинтезирующих клеток активно нарастает. Затем число БК начинает снижаться, и к 8-9 дню после антигенной стимуляции антителопродуценты практически не выявляются. Такая закономерность равно относится ко всем изученным возрастным группам птиц. Особенности различных этапов онтогенеза проявились в абсолютной численности БК. Наиболее выраженный иммунный ответ к эритроцитам барана был отмечен у 90-120 дневных птиц, когда в моменты пика антитела синтезировали до 796 ± 48 и 694 ± 56 лимфоцитов на I млн клеток селезенки. С увеличением возраста количество участвующих в антителопродукции клеток снижалось (рис.4). Таким образом, наиболее активный синтез антител отмечен для птиц 90-120-дневного возраста, период, который характеризуется активным функционированием тимуса и бурсы, и, видимо, именно в этот момент иммунологическая система способна наиболее полно ответить на антиген, что было замечено и в отношении РСК.

Изменения иммунологического потенциала в процессе онтогенетического развития можно объяснить тем, что в изученный период роста и развития птиц происходит практически полная перестройка иммунологического аппарата. Тимус и бурса, будучи центральными лимфоидными органами, формирует систему клеточного и гуморального иммунитета, создает пул сенсibilизированных лимфоцитов и антителопродуцентов к антигенам окружающей среды, а затем инволютируют. В последующие периоды онтогенеза селезенка с другими иммунокомпетентными органами и тканями выполняет иммунологические функции. Это положение подтверждается результатами наших экспериментов. Интересен вопрос о структурной организации популяции РСК, образующихся в ходе иммунного ответа на эритроциты барана.

Розетки были обнаружены в тимусе и селезенке птиц. Так как остается неясным функциональное назначение этой популяции клеток в процессе иммуногенеза, то трудно и разграничить, к какой системе, Т- или В-, она относится. Если специфические РОК появляются вследствие распознавания антигена иммуноглобулиновыми рецепторами лимфоцитов и последующей их агрегации этими детерминантами, то, следовательно, розеткообразование должно быть реализовано клетками, несущими иммуноглобулиновые рецепторы. Это отличительная черта В-лимфоцитов. Однако, некоторые исследователи считают, что на поверхности Т-клеток также присутствуют иммуноглобулиновые структуры, выполняющие роль антигенных детерминант (Marchalonis J., 1978). Значит, и Т-лимфоциты могут быть эффекторами феномена розеткообразования.

Наличие РОК в тимусе, ответственном за Т-клеточные реакции, а также отсутствие четкой корреляции с количеством антителообразующих клеток, предшественниками которых являются В-лимфоциты, свидетельствуют об участии Т-клеток в розеткообразовании.

Участие Т- и В-лимфоцитов в иммунном ответе на вирус Ньюкаслской болезни

Клетки, способные к специфическому розеткообразованию с эритроцитами, нагруженными вирусом, были обнаружены только в селезенке и в периферической крови. Изучение динамики РОК показало, что максимальное число РОК регистрируется раньше у 120-дневных и 180-дневных птиц, при этом абсолютное число клеток, участвующих в розеткообразовании достигает 4,3 - 4,6% от общего числа клеток селезенки. В плазме крови количество РОК варьировало в зависимости от возраста: 2,3% у 60-дневных и 3,3% у 120-дневных.

Определение уровня антител в крови птиц после вакцинации

показало, что до 15-х суток идет активное нарастание уровня антител, а затем снижение. Максимальные титры сыворотки ($8,8 \log_2$) отмечены на 15 сутки после иммунизации у 120-дневных цыплят.

При определении числа РОК и уровня антител было обнаружено, что чем выше количество клеток, участвующих в розеткообразовании, тем выше и количество антител. При наличии у 60-дневных цыплят в момент пика 2,3% РОК, максимальный титр сыворотки был равен $8,3 \log_2$, у 120-дневных - 3,3% РОК и $8,8 \log_2$, у 180-дневных - 1,3% РОК и $7,5 \log_2$. Это означает, что интенсивность антителообразования определенным образом связана с числом клеток, обладающих способностью к розеткообразованию после иммунизации вирусом. Также как и отсутствие РОК в тимусе, корреляция между уровнем РОК и количеством антител является свидетельством того, что в вирусспецифическом розеткообразовании принимают участие В-лимфоциты.

В литературе не встречаются работы по изучению Т- и В-лимфоцитов птиц в иммунном ответе на вирус Ньюкаслской болезни. Только известно, что при данной инфекции определяющая роль принадлежит антителоопосредованному иммунитету (Cheville N., 1972), т.е. В-системе иммунитета. Это согласуется с нашими выводами о том, что в специфическое розеткообразование после вакцинации вовлекаются преимущественно В-лимфоциты, предшественники антителопродуцентов.

Можно предполагать, что количество антигенреактивных клеток, приобретающих способность к связыванию антигена после стимуляции более точно отражает степень сенсibilизации организма вакциной, чем титры антител в крови. Достижение определенного уровня антител в крови является уже конечным этапом иммунного ответа, а розеткообразование, естественно, предшествующей стадией. Если по каким-

либо причинам антителопродукция будет подавлена, то титры сыворотки крови птиц не покажут истинную чувствительность организма к вирусу. Видимо, этим объясняются имеющиеся в практике наблюдения о нечетком соответствии показателей реакции задержки гемагглютинации с реальным иммунным потенциалом к вирусу Ньюкаслской болезни. Поэтому, необходимо искать другие пути определения напряженности иммунитета, на более ранних этапах иммуногенеза, в частности на рецепторных звеньях иммунологической реактивности, одним из проявлений которых является феномен розеткообразования.

Влияние высокотемпературного стресса на реактивность лимфоидной системы птиц.

Изучение влияния теплового стресса, вызванного высокой температурой, на иммунологические свойства птиц было проведено при иммунизации эритроцитами барана и вирусом Ньюкаслской болезни. Как показали результаты исследований, при действии стрессора в раннюю индуктивную фазу иммуногенеза, тепловое воздействие подавляет активность лимфоцитов. Тепловая нагрузка оказала отрицательное действие на формирование противовирусного иммунитета у птиц. Антителопродукция при иммунизации вирусом у подопытных птиц была снижена. Статистически значимые различия титров сыворотки отмечены во всех исследованных возрастных группах (рис.5). Также как и титры антител в сыворотке крови, число вирусспецифических розеткообразующих клеток в селезенке и плазме крови птиц значительно уменьшалось в результате высокотемпературного воздействия. На 5-е сутки после вакцинации различия между опытом и контролем были достоверны во всех возрастных группах птиц (рис.6).

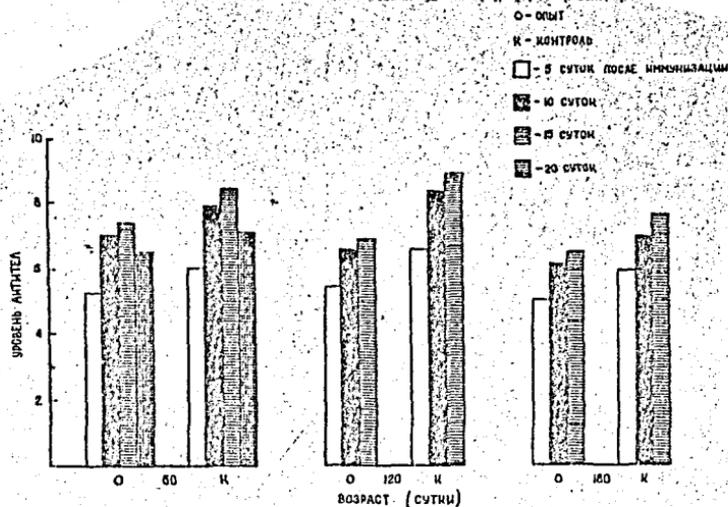


Рис.5. Влияние теплового стресса на уровень антител (\log_2) в сыворотке крови птиц, вакцинированных против Ньюкаслской болезни.

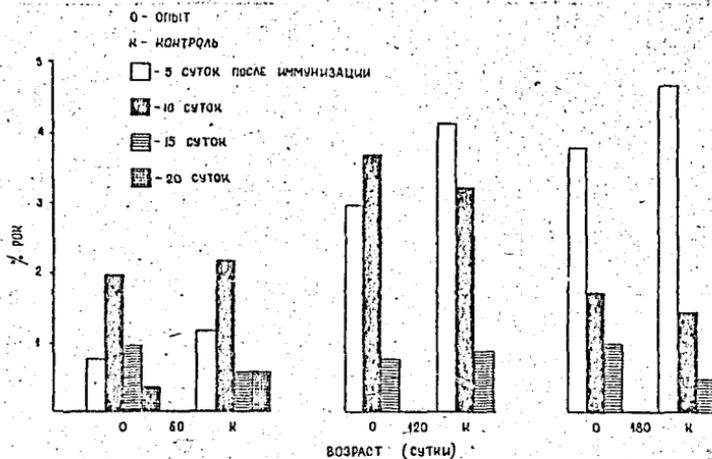


Рис.6. Влияние теплового стресса на количество розеткообразующих клеток в селезенке птиц, вакцинированных против Ньюкаслской болезни.

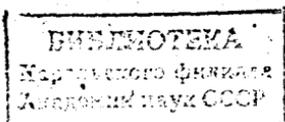
Тепловое воздействие заметно отразилось на иммунологической реактивности птиц при иммунизации эритроцитами барана. На 3-4 сутки после иммунизации число РЖ селезенки было снижено (при $p < 0,05$) у 30, 60, 90, 150, 180-дневных птиц. В 30- и 60-дневном возрасте различия в уровне РЖ между опытом и контролем оставались значимыми до 7-х суток, т.е. практически полностью динамика РЖ изменялась под действием тепла. У 90- и 150-дневных птиц количество РЖ в популяции клеток селезенки было подавлено в первые дни, а затем различия уменьшались до статистически недостоверных величин, что отражает восстановление иммунологического потенциала лимфоидной системы. Полученные данные подтверждаются результатами дисперсионного анализа. Определение силы влияния стресс-фактора (Q) показало, что наиболее чувствительными к тепловой экспозиции оказались молодые цыплята 30-90-дневного возраста - $Q = 0,93$. В возрасте 150-210 дней иммунный ответ был также снижен - $Q = 0,88$, только 120-дневные цыплята оказались менее всего подвержены действию стрессора - $Q = 0,52$. При вакцинации против Ньюкаслской болезни сила влияния температурного воздействия на иммунологические показатели также была ниже у 120-дневных птиц - $Q = 0,88$, в то время как у 60- и 180-дневных - $Q = 0,93$ и $0,97$ соответственно.

Таким образом, однократные высокотемпературные воздействия в раннюю индуктивную фазу иммуногенеза оказывают супрессивный эффект на количество антигенреактивных розеткообразующих клеток и снижают уровень антителопродукции. При этом степень подавления активности иммунокомпетентных клеток зависит от возраста. Наиболее устойчива к названному стрессору лимфоидная система 120-дневных цыплят.

Результаты наших исследований по изучению иммунореактивности птиц различных возрастных групп при тепловом стрессе свидетельствуют о наличии этапов онтогенеза с повышенной и пониженной чувствительностью лимфоидной системы к экстремальным воздействиям. Первая фаза, период высокой чувствительности иммунной системы, характерна для 30, 60, 90-дневных цыплят. В 120 дней наблюдается фаза относительной резистентности, вследствие чего подавление иммунного ответа стрессором менее выражено. В 150, 180, 210 дней происходит повторное повышение чувствительности к экстремальным воздействиям. Выделенные при тепловых стрессах возрастные особенности лимфоидной системы птиц, видимо, можно экстраполировать на чувствительность и к другим стрессовым агентам, что позволит эффективнее проводить вакцинации, выбирать оптимальные сроки пересадки птиц.

В перспективе изучение особенностей иммунной системы птиц на различных этапах онтогенеза станет более необходимым именно для устранения или ослабления влияния стресс-факторов. Можно добиться высокой степени изоляции хозяйств от источников инфекционных заболеваний, но интенсификация производства не позволит избавиться от технологических стрессовых факторов. Поэтому исследование адаптационных возможностей организма птиц и других сельскохозяйственных животных в процессе постнатального онтогенеза тесно связано с практическими задачами.

Для того, чтобы понять механизм действия экстремальных условий на иммунные процессы, видимо, следует рассмотреть все уровни, на которых проводится изучение иммунитета: молекулярный, клеточный, органный, организменный, популяционный (Галактионов В.Г., 1977). Сегодня можно констатировать несколько возможных



механизмов действия высокой температуры на иммунологическую реактивность птиц. Тепловое воздействие вызывает увеличение в крови глюкокортикоидных гормонов через гипоталамо-гипофизарно-адреналокортикальную систему. Поэтому большинство исследователей последствия стрессовых воздействий приписывают именно повышению уровня кортикостерона (Freeman B., 1976; Morgan G., 1976). Известно, что повышение уровня стероидных гормонов снижает активность лимфоцитов мышечной, вызывая инволюцию тимико-лимфатического аппарата (Зимин В.И., 1979).

Петров Р.В. с сотр. (1976) пришли к выводу, что регулирующее воздействие гипофизадреналовой системы на процесс выработки антител может опосредоваться через усиление или угнетение отдельных этапов иммуногенеза, а не через прямое влияние на иммунокомпетентные клетки, продуцирующие антитела.

Выводы:

1. В иммунном ответе на эритроциты барана в розеткообразовании принимают участие тимус и селезенка птиц, а бурса не содержит розеткообразующих и бляшкообразующих клеток. Популяция розеткообразующих клеток гетерогенна и состоит из Т- и В-лимфоцитов.
2. Наиболее активно функционирует лимфоидная система цыплят в возрасте 90-120 дней. Высокая напряженность иммунитета и значительные количества клеток, вовлекаемых в специфическое розеткообразование характеризуют иммунологический ответ как при иммунизации эритроцитами барана, так и после вакцинации против Ньюкаслской болезни.
3. Тепловая экспозиция в раннюю индуктивную фазу иммуногенеза оказывает супрессивный эффект как на антителопродуцирующую, так и на розеткообразующую популяцию клеток. Особенно подвержена

влиянию температурного стресса иммунная система 30, 60, 90-дневных цыплят. У птиц старших возрастов (150, 180, 210 дней) наблюдалась тенденция к сдвигу пика иммунокомпетентных клеток на более ранние сроки.

4. Метод определения вируссpezifических розеткообразующих клеток позволяет оценить иммунологическую реактивность организма на вакцинацию против болезни Ньюкасла, отражая активный иммунологический процесс.

5. Корреляция между количеством розеткообразующих клеток и уровнем антител в крови после иммунизации вакциной Ла-Сота служит основанием для того, чтобы розеткообразующую популяцию считать состоящей преимущественно из предшественников антителопродуцирующих клеток - В-лимфоцитов.

6. Тепловая нагрузка в раннюю индуктивную фазу иммуногенеза снижает высоту иммунного ответа при вакцинации против псевдо-чумы, вызывая наряду с уменьшением уровня антител в крови, ослабление реакции розеткообразования как в органах, так и в периферической крови.

7. Иммунная система 120-дневных птиц значительно устойчивее к тепловым экспозициям, чем другие исследованные возрастные группы. Как при вирусном, так и корпускулярном антигене иммунологическая реактивность этой группы птиц снижалась в меньшей степени при воздействии высокой температурой.

8. Изучение особенностей иммуногенеза птиц в постнатальном онтогенезе позволяет выделить фазы повышенной и пониженной чувствительности адаптивно-компенсаторных механизмов. До 90-дневного возраста цыплята чувствительны к экстремальным воздействиям, а 120-дневные птицы менее всего реагируют на тепловую нагрузку, 150-дневные и старше вновь обладают повышенной реактивностью к стрессу.

Практические предложения

1. В дополнение к разрабатываемому проекту "Новых методических указаний для диагностики и идентификации вирусов болезни Ньюкасла и гриппа птиц" Главного управления ветеринарии при МСХ СССР рекомендуем для оценки клеточного иммунитета птиц при вакцинации против Ньюкаслской болезни, а также для определения активности вирус-вакцин использовать метод выявления вирусспецифических розеткообразующих клеток в органах и крови птиц.
2. Для выделения фракции лимфоцитов из крови птиц предлагаем метод разделения в градиенте плотности верографин-фиколл и урографин-фиколл.
3. Установленные фазы повышенной и пониженной чувствительности адаптивно-компенсаторных механизмов у птиц в постнатальном онтогенезе следует учитывать при использовании антистрессовых препаратов. Для проведения профилактических мер, вакцинаций, пересадки рекомендуем использовать птиц в возрасте 120 дней, так как в этот период онтогенеза наблюдается заметное усиление защитных механизмов птиц.

По материалам диссертации опубликованы следующие работы:

1. Михиева В.С., Олейник Е.К. "Характеристика иммунного ответа на вакцину Ла-Сота". Тезисы докл. Республиканской конференции молодых ученых. Петрозаводск, 1975, II8-II9.
2. Олейник Е.К. "Определение у кур клеток, продуцирующих антитела, методом локального гемолиза в геле". Передовой научно-производственный опыт в птицеводстве. Экспресс-информация № 8 (80). Москва, 1978, 22-24.

3. Олейник Е.К. "Некоторые показатели иммунного ответа птиц на эритроциты барана". Тезисы докл. конференции молодых ученых "Комплексные исследования биоресурсов Карелии". Петрозаводск, 1978, 41-42.
4. Болотников И.А., Олейник Е.К. "Субпопуляции розеткообразующих клеток в иммунологическом ответе птицы". Доклады ВАСХНИЛ, 1978, № 12, 27-29.
5. Олейник Е.К. "Количество Т- и В-лимфоцитов при тепловом стрессе". Тезисы докл. конференции молодых ученых "Адаптация животных и растительных организмов к условиям внешней среды". Петрозаводск, 1979, 20-21.
6. Олейник Е.К. "Влияние высокой температуры на количество иммунокомпетентных клеток у кур". Передовой научно-производственный опыт в птицеводстве. Экспресс-информация № 7(91). Москва, 1979, 31-32.
7. Болотников И.А., Олейник Е.К. "Метод определения вирусспецифических розеткообразующих клеток у кур". Доклады ВАСХНИЛ, 1980, № 8, 31-32.

Е. Олейник