

Ю. Г. ПАВЕЛ

**НЕКОТОРЫЕ ВОЗРАСТНЫЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ  
АСПЕКТЫ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ РЕАКТИВНОСТИ  
В ПЕРИНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ**

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
доктора биологических наук

Огн. Тавл,  
402706

ТАРТУ 1969



ТАРТУСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

---

На правах рукописи

Ю. Г. ПАВЕЛ

**НЕКОТОРЫЕ ВОЗРАСТНЫЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ  
АСПЕКТЫ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ РЕАКТИВНОСТИ  
В ПЕРИНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ**

(103 — генетика)

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
доктора биологических наук

ТАРТУ 1969

X

Tartu Riikliku Ülikooli  
Raamatukogu  
390206

Диссертация выполнена на кафедре генетики и дарвинизма Тартуского государственного университета.

Диссертация изложена в двух томах (первый том включает две главы - "Исследование ответной реакции организма на вакцинацию в перинатальный период" и "Исследование биологического эффекта экзогенных нуклеопротеидов и нуклеиновых кислот в перинатальный период" - 282 стр.; второй том включает III главу - "О некоторых генетических аспектах резистентности", IV - Заключение и V - Основные выводы - - всего 239 стр.; список литературы содержит 1192 названия. Том снабжен приложением). В работе 249 таблиц.

Официальные оппоненты:

Доктор биологических наук, профессор Н.Н. Колесник

Доктор сельскохозяйственных наук, профессор Е.В. Эйдригевич

Доктор биологических наук, профессор Ц.Х. Руус

Ведущее учреждение - Эстонский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт животноводства и ветеринарии

Автореферат разослан "10." септ..... 1969 г.

Защита диссертации состоится "10." окт... 1969 г. на заседании Совета биологического отделения Биолого-географического факультета Тартуского государственного университета. ЭССР, г. Тарту, ул. Юликооли 18.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке ТГУ.

Учённый секретарь ТГУ

*И. Маароз*  
(И. Маароз)

Настоящая работа посвящена некоторым существенным вопросам иммуногенетики, связанным с иммунологической реактивностью и резистентностью развивающегося организма. Перинатальный период онтогенеза представляет собой подходящую модель для изучения не только развития иммунологической реактивности, но и отдельных факторов резистентности. Выбирая соответствующий этап развития, где некоторые гены, определяющие соответствующие факторы резистентности, супрессированы, можно следить за деятельностью других интересующих нас генов и оценить их роль в явлениях резистентности. Это касается особенно т.н. неспецифических факторов резистентности.

Решающую роль в углублении исследований по генетике резистентности играют методологические факторы, в первую очередь, установление связи между иммунологической реактивностью и резистентностью. При этом наряду с классическим гибридологическим методом все большее значение приобретают и другие методы, в том числе и онтогенетический, поскольку гибридологический анализ обнаруживает лишь генетические различия между скрещиваемыми компонентами, а не генетическую детерминированность признака. Без преувеличения можно сказать, что одной из наиболее важных проблем генетики человека, растений, а также ветеринарной генетики является генетика резистентности.

Изучение возрастных и генетических аспектов резистентности в перинатальный период связано также с некоторыми интересными проблемами как онто-, так и филогенетики. В последнее время проводятся обширные изыскания корреляции между биохимическими и количественными признаками, с целью установления связи между структурными особенностями клеточной мембраны и функциональной деятельностью

клетки или между соответствующим белковым аллотипом и определенным количественным признаком. Возможно, что структурная особенность соответствующего белка протоплазмы отражается в метаболической деятельности клетки. В решении названных вопросов помогают традиции советской генетики и селекции, связанные с именами выдающихся ученых Н.И. Вавилова и Н.К. Кольцова.

Принимая во внимание вышеизложенное, мы поставили перед собой следующие задачи:

1) получить некоторые сведения об иммунологической реактивности и резистентности в перинатальный период в целях нахождения признаков, могущих быть исходными для изыскания факторов или индикаторов резистентности. С этой целью изучались:

а) эффективность некоторых методов антигенной стимуляции;

б) иммунологическая реактивность молодого животного путем определения содержания неспецифических иммуноглобулинов сыворотки крови, индуцированных вакцинацией изменений в клеточной структуре периферийной крови, интенсивности синтеза нуклеиновых кислот в печени и селезенке, активности сукциноксидазы печени, а также фагоцитарной активности;

2) возможность стимулирования резистентности (иммунологической реактивности) развивающегося организма экзогенными нуклеиновыми кислотами, обращая при этом внимание на генетическое родство между донором и реципиентом;

3) влияние материнского и отцовского генотипов на резистентность потомства в перинатальный период, сравнивая при этом влияние разных типов муцин-глобулинов яичного белка на резистентность потомства.

## А. ИССЛЕДОВАНИЕ ОТВЕТНОЙ РЕАКЦИИ ОРГАНИЗМА НА ВАКЦИНАЦИЮ В ПЕРИНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОД

Среди большинства иммунологов принято считать, что перинатальный период характеризуется низкой иммунологической реактивностью. Поскольку многие авторы, в особенности англо-американские исследователи, подразумевают под иммунологической реактивностью способность синтеза антител, то естественно, что некоторые иммунологи характеризуют этот период индивидуального развития отсутствием иммунологической реактивности. И действительно, некоторым видам животных свойственна неспособность синтеза антител в перинатальный период. Но утверждение, что этот период онтогенеза лишен всякой иммунологической реактивности, свидетельствует о явной недооценке иммунологических потенциалов молодого организма на данном этапе развития. Некоторые же иммунологические процессы происходят в ювенильном организме даже быстрее, как, например, расщепление и удаление антигена (Jvanyi, Hgaba, Cerny, 1964). Поэтому В.М. Берман (1955) совершенно правильно выступает против применения понятия ареактивности для обозначения защитных возможностей молодого организма.

Перинатальный период характеризуется, с одной стороны, выраженной восприимчивостью к некоторым факультативно патогенным микроорганизмам, например, *Escherichia* и *Proteus*, а с другой — резистентностью к некоторым облигатно патогенным микроорганизмам (М.М. Сиротинин, 1938; В.И. Полтев, 1947; Л.А. Зильбер, 1948; В.С. Ручковский, 1951; И.Ф. Здродовский, 1961). Ссылаясь на биогенетический закон Геккеля, В.И. Полтев допускает, что ранним этапам индивидуального развития свойственна высокая активность клеточного иммунитета и слабая выраженность гуморальных факторов. В общем это правильно. Известно, что фагоцитарная активность обнаруживается уже на первых этапах эмбриогенеза

(А.К. Дондуа, 1954; Nicol et al., 1962; Stiffel et al., 1964), но она ниже, чем у взрослых. Продемонстрировано, что причиной низкой фагоцитарной активности лейкоцитов у молодого животного является отсутствие лизоцима (И.А. Аршавский и сотр., 1946; И.А. Аршавский, К.Ф. Соколова, 1949). Однако введение новорожденному крольченку гуморальных факторов не делает его способным к образованию анафилактической реакции (М.М. Сиротинин, 1938). Для перинатального периода характерна низкая невосприимчивость ко многим микробам и высокая невосприимчивость к некоторым токсинам бактериального происхождения (М.М. Сиротинин, 1949; А.М. Пасичник, 1949). По В.М. Коропову (1954), причинами слабой реактивности растущего организма являются незрелость высшей нервной и гуморальной систем, неполноценная выделительная функция кишечного тракта и почек, легкая проницаемость барьеров, особенности терморегуляции и неполноценный характер воспалительной реакции.

Я. Штерцль (1961) считает целесообразным выделить три стадии в развитии иммунологической реактивности организма. Первая стадия ограничивается фагоцитозом. Для второй стадии характерно возникновение способности к специфической клеточной реакции типа отдаленной гиперчувствительности. Третья стадия характеризуется возникновением способности синтеза циркулирующих антител.

Таким образом, иммунологические способности организма в перинатальном периоде постепенно усвершенствуются и специализируются. На иммунологическую зрелость организма указывает способность синтеза антител. Продолжительность созревания иммунологической реактивности зависит от вида животного. Новорожденный может или оказаться уже более-менее созревшим, или он рождается физиологически недоразвитым.

#### I. Исследование эффекта вакцинации у кролика в ранний постнатальный период

Согласно более ранним исследованиям, способность к

синтезу специфических антител образуется у кроликов с 3-недельного возраста и, в зависимости от антигена, формируется окончательно к концу I-2-го месяца жизни (Freund, 1930; К.Т. Халяпина, 1947; Sterzl, Hrubesova, 1959/. По данным К.Т. Халяпиной (1950, 1954), на первую иммунизацию крольчат реагирует лишь на 18-й день жизни. Образование полноценного антитоксического иммунитета к дифтерийному токсину происходит лишь в 2-месячном возрасте. При сравнении кролика с другими видами животных К.Т. Халяпина наблюдала хорошо выраженную связь между физиологической зрелостью новорожденного и уровнем развития иммунологической реактивности.

В настоящей работе был исследован ответ молодого организма на пороговую дозу микроба *E. coli*. Ответная реакция крольчат оценивалась путем наблюдения динамики спектра белков сыворотки крови, определения специфических агглютининов и характеристики изменений в клеточном составе периферийной крови.

Как показали результаты исследования, однократная вакцинация 2-недельных крольчат породы венский голубой дозой  $2,5 \cdot 10^8$  бактериальных клеток не вызвала в течение двух последующих недель синтеза антител. Изменения в динамике белков сыворотки крови, индуцированные вакцинацией, довольно незначительные. У 2-недельных реципиентов отмечалось повышение содержания бета-глобулинов. То же самое наблюдалось у 3-недельных реципиентов.

Для вакцинации 3- и 4-недельных крольчат была использована вакцина *E. coli* O III в дозе  $1 \cdot 10^9$  бактериальных клеток.

Выяснилось, что 4-недельные реципиенты уже иммунологически реактивные. Они способны синтезировать агглютинины, специфические к кишечной палочке. Но синтез антител у них не сопровождался заметным повышением синтеза неспецифических гамма-глобулинов. Влияние вакцинации отсутствовало также в других фракциях белков сыворотки крови. Следует отметить, что 5-недельные крольчата синтезируют и нормальные агглютинины.

Поскольку изменения, индуцированные вакцинацией, являются только при дисперсионном анализе данных, а не при сравнении арифметических средних (Ю. Павел, 1961), то можно заключить, что антигенная стимуляция вызывает в постнатальном периоде лишь едва заметные изменения в синтезе белков сыворотки крови.

Клеточная реакция крольчонка отличается от реакции взрослого животного. В отличие от последних, лимфопения и плазмоцитарная реакция не сопровождаются эозинопенией, что свидетельствует о низкой деятельности надпочечников (Sayers, 1950).

Как правило, в ответ на вакцинацию крольчата образуют плазматические и лимфоидные клетки, а также плазматочиты. Они характеризуются более высоким содержанием псевдоэозинофилов и макролимфоцитов с одновременным понижением количества моноцитов и микролимфоцитов (Ю. Павел, Х. Телл, 1967).

Во всех анализированных опытах наблюдались существенные различия между пометами по всем белковым фракциям, что указывает на роль генетических факторов в синтезе белков сыворотки крови.

Об иммунологической незрелости молодого кролика в течение первых трех недель жизни говорит и то обстоятельство, что вакцинация в этом периоде жизни оказывает тормозящее влияние на рост крольчат, чего однако не отмечается у 4-недельных иммунологически ссзевших реципиентов (см. табл. I). Это наблюдение не согласуется с данными В.М. Бермана (1947), утверждающего, что вакцинация в раннем постнатальном периоде не влияет на кривую роста молодых животных. На основе своих данных он заключает, что наблюдаемая в указанный период развития гипореактивность имеет не качественный, а количественный характер. Это мнение подтверждается и нашими данными, поскольку доза  $2,4-4,0 \cdot 10^9$  бактериальных клеток вызывает синтез антител уже у 7- и 12-дневных реципиентов. Из таблицы I видно также, что синтез антител является функ-

Таблица I.

Динамика живого веса (в граммах)  
подопытных крольчат

Возраст во время вакцинации (в неделях)	Возраст крольчат (в днях)	Вакцинированные		Контрольные		Разница
		n	$\bar{x} \pm m\bar{x}$	n	$\bar{x} \pm m\bar{x}$	
2	5	24	95 $\pm$ 4	22	94 $\pm$ 6	I
	14	24	193 $\pm$ 9	22	193 $\pm$ 11	0
	21	25	257 $\pm$ 21	20	264 $\pm$ 20	-7
	28	23	327 $\pm$ 25	21	341 $\pm$ 27	-14
3	21	4	411 $\pm$ 24	3	405 $\pm$ 54	6
	28	7	622 $\pm$ 24	6	648 $\pm$ 46	-26
	35	7	852 $\pm$ 30	5	860 $\pm$ 56	-8
4	28	21	346 $\pm$ 14	24	346 $\pm$ 16	0
	35	18	462 $\pm$ 25	17	471 $\pm$ 29	21
	42	10	525 $\pm$ 43	6	517 $\pm$ 40	8

цией развития, а не роста. Так, 4-недельные реципиенты синтезировали антитела, хотя по весу они значительно уступали 3-недельным реципиентам, неспособным к синтезу антител.

2. Исследование влияния вакцинации у цыплят  
в перинатальный период

Хотя определение титра антител, а также характера спектра глобулинов сыворотки крови дает некоторую информацию об иммунологической реактивности организма, однако названные признаки не характеризуют еще в достаточной мере защитные потенциалы организма (В.М. Берман, 1947). К этому следует добавить, что в отношении целого ряда патогенов роль антител невелика, что иллюстрируется хотя бы тем обстоятельством, что вакцинация агамма-глобулинемических па-

циентов вызывает у последних проявление иммунитета (Gitlin, Janeway, 1957).

Существенно установив, какие показатели иммунологической реактивности имеют решающее значение в резистентности организма. Можно смело утверждать, что эта проблема является центральной в современной генетике резистентности. Для суждения о так называемой общей реактивности организма исследованы многие критерии (В.И. Иоффе, 1944, 1959; Л.А. Зильбер, 1948; Boyd, 1956; Skarnes, Watson, 1957), но думается, что универсального критерия для характеристики резистентности не существует (К. Эрикссон, 1964). Следует отметить, что А.В. Герасимчук (1967) пытался охарактеризовать иммунологическую реактивность растущего организма, определяя не только титр антител и нормальных агглютининов, бактерицидность сыворотки крови, но и кожную реакцию на антивидовую сыворотку путем определения коэффициента ранговой корреляции.

Ввиду того, что наиболее всеохватывающее представление о генетических потенциалах резистентности животного дает определение восприимчивости организма к данному патогену, в дальнейших опытах с этой целью применялось экспериментальное заражение. Инфекционным началом был выбран *Salmonella gallinarum*, а объектом исследования — цыпленок, поскольку курица является вполне подходящим объектом для изучения образования иммунологической реактивности ввиду своеобразия жизненного цикла.

В целях изучения возможности оценки иммунологических потенциалов развивающегося организма, мы пытались определить связь между вакцинационным ответом и резистентностью, для чего применяли двукратную вакцинацию (первая стимуляция в эмбриональном периоде, вторая — на первый—второй день после вылупления). Необходимо отметить, что идея о применении интраэмбриональной вакцинации не нова, этот метод применялся уже раньше (Burchardt, 1879; Mérieux, 1959; Mande, 1960; Б.В. Воскресенский и сотр., 1961; В.К. Пророкова, М.А. Тур-

дакова, 1964; А.А. Сохин, 1966). Но в отличие от предыдущих авторов, примененная нами методика предусматривала не вакцинацию материнского организма, а непосредственно зародыша. Этим избегался активный ответ материнского организма, в результате чего антигенная стимуляция не опосредовалась организмом матери. Известно, что при вакцинации матери в зародыш попадают не только бактериальные гаптены, но и специфические антитела матери (Kendrick et al., 1945), модифицирующие или даже понижающие активный ответ зародыша.

Ввиду применения подкожного заражения, миновалась барьерная функция кишечника, в результате чего полученные данные характеризуют деятельность всех защитных механизмов организма, кроме барьерной функции кишечного тракта. С другой стороны, подкожное заражение обеспечило точную дозировку бактериальной суспензии, имеющую громадное значение при оценке резистентности в раннем постнатальном периоде.

Полученные данные свидетельствуют о том, что, кроме возможности преодоления иммунологической инертности молодого животного, наряду с адъювантом (Г.А. Гурвич и сотр., 1964; Т.К. Новикова, 1965) и  $S_x$ -реактивным белком (И.В. Фрязинова, 1968), удовлетворительные результаты дает также антигенная стимуляция зародыша. Мы прибегали к двукратной вакцинации, поскольку первая, предварительная стимуляция тормозит возникновение отрицательной фазы в реакции организма на эндотоксин (Shilo, 1950).

Первая задача состояла в том, чтобы определить, когда целесообразно проводить стимуляцию зародыша — до или после того, как в сыворотке крови его представлены все фракции глобулинов. Известно, что зародыш на 10-й день развития синтезирует все белки сыворотки крови, причем его чувствительность к бактериальным факторам повышена (Smith, Thomas, 1956; Weidanz, Shaffer, 1962).

В первом опыте в качестве вакцины использовали фор-

молвакцину из *S.gallinarum* 15-S инъецируя ее в количестве  $0,5-1,5 \cdot 10^7$  клеток на 6-й, 8-й, 10-й, 12-й, 14-й или 16-й дни инкубации. Вторичную подкожную вакцинацию проводили в первый день после вылупления, в двукратной дозе. На следующий день после ревакцинации цыплят заражали подкожно живой культурой *S.gallinarum* 15-S в дозе 0,2 мл ( $1,0-1,5 \cdot 10^8$  клеток/мл). За смертностью цыплят следили в течение 21 дня после вакцинации. Наиболее эффективным оказалось воздействие, произведенное на 10-й и 12-й дни инкубации. Следующий опыт подтвердил полученные данные, причем оптимальным сроком оказался все же 12-й день инкубации. Данный способ вакцинации оказывал хороший стимуляционный эффект, судя по смертности цыплят, которая оказалась на 20-40% ниже по сравнению с невакцинированными цыплятами.

Поскольку двукратная вакцинация оказывает стимулирующее влияние на защитные функции организма, то возникает необходимость определить, в каких же показателях иммунологической реактивности отражается эффект вакцинации. С этой целью были изучены метаболическая активность печени и селезенки, состояние кровотока и активность РЭС.

В некоторых опытах у вакцинированных цыплят действительно наблюдалось кратковременное повышение содержания РНК в печени по сравнению с невакцинированными цыплятами. Наряду с этим вакцинация не отражалась на активности сукциндегидразы печени, которая понижается в ходе инфекции. Так, средние данные по трем опытам (потребление  $O_2$  200 мг ткани печени в мкл) перед заражением, были на 2-й, 4-й и 6-й дни после заражения следующими:

у вакцинированных цыплят	579	517	505	471
у невакцинированных цыплят	593	498	556	477.

Полученные данные согласуются с утверждением Н.Н. Шастина (1953) и Л.И. Ниселовской (1963), что вакцинация не стимулирует активность дыхания печени. Но вакцинация повышает активность элементов РЭС. На это указывает то обстоятельство, что у вакцинированных и зараженных цыплят количество

живых бактерий в печени по сравнению с невакцинированными зараженными цыплятами значительно ниже, хотя бактерицидность плазмы крови не повышается.

Однако вакцинация вызывает у молодых цыплят некоторое повышение синтеза ДНК и РНК в селезенке, препятствуя возрастному снижению концентрации названных биополимеров. Этим подтверждаются данные, согласно которым процессы иммуногенеза отражаются в селезеночной ткани (Makinodan et al., 1954; Э.Л. Хасман, 1964; Л.И. Краснопрошина, М.В. Далин, 1964; Longenecker et al., 1966; М.И. Грутман, 1968).

Влияние вакцинации отражалось и на гемопоэзе. Характерно, что у вакцинированных цыплят сдвиг влево оказался более умеренным, чем у невакцинированных зараженных цыплят. Вакцинация повышала уровень палочкоядерных псевдоэозинофилов и обуславливала более резкое повышение содержания моноцитов. Что касается лимфоцитов, то их количество после ревакцинации несколько падает, а затем резко повышается.

Специфичность реакции цыплят изучалась при помощи как корпускулярных, так и водорастворимых бактериальных препаратов *E.coli* и *S.gallinarum*. Результаты опытов показали, что все изученные препараты оказывали стимулирующее действие на резистентность цыплят. Обстоятельство, что только в одном опыте удалось обнаружить достоверное различие во влиянии эндотоксинов *S.gallinarum* и гладкого штамма кишечной палочки (смертность цыплят соответственно 31,5 и 48,6%,  $P < 0,05$ ), говорит о низкой специфичности реакции молодого животного и указывает на то, что, если на самом деле действие вакцинации состоит в индуцировании синтеза опсопинов (Karthigasu et al., 1964), то синтезируемые опсопины отличаются низкой специфичностью.

В настоящей работе изучалась также возможность повышения эффекта вакцинации путем стимуляции обмена веществ ионами серебра. Известно, что ионы серебра в низ-

кой концентрации активизируют аденозинтрифосфатазы (В.А.Энгельгардт исотр., 1941; Chapell, Greville, 1954; Hollunger, 1960). Оказалось, что вакцина, содержащая 25 мкг/мл ионов серебра, является более эффективной, чем вакцина, их не содержащая. При этом ионы серебра *per se* стимулирующего действия на резистентность не оказывали. Выяснилось, что повышение резистентности зависит в основном от дозы вакцины, причем эффект вакцинации повышается благодаря ионам серебра.

Таким образом, подтвердились данные Милера (Miler, 1963) и других (Т.К. Новикова, 1965; А.И. Карелин, 1966) о том, что эндотоксины стимулируют резистентность и в гипореактивном периоде иммунологической реактивности. Выяснилось также, что ЛПС вызывает не только кратковременный промунитет (Kauffmann et al., 1964), но и более продолжительное повышение резистентности, продолжающееся, по-видимому, не менее 8-14 дней. Однако водорастворимый препарат из *Saccharomyces cerevisiae* у цыплят резистентности не стимулирует. Это объясняется тем, что активное начало - зимозан - в воде не растворимо (Х.Ф. Басс-Шахдан, 1965).

Полученные данные позволяют предполагать, что путем определения вакцинационного ответа можно получить сведения о защитных потенциалах птицы уже на первой неделе жизни. Индукция повышения палочкоядерных псевдозоинофилов и моноцитов на второй день после ревакцинации цыплят, а также повышенная фагоцитарная активность указывают на возможную индикаторную роль этих признаков при пуллорозе. Индуцированные изменения в лимфоидной ткани указывают также на возможную индикаторную роль названной ткани.

Итак, определение иммунологической реактивности организма на проведенную в перинатальном периоде вакцинацию может дать некоторое представление о его резистентности.

#### Б. ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ЭКЗОГЕННЫХ НУКЛЕОПРОТЕИДОВ И НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ В ПЕРИНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОД

В последние годы все больше появляется сообщений,

указывающих на возможность изменения синтеза белков в соматических клетках экзогенными нуклеиновыми кислотами. Эти сообщения не только подтверждают уже ранее известные факты об индукционной способности рибонуклеиновых кислот (Fischer et al., 1935; Waddington et al., 1936; Brachet, 1942; Kuusi, 1951; Niu, 1958), но и некоторые из них дают возможность предположить, что экзогенными нуклеиновыми кислотами невирусного происхождения можно направлять синтез белков в клетке.

Исследования, посвященные изучению морфогенетической функции нуклеиновых кислот у растений, довольно малочисленны. Отмечено лишь тормозящее влияние РНК на прорастание семян, причем это действие зависело от концентрации РНК (Ledoux, Huart, 1962). Райку и Элиас (Raicu, Elias, 1962, 1964) обнаружили, что нуклеопротеид оказывает или стимулирующее, или, наоборот, тормозящее влияние на прорастание семян пшеницы, которое зависит от сортового происхождения нуклеопротеида. По нашим данным, гетерологичная РНК, выделенная из 4-дневных ростков ячменя в концентрации 7,3 мг/мл, угнетает рост корней и coleoptilий проростков другого сорта. Заслуживает внимания также модификации и изменения наследственности, индуцированные трансплантацией или инъекцией эндоспермы (И.А. Петров, 1967).

У животных возможность индуцирования модификаций иммунобиологических свойств нуклеиновыми кислотами является наивысшей именно в период формирования иммунологической реактивности, поскольку развитие этих свойств организма зависит в большей степени от экзогенного раздражителя. К сожалению, в литературе полностью отсутствуют подобные данные, за исключением опытов переноса новорожденному реципиенту синтеза антител с помощью изолированных от взрослого животного нуклеиновых кислот и нуклеопротеидов (Sterzl, Grubesova, 1956).

#### 1. Влияние неочищенного дезоксирибонуклеопротеида на иммунологическую реактивность крольчат

Первая серия опытов была посвящена изучению влияния

дезоксирибонуклеопротеида (ДНП) селезенки взрослого кролика на синтез белков сыворотки крови у 5-дневных реципиентов. Выяснилось, что ДНП (200–600 мкг/мл, 25–93 мкг/мл Р), введенный подкожно в количестве 0,4 мл 5-дневным крольчатам, не вызывал существенных изменений в спектре белков сыворотки крови на 5-й и 9-й дни после введения препарата (т.е. на 10-й и 14-й дни жизни). Однако экзогенный ДНП несколько ослабляет корреляцию между весом крольчонка и содержанием альбуминов в сыворотке крови.

В следующей серии опытов изучалось влияние предварительно введенного ДНП на индуцируемые последующей вакцинацией процессы иммуногенеза. Реципиентами были, как и ранее, 5-дневные крольчата породы венский голубой, которым вводили препарат (150–912 мкг/мл N, 6–100 мкг/мл Р) подкожно. Крольчата подвергались вакцинации вакциной *E.coli* (доза  $2,5 \cdot 10^8$  бактериальных клеток) на 14-й день жизни. Спектр белков сыворотки крови определялся на 14-й, 21-й, и 28-й дни жизни. Оказалось, что предварительное введение ДНП модифицирует ответ молодого организма на последующую вакцинацию. У крольчат, заранее обработанных ДНП, относительное содержание всех видов глобулинов оказалось меньше по сравнению со свежевакцинированными крольчатами. Можно также видеть, что вакцинация *per se* снижает относительное содержание бета-глобулинов и повышает синтез гамма-глобулинов и альфа-глобулинов (см. рис. 1). Что касается абсолютного содержания глобулинов, то использованные препараты оказали достоверное

влияние на синтез бета- и гамма-глобулинов. Содержание  $\bar{x}$  названных глобулинов /в г %/ в сыворотке крови приведено в табл. 2.

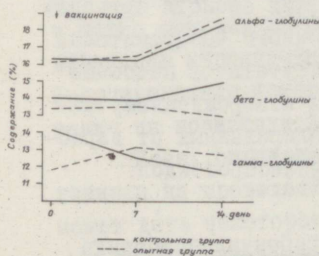


Рис. 1 Динамика глобулинов у вакцинированных в 2-недельном возрасте крольчат

Таблица 2

Содержание бета- и гаммаглобулинов

	Группа	Возраст крольчат		
		14 дней	21 день	28 дней
Бета-глобулины	Д	0,545	0,676	0,607
	В	0,624	0,666	0,601
Гамма-глобулины	Д	0,554	0,593	0,546
	В	0,545	0,651	0,587

Таким образом, заранее проведенная стимуляция животных ДНП ослабляет неспецифический ответ организма, выражающийся в понижении синтеза гамма-глобулинов.

Сравнение арифметических средних отдельных фракций не выявляет в протеосинтезе эффекта использованных препаратов, который обнаруживается только путем дисперсионного анализа исходных данных. Это показывает, что как введение ДНП, так и вакцинация вызывают относительно небольшие изменения в синтезе белков сыворотки крови.

В то время, когда влияние ДНП мало заметно в отдельных фракциях глобулинов, оно более четко проявляется в синтезе всех белков сыворотки крови. Так, среднее содержание общего белка (в г%) в день вакцинации, на 7-й и на 14-й дни после нее было следующее:

ДНП + вакцина	5,54	5,11	4,67
вакцина	4,62	4,93	4,67
контроль	4,80	4,80	4,70

Интересно отметить, что у 14- и 21-дневных крольчат, за исключением самых тяжелых, наблюдается тенденция, согласно которой высший живой вес сопровождается снижением содержания альбуминов в сыворотке крови. У 28-дневных крольчат имеет место противоположная тенденция - чем тяжелее крольчонок, тем выше у него содержание альбуминов сыворотки крови. Наличие положительной корреляции между живым весом и относительным содержанием альбуминов сыво-

ротки крови проявляется и в вычисленных коэффициентах корреляции, величины которых достаточно высокие и колеблются в пределах 0,53-0,75.

Нуклеопротеид вызывает значительные изменения также в кровотоении, в первую очередь в лимфатических клетках. Так, на 14-й день жизни, т.е. непосредственно перед вакцинацией, у обработанных крольчат количество лимфоцитов меньше, но зато у них значительно больше лимфоидных клеток и плазматочитов.

## 2. Изучение возможности переноса способности к синтезу антител нуклеопротеидами

Для выяснения возможности переноса синтеза антител при помощи экзогенного ДНП, выделенного из селезенки кролика, находящегося в индуктивной фазе синтеза антител, пользовались, кроме нативного ДНП, также его гидролизатами и экстрактами.

Чтобы определить, обусловлен ли синтез антител у реципиентов после введения "иммунного" ДНП нуклеопротеидом или же индуцирован бактериальным антигеном (который выделяется из селезенки донора вместе с нуклеопротеидом), применяли и косвенный путь, деградируя ДНП сильной кислотой или щелочью. Поскольку сильная кислота и щелочь оказывают деградирующее действие также на находящийся в ДНП эндотоксин (Voivin, Delauney 1946), то нуклеопротеиды обрабатывались и слабой щелочью в избытке этанола, воздействие которого не уничтожает иммуногенности бактериального эндотоксина (Е.А. Петросян, 1961). Бактериальный эндотоксин извлекался из ДНП также водонасыщенным фенолом (Westphal et al., 1952) и вероналовым буфером ( $i = 0,06$ ,  $pH = 8,6$ ). Указанные полисахаридные фракции - феноловая в дозе 140 мкг Р, верональная в дозе 92 мкг Р, как и экстрагированный вероналовым буфером ДНП в дозе 630 мкг Р - не вызвали у реципиентов синтез специфических агглютининов.

Указанные результаты подтверждаются данными Буавена и Делоней (Boivin, Delauney, 1946, 1947) о том, что полисахариды не являются антигенами для кроликов. С целью выяснения характера активного вещества был проведен гидролиз препарата смесью уксусной кислоты и этанола, которая освобождает иммунологически активный бактериальный продукт (Bizzini et al., 1954). Поскольку гидролизаты не вызывали у реципиентов синтеза антител, то можно предположить, что активным компонентом является комплекс нуклеиновой кислоты (или нуклеопротеида) и гаптена. То, что облученный, взрослый кролик, а не новорожденный реципиент, образует после введения "иммунного" нуклеопротеида антитела, позволяет с уверенностью сказать, что синтез антител у взрослых реципиентов обусловлен наличием в препарате ДНП бактериального антигена. Полученные данные совпадают с результатами Янковича, Хорвата (Jankovic, Horvat, 1959) и Ван Дооренмаалена (Van Doorenmaalen, 1959).

На основе полученных результатов можно полагать, что синтез антител обусловлен у реципиентов после введения ДНП комплексом нуклеопротеида (или нуклеиновой кислоты) с бактериальным гаптенем. Этот вывод подтверждается и результатами, полученными при изучении переноса способности к синтезу антител у кур породы белый леггорн и нью-гемпшир.

Доноров породы белый леггорн вакцинировали вакциной *S.gallinarum* штамм I5-S в дозе  $1 \cdot 10^9$  бактериальных клеток. Через 48 часов из печени и селезенки была изолирована РНК. Часть раствора РНК инактивировали нагреванием в течение 20 минут при  $80^{\circ}\text{C}$ . В качестве реципиентов были отобраны 3-месячные молодые куры породы белый леггорн и нью-гемпшир, которым препарат (120 мкг Р) вводили внутривенно (см. таблицу 3).

Из таблицы видно, что нативный препарат превышает по эффективности инактивированный препарат только у гомологичных реципиентов (белый леггорн). У гетерологичных реципиентов (нью-гемпшир) различия между препаратами вы-

Таблица 3

Эффективность РНК в зависимости от его генетического средства

Порода реципиента	День исследования *	Инактивированный РНК			Нативный РНК
		Титр антител	**		
		I:24	I:48	I:24	I:48
Белый леггорн	0	0/II	0/II	3/I4	0/I4
	3	0/II	0/II	7/I4	1/I4
	8	2/II	0/II	9/I4	4/I4
Нью-Гемпшир	0	6/I5	0/I5	4/I5	0/I5
	3	4/I5	0/I5	9/I5	1/I5
	8	9/I5	2/I5	12/I5	3/I5

\* День взятия крови после введения РНК  
 \*\* Числитель обозначает число реагирующих, знаменатель - число птиц, на которых было оказано воздействие.

ражены значительно слабее. Поскольку у гомологичных реципиентов эффективным оказался только нативный препарат, то можно думать, что наряду с бактериальным антигеном известную роль играет и РНК. Роль РНК ограничивается, по-видимому, не только пассивным носителем бактериального гаптана.

### 3. Изучение роли генетического средства между РНК и реципиентом

Поскольку наши предварительные результаты свидетельствуют <sup>о ба.ли</sup> о положительном влиянии гомологичной РНК на развитие зародыша и даже о некотором стимулирующем эффекте на развитие защитных функций вылупившегося цыпленка, то мы постарались выяснить, зависит ли биологический эффект экзогенной РНК от происхождения препарата, т.е. от генети-

Таблица 4

Влияние РНК на развитие зародыша

№ опыта	Введенный в яйцо препарат	Время введения препарата (день инкубации)	Кол-во яиц	Кол-во вылупившихся цыплят	% выводимости
1	РНК БЛ	5	30	29	96,7 <sup>x</sup>
	Физ.раствор		30	21	70,0
2	РНК БЛ	5	100	62	62,0
	Физ.раствор		40	30	75,0
3	РНК БЛ	5	60	48	80,0
	РНК НГ		60	43	71,7 <sup>x</sup>
	Физ.раствор		30	28	93,3
4	РНК КШ	5	64	39	60,9 <sup>x</sup>
	Физ.раствор		32	30	93,8
5	РНК БЛ	13	60	53	88,3
	РНК НГ		60	56	93,3
	Физ.раствор		30	29	96,7
6	РНК КШ	14	70	33	54,3 <sup>x</sup>
	Физ.раствор		36	32	88,9

Обозначения: БЛ - белый леггорн,  
 НГ - нью-гемпшир,  
 КШ - корниш,  
 Физ.раствор - 0,14 М раствор поваренной соли.

<sup>x</sup> -  $P < 0,05$  по сравнению с влиянием физиологического раствора.

ческой близости между донором и реципиентом. В качестве реципиентов были взяты зародыши кур породы белый леггорн и доноров — нормальные куры пород белый леггорн, нью-гемпшир или корниш.

РНК вводили в белок в количестве 0,1 мл /120-560 мкг на яйцо/ на 5-й, 13-й или 14-й дни инкубации. Статистически достоверное снижение вылупляемости отмечалось только в опытах, в которых на зародыш воздействовали гетерологичной РНК, т.е. от кур чужой породы — нью-гемпшир или корниш (см. таблицу 4). В окраске оперения, клюва и ног различий между опытными и контрольными цыплятами не наблюдалось.

Во всех опытах, за исключением одного, воздействие РНК на зародыш не вызывало существенного повышения резистентности вылупившихся цыплят. Только в опыте, где в зародыш была введена РНК от иммунной к *S. gallinarum* курицы, препарат несколько повышал резистентность вылупившихся цыплят ( $P < 0,01$ ).

#### В. О НЕКОТОРЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ АСПЕКТАХ РЕЗИСТЕНТНОСТИ

Основным поводом, побудившим нас к изучению генетических аспектов резистентности, является несоответствие между низким коэффициентом наследуемости резистентности и довольно высоким селекционным эффектом. Так, коэффициент наследуемости резистентности почти не превышает 10% (Lush et al., 1948; Brunson et al., 1956). С другой стороны, многочисленные литературные данные указывают на эффективность отбора на резистентность, о чем свидетельствует значительное повышение резистентности стада после селекции (Lambert, 1931; Irwin, 1933; Gowen, 1933, 1946 и др.).

Поскольку в перинатальном периоде гены, обуславливающие резистентность, активизируются постепенно, резистентность цыплят в пределах соответствующих петухов анализировалась как в течение первых 9 дней, так и 21 постинфекционного дня.

При изучении иммунологической реактивности в перинатальный период жизни внимания заслуживает также роль Генотипа матери. Многими авторами показано, что генотип матери оказывает на жизнеспособность зародыша большое влияние, чем генотип самой зиготы (Crittenden et al., 1957; Crittenden, Bohren, 1961; Morton et al., 1965).

### I. О полиморфизме муцин-глобулинов яичного белка в популяциях нью-гемпшир и белый леггорн

Изучение генетического полиморфизма популяций (а также механизмов сохранения полиморфизма) связано с целым рядом важных теоретических и практических проблем. В теоретическом плане это — проблемы популяционной генетики, например, характеристика генетической структуры данной популяции, мутабельность соответствующих генов, приспособляемость аллелов, проявление аллелов в конкретной экологической и генетической среде, а также вопросы, связанные с онто- и филогенетикой.

Однако к предварительным данным о селективной ценности разных аллелов, определяющих синтез соответствующих типов биополимеров, следует относиться критически, так как проявление гена зависит от действия других генов (Osborne, 1961; McDermid, 1965). Можно предположить, что наибольшую практическую ценность приобретает определение генетического полиморфизма в целях изучения механизмов его сохранения.

Генетический полиморфизм курицы, в частности запасных белков яйца, в последние годы довольно широко изучен (Lush, 1961; Stratil, 1967, 1968; Baker, 1964, 1967; Croizier, 1966; Feeney et al., 1967; Wiseman, Fothergill, 1967 и мн. другие). В настоящей работе полиморфизм муцин-глобулинов яичного белка был исследован у породы белый леггорн в племенном хозяйстве "Сакала" и у кур породы нью-гемпшир на Куртнаской опытной станции

птицеводства. У породы белый леггорн были исследованы 3 линии (А, В и С), происходящие из фирмы Шавер. У породы нью-гемпшир исследовали 4 линии (№№ 8, 38, 765 и 4625), выведенные на Куртнаской опытной станции птицеводства, а также одну линию (А) американского происхождения.

Соответствующие генотипы отличались по Бейкер и Менуеллу (Baker, Manwell, 1962). Аллели локуса  $G_3$  обозначали соответственно  $G_3^A$  и  $G_3^B$  (по Лашу  $II^A$  и  $II^B$ ), локуса  $G_2 - G_2^C$  и  $G_2^D$  (соответственно  $III^A$  и  $III^B$ ). Так, дигетерозиготу обозначали  $G_3^A G_3^B G_2^C G_2^D$ , или упрощенно - ABCD.

Сравнение двух пород - белого леггорна и нью-гемпшир - выявило у нью-гемпшира 6 генотипов - AADD, BBDD, ABDD, AACD, BBDD и ABCD, а у белого леггорна 5 генотипов - AACC, AADD, ABDD, AACD и ABCD.

Из дальнейших исследований выяснилось, что линии в пределах одной породы заметно различаются как по частоте отдельных генотипов, так и по частоте генов. В качестве иллюстрации приведем частоты генов трех линий породы белый леггорн (линии А, В и С).

Линия/аллель	А	В	С	Д
А	0,99520	0,00480	0,19450	0,80550
В	0,96910	0,03090	0,08505	0,91495
С	0,98995	0,00380	0,08265	0,91735

Все три изученные линии характеризовались равновесным состоянием. Что касается линии породы нью-гемпшир, то здесь наблюдались различия во встречаемости соответствующих генотипов в трех сравниваемых многочисленных линиях (№№ 8, 765 и 4624). Небезынтересно отметить, что в линии 4624 фактическая частота дигетерозиготных птиц (ABCD) была значительно выше ожидаемой. Линии отличались также по частоте аллелей.

Линия/аллель	A	B	C	D
8	0,570470	0,429530	0,030200	0,969800
765	0,559835	0,440165	0,095440	0,904560
4624	0,585950	0,414050	0,113300	0,886700

Между породами наблюдались значительные различия как в частоте генов, так и в частоте генотипов. Частота аллелов у двух пород оказалась следующей.

Порода/аллель	A	B	C	D
Белый леггорн	0,989950	0,010050	0,121900	0,878100
Нью-гемпшир	0,567185	0,432815	0,058960	0,941040

Особенно заметны различия в частоте аллелов А, В и С. Так у породы нью-гемпшир встречаемость аллелов А и С ниже, чем у породы белый леггорн. Если породе белый леггорн свойственно преобладание генотипа ААDD, то у породы нью-гемпшир доминирует генотип АВDD. У породы белый леггорн наблюдается относительно высокая частота генотипа ААСD, а у породы нью-гемпшир этот генотип встречается относительно редко. Породу белый леггорн характеризует также отсутствие генотипа ВВDD, наличие генотипа ААСС и низкая частота генотипа АВСD по сравнению с породой нью-гемпшир.

## 2. О связи муцин-глобулинов яичного белка с резистентностью потомства в перинатальный период

Исходя из эктогенетической теории биогенетического закона (Faludi, 1960), немалый интерес представляет изучение влияния генотипа матери на резистентность потомства в перинатальный период. Имея в виду выводимость, Mérat, (1966) отмечает, что в некоторых случаях зиготность матери может оказать непосредственное воздействие на селективную ценность потомства. Это допущение имеет реальную основу, ибо иммунологическое состояние матери влияет

непосредственно на иммунологическую реактивность потомства (Kerman et al., 1967; Solomon, 1965; 1966; Creanga et al., 1966). Таким образом определение эволюционной роли генотипа матери представляет определенный интерес (Vivanendran, 1967).

Различия во влиянии разных типов муцин-глобулинов курицы на развитие зародыша обнаружили Мортон с сотрудниками (Morton et al., 1965). Они продемонстрировали, что муцин-глобулины и трансферрины матери влияют на эмбриональную смертность, причем обнаруживается аддитивность действия генов.

Для определения роли генотипа матери в образовании защитных механизмов в перинатальный период жизни применялось искусственное заражение 2- или 3-дневных цыплят *S. gallinarum* (в дозе  $1-3 \cdot 10^7$  бактериальных клеток). За смертностью следили в течение 21 дня. Ввиду того, что влияние матери после вылупления постепенно снижается, смертность определялась также в течение первых 9 дней после заражения (т.н. постэмбриональная смертность I) и в течение всего изучаемого периода - 21 дня (т.н. постэмбриональная смертность 2).

Сравнение падежа на разных этапах онтогенеза (оплодотворяемость, эмбриональная смертность, постэмбриональная смертность I и 2) показало, что на разных этапах развития он может существенно различаться. Это ярко свидетельствует о том, что сохранение наследственного полиморфизма нельзя объяснить только резистентностью одного онтогенетического этапа. Эмбриональная смертность у четырех более часто встречаемых генотипов оказалась следующей: AB DD - 36,97%, BB DD - 33,82%, ABC D - 48,77% и AA DD - 43,47%. Разница во влиянии генотипов матери на резистентность цыплят была отмечена лишь в одном случае, когда влияние матери продолжалось до 9-го постинфекционного дня. Смертность цыплят соответствующих матерей оказалась следующей: AB DD - 90,02%; BB DD - 84,72%, ABC D - 96,92% и

AA DD - 85,71%. Хотя различие во влиянии генотипов матери и не достоверное ( $0,05 < P < 0,10$ ), однако полученные данные указывают, что в некоторых конкретных условиях влияние мутин-глобулинов матери может продолжаться и в раннем постнатальном периоде.

Уменьшение материнского влияния на следующих этапах онтогенеза показывает, что сальмонеллез как фактор отбора устраняет различия между генотипами матери. Так, выживаемость после заражения (в %) потомства разных матерей с вычетом от количества всех яиц, оплодотворенных яиц и вылупленных цыплят оказалось следующей:

	AB DD	BB DD	ABC D	AA DD
от количества яиц	4,85	4,72	4,21	4,30
от количества оплодотворенных яиц	5,37	6,47	5,25	6,14
от количества вылупленных цыплят	10,11	9,78	10,24	10,90

Анализ влияния генотипа матери в трех линиях (№ 8, 765 и 4624) показал, что различия в материнском эффекте проявляются только в эмбриональной смертности (линии 765 и 4624). Однако следует отметить, что влияние генотипа матери обнаружилось в линии № 765 и в постэмбриональной смертности 2 (т.е. в течение 21 постэмбрионального дня). Этот факт еще раз подчеркивает, что влияние матери может проявляться и в постэмбриональном периоде, причем оно зависит также от действия других генов.

Путем определения роли зиготности матери удалось доказать, что она имеет значение как при оплодотворении, так и при эмбриональной смертности и в некоторой степени при постэмбриональной смертности (см. таблицу 5).

При сравнении полученных средних выяснилось, что оплодотворяемость оказалась выше у гетерозиготных по локусу  $G_3$  кур. Эмбриональная смертность оказалась также выше у гетерозиготных кур, но это было обусловлено не локусом  $G_3$ , а  $G_2$ . Наблюдаемые в постэмбриональной смертности

Таблица 5

Сравнение влияния гомозиготных <sup>и гетерозиготных</sup> матерей  
на смертность потомства

Признак	Локус	Выражение признака	
		гомозиготы	гетерозиготы
Оплодотворяемость		-8,3474	+ 7,9177
		+3,8801	+10,7808
Эмбриональная смертность		-3,5719	+15,6766
		-2,7417	+32,3944
Постэмбриональная смертность I		-4,6866	+ 5,5726
		-2,2969	+ 8,6626
Постэмбриональная смертность 2		-4,7076	- 0,0827
		-1,7726	- 4,2828

различия между гомо- и гетерозиготами оказались не существенными.

В итоге можно сказать, что муцин-глобулины яичного белка влияют на эмбриональное развитие потомства, а иногда даже на резистентность свежевывупленных цыплят к *S. gallinarum*. Обстоятельство, что эффект генотипа (локусы  $G_3$  и  $G_2$ ) обнаруживается на развитие эмбриона чаще, чем на резистентность цыплят, говорит о том, что влияние матери в течение индивидуального развития постепенно гаснет. Таким образом, генотип матери является объектом естественного отбора. При этом необходимо подчеркнуть, что существование материнского эффекта отличалось только в части опытов у породы нью-гемпшир. Это значит, что эффект локусов  $G_3$  и  $G_2$  матери зависит как от генотипа в целом, так и от конкретных экологических условий.

### 3. Изучение генетических потенциалов петухов в отношении резистентности потомства в пе- ринатальный период

Основной причиной изучения роли генетического фактора резистентности является несоответствие между низкой наследуемостью резистентности (Lush et al., 1948; Robertson, Lerner, 1949; Чауэ, 1954 ) и высоким селекционным эффектом ( Lambert, Кнох, 1932; Gowen, 1937; King et al., 1952). Так, по данным большинства исследователей коэффициент не превышает заметно 10%. Одной из причин считается то, что дисперсионный анализ не пригоден для определения наследуемости многих признаков (Н.А. Плохинский, 1964).

Генетические потенциалы петухов в отношении оплодотворяемости, эмбриональной смертности и резистентности свежевывлупленных цыплят к искусственному заражению *S. gallinarum* изучались у птиц Куртнаской популяции породы нью-гемпшир. Цыплята были заражены так же, как в прежних опытах.

Как мы увидим из данных, представленных ниже, эмбриональная смертность и резистентность к *S. gallinarum* являются "пропорциональными" признаками. Если, например, эмбриональная смертность низкая, то низкая и резистентность к *S. gallinarum*:

эмбриональная смертность (в %)	частота потомств с постэмбриональной смертностью ниже 90 % (в %)
< 30	20
30 -40	39
40 -50	43
> 50	67

Действительно, лишь некоторые петухи имеют высокие генетические потенциалы в отношении как эмбриональной, так и постэмбриональной смертности.

При селекции не следует забывать также комбинативной ценности петуха. На это указывает отмеченное достоверное взаимодействие влияний петуха и кур в половине опытов. Достоверные различия между петухами обнаруживались в постэмбриональной и перинатальной (эмбриональная + постэмбриональная смертность) смертности потомства, а также в оплодотворяемости. Влияние же петуха на эмбриональную смертность удалось установить только в одном случае.

Известно, что одним из факторов, затрудняющих селекцию на резистентность, является выраженная обусловленность защитных способностей организма от условий внешней среды. Об этом свидетельствуют, прежде всего, значительные различия в резистентности, определенной в разные годы (Walters, 1954; Abelein, 1966 и др.) Но обнаруживаемые нами высокие показатели коэффициента повторяемости указывают на то, что наряду с экологическими, генетические факторы играют существенную роль в резистентности организма.

Коэффициенты повторяемости (R) признаков в опытах I-4, I-5 и 3-5 оказались следующими:

оплодотворяемость	0,0485	0,1413	0,0324
эмбриональная смертность	0,2816	0,1771	0,1402
постэмбриональная смертность I	0,0107	0,1194	-0,1500
постэмбриональная смертность 2	0,5472	0,6016	0,1458
перинатальная смертность I	0,0736	0,0742	0,3761
перинатальная смертность 2	0,5507	0,6330	0,3760

Из представленных данных нетрудно уловить, что наивысшая повторяемость имеется у постэмбриональной смертности 2. Отсюда вытекает, что генетические потенциалы петухов проявляются в основном в постэмбриональном периоде развития потомства. Так, следует отметить, что достоверная

разница генетических потенциалов изученных петухов наблюдается во всех сериях опытов в постэмбриональной смертности 2. Обстоятельство, что повторяемость перинатальной смертности 2 еще выше, делает этот признак более репрезентативным.

Было отмечено, что по мере повышения числа петухов понижается  $R$  изученных признаков. Это понятно, поскольку при большом выборе различия между петухами уменьшаются. Довольно высокие значения  $R$  перинатальной смертности 2 (38-63 %) указывают на существенную роль генетических факторов в резистентности.

Сравнение влияния типа муцин-глобулинов матери с влиянием петуха (по значениям степени влияния соответствующих факторов) показало, что влияние отца превышает влияние типа муцин-глобулинов матери в 10 раз.

#### Г. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Изучение генетической детерминированности резистентности ставит перед исследователем большие трудности, вытекающие из полигенной обусловленности резистентности. Одним из возможных путей упрощения ее изучения является использование биогенетического закона. Поскольку становление иммунологической реактивности у большинства видов млекопитающих и птиц происходит или в эмбриональном, или в перинатальном периоде, то исследование иммунологической реактивности в разные моменты перинатального периода дает возможность получить информацию о деятельности отдельных генов или групп генов, в то время как другие гены резистентности супрессированы. Применимость онтогенетического метода подчеркивалась ранее (Н.Н. Колесник, 1966). Другим путем является использование гибридологического анализа, при котором компоненты скрещивания выбираются с таким расчетом, чтобы они различались только по определенным генам. Для

разрешения названных проблем генетики резистентности применимы оба пути, поскольку оба имеют свои преимущества.

Хотя резистентность является полигенным признаком (Lambert, 1931; Lindstrom et al., 1937; Gowen et al., 1946; Bearse et al., 1963; Ф.Б. Хатт, 1963), однако она не зависит от каких-либо обеконституциональных свойств (К. Эрикссон, 1964). Поскольку эффективность селекции на резистентность зависит от генетической структуры популяции, то дальнейшее повышение резистентности довольно трудно (Lerner et al., 1950). В связи с этим высказывалось даже мнение, что селекция на резистентность не оправдывает себя (Х.Ф. Кушнер, 1964). Более того, по данным соответствующих справочников, наследуемость резистентности довольно низка. Однако, по нашим данным, разные петухи заметно различаются по генетическим потенциалам в отношении оплодотворяемости и резистентности свежесдупленных цыплят к *S.gallinarum*. Кроме того, удалось обнаружить, что повторяемость такого признака как резистентность цыплят к *S.gallinarum* в первые три недели жизни довольно высокая и равняется 38-63%. Это является подтверждением существенной роли генетического фактора в резистентности. Но селекция на резистентность серьезно затруднена тем, что на разных этапах перинатального развития жизнеспособность развивающегося организма значительно различается. Так, если, например, эмбриональная смертность потомства данного родителя низкая, то в постэмбриональном периоде оно оказывается более восприимчивым к *S.gallinarum*, и наоборот. Удастся обнаружить лишь единичных петухов, характеризующихся низкой эмбриональной и постэмбриональной смертностью потомства. Таким образом, полученные данные подтверждают важность генетической профилактики в борьбе с заразными болезнями животных (Л.В. Айзинбудас, 1958; Ф.Б. Хатт, 1963; Х.Т. Гизатуллин, 1965; Н.П. Дубинин, Я.Л. Глембоцкий, 1967; Н.Н. Колесник и сотр., 1967), но в то же время они ука-

зывают на большие трудности в селекции на резистентность. Кроме того, дело еще усложняется, если селекцию проводить одновременно на разные инфекции.

Хотя характеристика генетических потенциалов животного путем экспериментального заражения потомства дает хорошие результаты, этот метод имеет только теоретическое значение или, во всяком случае, его значение ограничивается птицами. Ввиду этого, одной из важнейших задач генетики резистентности является изыскание индикаторов резистентности (Hutt, 1965). По существу индикаторы резистентности могут являться или продуктами т.н. главных генов резистентности (т.н. детерминанты резистентности), или продуктами генов, сцепленных с "главными" генами резистентности. Но уже *a priori* можно сказать, что универсальных сигнализаторов, видимо, не существует. Поэтому большое значение приобретает изыскание корреляции между отдельными показателями иммунологической реактивности и резистентностью. При этом опять-таки можно руководствоваться биогенетическим законом.

Для облегчения изыскания детерминантов резистентности мы предлагаем следующую схему, связывающую иммунологическую реактивность с резистентностью, основываясь на идеях выдающихся советских и зарубежных авторов (И.А. Аршавский, 1959; Boyd, 1956; В.С. Гостев, 1959; Gowen, 1951, 1961; Л.А. Зильбер, 1948; П.Ф. Здродовский, 1961; Ш.Д. Мошковский, 1947; Н.Н. Сиротинин, 1951; K6rge, 1963; В.П. Эфроинсон, 1964).

А. Иммунологическая реактивность /познание антигена и реакции на него/.

Г. Неспецифическая реактивность/ определяет неспецифическую реакцию организма/. Зависит от индивидуальности /структуры и функции/ организма:

а) неспецифические факторы невосприимчивости /барьеры, гуморальные факторы и т.д./;

- б) системные факторы /эндокринная и нервная системы/;
- в) отсутствие в организме определенного метаболита.

2. Специфическая реактивность /определяет специфическую реакцию организма/. Зависит от индивидуальности лимфатического аппарата и от присутствия антитело-подобных веществ.

Б. Резистентность /функция иммунологической реактивности/. Не зависит от знака /+ или - / аргумента; ее можно разделить на а) неспецифическую резистентность /связана с неспецифической реактивностью/, б) специфическую резистентность /связана с обеими формами реактивности / и в) резистентность, основанную на гипореактивности организма.

Неспецифические (1) и специфические (2) иммунологические процессы проявляются в следующих комбинациях:

а) /1/ и /2/ имеют одинаковое направление /организмы с высокой, соответственно - низкой, неспецифической и специфической реактивностью/;

б) /1/ и /2/ имеют разные направления /организмы с высокой неспецифической и низкой специфической реактивностью и наоборот/.

Ценность приведенной схемы, кроме объединения физиологических и генетических основ иммунологической реактивности, состоит еще в том, что она не разделяет иммунологические феномены на две разные группы /например, естественный и приобретенный иммунитет/, а указывает, что существуют две ступени реактивности, из которых вторая характеризуется высокой специфичностью. Специфические реакции в большинстве случаев только подкрепляют устойчивость организма (Gowen, 1948, 1960; В.С. Гостев, 1959), а при некоторых возбудителях имеют даже малое значение. Здесь уместно привести слова Б.П. Токина (1955) "Изумительная специфичность реагирования организмов птиц и млекопитающих в ответ на антигенные раздражители является

отображением, в сущности, исключительной неспецифичности механизма реагирования и основана на каких-то общих свойствах возможности перестройки белковых молекул".

По широко распространенной классификации иммунитета, естественный иммунитет соответствует в нашей схеме неспецифической устойчивости, а приобретенный иммунитет - специфической устойчивости. Но, кажется, что понятие "естественный иммунитет" удачно обозначает врожденный видовой иммунитет.

Возможно, что понятие "специфический" в данной схеме не является подходящим для различения иммунологических процессов, но, по нашему мнению, понятие "физиологическая реактивность" вместо "неспецифической реактивности" не имеет существенных достоинств.

Из данной схемы видно, что понятия "реактивность" и "устойчивость" не идентичны. Так, в некоторых случаях низкая иммунологическая реактивность /или ее отсутствие/ является причиной устойчивости. С другой стороны, известно, что гиперреактивность еще не означает невосприимчивости. Следует отметить, что животное может в отношении одного антигена быть сильным, в отношении другого - слабым продуцентом антител (Manko et al., 1968).

Что касается неспецифической устойчивости, то необходимо подчеркнуть, что она может быть обусловлена и отсутствием в организме соответствующего метаболита, необходимого для размножения паразита.

С другой стороны, ввиду мутационной теории иммунитета (В.П. Эфроимсон, 1961), согласно которой некоторые мутантные биополимеры могут действовать как антитела (т.н. антитело-подобные вещества), они должны бы классифицироваться как специфические вещества, хотя присутствие их не зависит от присутствия антигена. Этими веществами, по-видимому, могут быть и тканевые щелочные пептиды (Skarnes, Watson, 1957). Поэтому в нашей классификации антитело-подобные вещества помещены под специфи-

ческую реактивность. Сделав это, мы расширим понятие специфической реактивности, поскольку последняя не ограничивается только деятельностью лимфатического аппарата, а охватывает также генетическую изменчивость других систем.

В целях характеристики иммунологической реактивности в данной работе изучался ответ молодого организма на вакцинацию. При этом выяснилось, что неочищенный ДНП селезенки взрослого кролика индуцирует дифференциацию лимфатической ткани, выражающуюся в повышении числа лимфоидных клеток, плазматоцитов и плазматических клеток.

На основе полученных данных можно предположить, что степень торможения роста крольчат после вакцинации может в некоторой степени коррелироваться с его реактивностью.

На цыплятах было выявлено, что двукратная вакцинация, проведенная в перинатальном периоде, индуцирует не только повышение числа палочкоядерных псевдоэозинофилов и моноцитов, повышение содержания нуклеиновых кислот в селезенке, но и резистентность свежевывлупленных цыплят к *S.gallinarum*. Мы обнаружили также повышенную фагоцитарную активность РЭС.

Исходя из эктогенетической теории биогенетического закона (Galudi, 1960), немалый интерес представляет изучение влияния генотипа матери на резистентность потомства в перинатальном периоде. Как мы и ожидали, нам удалось обнаружить различия во влиянии разных типов муцин-глобулинов яичного белка на развитие зародка, а иногда и на резистентность свежевывлупленных цыплят. Следует отметить, что дигетерозиготные курицы отличались высокой эмбриональной смертностью потомства.

Таким образом, полученные данные не подтверждают наличия супердоминирования в изученных локусах ( $G_2$  и  $G_3$ ). Дальнейшие исследования должны выяснить, какую роль играют генетико-автоматические процессы (Н.П. Дубинин, 1966; Н.П. Дубинин, Я.Л. Глембоцкий, 1967) в сохранении полиморфизма в названных локусах.

Обстоятельство, что различия в материнском эффекте не обнаруживались во всех опытах, согласуется с постулатом Кимура (Kimura, 1966), согласно которому интенсивность отбора является величиной не постоянной, а варьируется в разных условиях. Можно даже предполагать, основываясь на идеях Холдейна и Якара (Haldane, Jayakar, 1963), что отбор предпочитает то один, то другой генотип. Эта идея подтверждается также данными Тейна и Шмида (Thein, Schmid, 1968), по которым эмбриональная смертность коррелируется или аллелем  $G_3^A$  или аллелем  $G_3^B$ .

При изучении генетических потенциалов петухов в отношении резистентности цыплят к *S. gallinarum* в течение первого месяца жизни между петухами обнаружилось достоверные различия. На существенную роль генетического фактора резистентности указывают также высокие значения коэффициента повторяемости резистентности цыплят к *S. gallinarum*.

Представленный фактический материал и его обсуждение служат основой для дальнейшего более углубленного изучения взаимоотношений между иммунологической реактивностью и резистентностью организма, а также изучения роли генотипа родителей в формировании защитных способностей организма в перинатальный период.

#### Д. ОСНОВНЫЕ ВЫВОДЫ

1. Роль генетических факторов резистентности довольно существенна, и значение этих факторов больше, чем принято считать. На это указывают следующие обстоятельства:

а) достоверные различия во влиянии разных петухов на резистентность свежевывлупленных цыплят к *S. gallinarum*;

б) довольно высокие значения коэффициента повторяемости резистентности цыплят в первые три недели жизни к *S. gallinarum* /  $R = 0,1458 - 0,6016/$ .

2. Репрезентативным признаком, характеризующим роль генетических потенциалов резистентности, является повторяемость перинатальной смертности /эмбриональная + постэмбриональная смертность;  $r = 0,3760 - 0,6330/$ .

3. Было установлено достоверное влияние отца (петуха) на оплодотворяемость и на резистентность свежевывупленных цыплят к *S. gallinarum*.

4. Селекция на резистентность свежевывупленных цыплят к *S. gallinarum* затруднена тем, что такие признаки, как эмбриональная смертность и резистентность потомства к *S. gallinarum*, являются однонаправленными; высокая эмбриональная смертность потомства данного петуха сопровождается обыкновенно и высокой резистентностью цыплят. Только некоторые петухи характеризуются как низкой эмбриональной смертностью потомства, так и высокой степенью резистентности потомства к *S. gallinarum*.

5. У птиц хорошим, но далеко не экономичным методом определения генетических потенциалов родителей является экспериментальное заражение их потомства в первые дни после вывупления.

6. Кроме отца, в развитии защитных свойств потомков участвует и генотип матери. Удалось обнаружить влияние муцин-глобулинов яичного белка на развитие зародыша. Самая высокая эмбриональная смертность отмечалась у потомства дигетерозиготных по локусам  $G_3$  и  $G_2$  /по Лашу соответственно локусы II и III/ кур.

7. Вышеизложенное обстоятельство указывает на то, что в локусах, определяющих синтез муцин-глобулинов яичного белка нет супердоминирования.

8. Как изучаемые породы кур /нью-гемпшир и белый леггорн/, так и соответствующие линии существенно отличались по частоте генов, определяющих синтез муцин-глобулинов яичного белка.

9. По сравнению с влиянием петуха, влияние типа муцин-глобулинов яичного белка на развитие иммунологи-

ческих свойств потомства скромнее; оно ограничивается, главным образом, эмбриональным периодом, хотя полученные данные позволяют считать, что влияние генотипа матери может продолжаться в течение первой недели жизни потомков. Влияние же отца проявляется позднее, становясь более заметным начиная с 7-10 дня жизни цыплят.

10. В целях определения как генетических потенциалов производителей, так и биологической ценности отдельных потомков приходится прибегать к изысканию индикаторов резистентности. Одним из возможных путей является изучение корреляции между иммунологической реактивности и резистентностью организма. Особенно важно определить ее в первые недели постэмбрионального развития.

11. Характеризование иммунобиологических потенциалов молодого животного является возможным путем определения его ответа на вакцинацию, проведенную в эмбриональном и раннем постэмбриональном периоде. Для кур подходящим методом оказывается двукратная вакцинация, проведенная на 12-й день инкубации с последующей ревакцинацией на первый или второй день после вылупления.

12. Двукратная вакцинация существенно стимулирует защитные способности вылупившегося цыпленка, вызывая характерные модификации реактивности организма, из которых следует отметить следующие:

- а) повышение синтеза нуклеиновых кислот в селезенке;
- б) стимуляцию образования палочкоядерных псевдоэозинофильных лейкоцитов;
- в) кратковременное повышение числа моноцитов в периферийной крови;
- г) кратковременное понижение лимфоцитов после ревакцинации;
- д) стимуляцию фагоцитарной активности РЭС.

13. Кроме корпускулярного антигена /вакцина *S. gallinarum* или *E. coli*/, на резистентность оказывают

в одинаковой мере стимулирующее влияние и эндотоксины названных бактерий. Необходимо отметить, что действие бактериальных препаратов характеризуется низкой специфичностью, поскольку в большинстве опытов как вакцины, так и эндотоксины гладкого и шероховатого штаммов кишечной палочки, а также *S.gallinarum* обладали более или менее одинаковой эффективностью.

14. Эффективность вакцины можно повысить путем добавления к ней ионов серебра.

15. У крольчат вакцинация кишечной палочки в первые три недели жизни индуцирует только малозначительные изменения в синтезе белков сыворотки крови.

16. Крольчата в первые три недели жизни иммунологически неразвиты, что подтверждается некоторым тормозящим влиянием вакцинации в этом периоде на рост крольчат, а также неспособностью синтеза антител к средним дозам *E. coli*.

17. 4-недельные крольчата являются иммунологически более или менее развитыми, судя по способностям синтеза антител. Вакцинация не вызывает торможения роста.

18. Неочищенные дезоксирибонуклеопротеиды /ДНП/ селезенки взрослого кролика вызывают у 5-дневных реципиентов появление лимфоидных клеток, плазматоцитов и плазматических клеток в периферийной крови. Судя по повышению содержания общего белка, ДНП модифицирует и ответ крольчат на последующую вакцинацию.

19. В изыскании корреляции между иммунологической реактивностью и резистентностью организма в перинатальный период интерес представляют следующие модификации поствакцинационного ответа:

- а) изменения кривой роста молодого животного;
- б) изменения в периферийной крови /степень сдвига влево, появление юных форм лейкоцитов и палочкоядерных лейкоцитов/;
- в) фагоцитарная активность РЭС.

20. Генетически чужеродная РНК оказывает отрицательное влияние на развитие куриного эмбриона. Это напоминает феномен биологической совместимости на молекулярном уровне. Вполне возможно, что эффект муцин-глобулинов матери на развитие зародыша действительно обусловлен этим феноменом.

21. При "переносе" способности синтеза антител нуклеопротеидами и нуклеиновыми кислотами селезенки и печени донора, находящегося в индуктивной фазе синтеза антител, РНК или нуклеопротеиды играют роль носителя гаптена, что зависит от структурности нуклеиновой кислоты.

Основные сообщения по теме диссертации

1. О вирулентности некоторых штаммов кишечной палочки. Сб. научн. тр. Эстонской с/х. академии, 5 : 157-162, /на эст. яз./, 1958.
2. О передаче иммунологической реактивности в постнатальном периоде. Известия АН Эст. ССР, сер. биол., 10, 2 : 123-128, 1961.
3. О влиянии гомологичного дезоксирибонуклеопротеида на синтезирующую способность гамма-глобулинов в период иммунологической ареактивности. Известия АН Эст. ССР, сер. биол., 10, 3 : 236-240, 1961.
4. Об изучении роли дезоксирибонуклеопротеида в адаптивном протеосинтезе. Известия АН Эст. ССР, сер. биол., 10, 4 : 311-314, 1961 /на эст. яз./.
5. К вопросу передачи иммунологической реактивности гомологичным дезоксирибонуклеопротеидом. Рефераты секции У Междунар. биохим. конгресса, 2, : 311, 1961.
6. Об образовании иммунологической реактивности у кролика. Сб. научн. тр. Эстонской с/х. академии, 18 : 49-55, 1961 /на эст. яз./.
7. К вопросу трансформирования животных клеток *in vivo*. Известия АН Эст. ССР, сер. биол., 12, 1 : 65-72, 1963.
8. К вопросу о передаче биологической информации у выших животных. Сб. научн. тр. Эстонской с/х. академии, 38 : 55-62, 1964.
9. О влиянии нуклеовых кислот на развитие куриного зародыша и на резистентность цыплят к *Salm. gallinarum*. Сб. научн. тр. Эстонской с/х. академии, 38 : 87-92, 1964, /в соавторстве/.
10. О вопросах генетики и селекции. Природа Эстонии /*Besti Loodus*, 89-93, 1965, на эст. яз./.

11. О влиянии РНК из печени и селезенки взрослой курицы на жизнеспособность куриного эмбриона. Экспериментальная медицина и морфология, 4, : 214-218 /на болг. яз., в соавторстве/, 1965.
12. On the use of formalinized erythrocytes in an indirect haemagglutination test. Acta Veterinaria Acad. Sci. Hungaricae, 16, 1: 25-32, 1966 /
13. Concerning the stimulative effect of vaccination on the resistance of newly-hatched chicks in the period of immunological nonreactivity. Archivum immunologiae et therapiae experimentalis, 14: 574-580, 1966 / в соавторстве/.
14. К изучению исследования количественных признаков. Тезисы докл. и выступл. на симп. "Метод моделирования в естествознании" /Тарту, 23-28 мая, 1966/, 76-77, 1966.
15. О значении генетики в ветеринарии. Ветеринария, 9 : 95-96, 1966.
16. Наследственность, гены и болезни. "Валгус", Таллин, 1966 /на эст.яз./.
17. О полиморфизме глобулинов яичного белка у кур. Генетика, 12 : 120-121, 1966 /в соавторстве/.
18. Effect of endotoxin on resistance in the early period of ontogenesis. Nature, 214, 5089: 699-700, 1967 / в соавторстве/.
19. О влиянии вакцинации на содержание нуклеиновых кислот селезенки и на кроветворение. Сб. научн. тр. Эстонской с/х. академии, 55 : 197-210, 1967. / в соавторстве/.
20. О влиянии генотипа матери на оплодотворяемость и резистентность зародыша. Междун. симп. по иммунол. сперматозоидов и оплодотворения /27-29 сентября 1967, Варна, в соавторстве/.

21. Влияние аллотипа муцин-глобулинов матери на резистентность потомства в перинатальном периоде. Материалы Эстонской респ. конф. по аллергологии /20-21 октября 1967/. Тарту, 46-47, 1967 / в соавторстве/.
22. Об иммунологической реактивности кролика в раннем постнатальном периоде. Там же, стр. 48 / в соавторстве/.
23. О влиянии аллотипа муцин-глобулинов матери на резистентность вылупившегося цыпленка к *Salmonella gallinarum*. Цитология и генетика, 2, 2 : 167-169, 1968.
24. О живых системах. Природа Эстонии / "Eesti Loodus"/, 2 : 84-86, 1968 /на эст. яз./.
25. О некоторых теоретических проблемах ветеринарии. Сб. научн. тр. Эстонской с/х. академии, 57 : 27-34, 1968.
26. Об иммунологической реактивности у кур на ранних этапах онтогенеза. Сб. научн. тр. Эстонской с/х. академии, 57 : 150-158, 1968 /в соавторстве/.
27. О влиянии антигенной стимуляции на резистентность цыпленка в период иммунологической ареактивности. Сб. научн. тр. Эстонской с/х. академии, 57 : 159 - -163 / в соавторстве/, 1968.
28. О влиянии муцин-глобулинов матери на развитие зародыша. Генетика, 6 : 179-180, 1968 /в соавторстве/.
29. On the effect of dam's mucin-globulins on the development of embryo. Blood groups and protein polymorphism in animal (July 2-6, 1968, Warsaw)  
/в соавторстве/.
30. On the association of hen-white mucin-globulins with the resistance of offspring in the perinatal period. Proc. XII Intern. Congr. Genetics (Tokyo), 1: 283, 1968 /в соавторстве/.

31. К изучению повторяемости резистентности, Известия  
АН Эст. ССР, Биология, 13, 2 : 236-237, 1969.
32. О переносе синтезоспособности антител при помощи  
РНК, выделенной в индуктивной фазе синтеза антител.  
Известия АН Эст. ССР, Биология, 13, 2 : 234-235,  
1969 /в соавторстве/.
33. Влияние муцин-глобулинов яичного белка на резистен-  
тность потомков в перинатальном периоде. Акта Ветер.  
АН Венгр., 1969 (в печати).



В.Г. Павел

НЕКОТОРЫЕ ВОЗРАСТНЫЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ  
АСПЕКТЫ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ РЕАКТИВНОСТИ  
В ПЕРИНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

(103 - генетика)

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
доктора биологических наук

Тартуский государственный университет  
ЭССР, г. Тарту, ул. Вилкооли, 18

---

Ротапринт ТГУ 1969. Сдано в печать 16/VI 1969 г.  
Печ. листов 2,8. Тираж 200 экз. Бумага 30x45.1/4.

МВ 05233. Заказ № 490

Бесплатно





Бесплатно

TÜ RAAMATUKOGU



1 0300 00605291 6