

Wpływ żywienia na reaktywność struktur limfatycznych śledziony kurcząt

STANISŁAW GRACZYK, JAN KURYSZKO*, JANUSZ ORDA**,
ALEKSANDRA PLISZCZAK-KRÓL, WOJCIECH ZAWADZKI***, BARTŁOMIEJ JANACZYK

Zakład Patofizjologii Katedry Anatomii Patologicznej, Patofizjologii, Mikrobiologii i Weterynarii Sądowej,

*Zakład Histologii Katedry Anatomii i Histologii, ***Katedra Fizjologii Zwierząt

Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław,

**Katedra Żywienia Zwierząt i Paszoznawstwa Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt AR,
ul. Chelmońskiego 38d, 51-630 Wrocław

Graczyk S., Kuryszko J., Orda J., Pliszczak-Król A., Zawadzki W., Janaczyk B.

Influence of feeding on the reactivity of lymphatic spleen structures in chickens

Summary

The study was carried out to evaluate the influence of feed restriction on the reactivity of lymphatic structures of the white spleen pulp in chickens; it lasted 49 days and used Leghorn breed chickens. During the last period of the study some of the chickens received the same diet as earlier, but were also subjected to skip-a-day regimen (chicken were deprived of feed 1 day and consumed feed on the alternate day). The material was taken on the 49th day of the experiment, after 14 or 21 days of feed restriction and body weight, relative weight of the spleen, Bursa of Fabricius and adrenal glands were evaluated. The number of germinal centres was analysed on the spleen sections as well as the reaction to acid phosphates (APh) which was evaluated in the mature and newly formed germinal centres (I and II type) and in the periellipsoidal (PEL) and periarterial (PAL) lymphatic tissue. It was determined that feed access restriction causes not only a decrease in body weight but also, through its action as a stressor agent, leads to a decrease in the weight of the lymphatic organs (spleen and Bursa of Fabricius). The APh reaction analysis showed its diversified intensity in the investigated structures of the spleen. The feed deprivation period lasting 14 days resulted in a change in the mutual relations of both types of germinal centres (increase in the number of newly formed centres in comparison to the number of mature centres). This was accompanied by the activation of APh reactions in II type centres and in the PAL. The mature germinal centres (I type) and periellipsoidal lymphatic tissue (PEL) appeared to be less sensitive to the applied experimental factor. However, prolonging fodder access restrictions up to 21 days, led to a weakening of the APh reaction in all the examined spleen structures. The obtained results indicate the essential role that nutritional factors play in the lymphatic system's reactivity, as well as displaying the complexity of the mechanisms of lymphatic system activity disorders in birds exposed to stressors.

Keywords: chickens, feed restriction, spleen

U większości gatunków ptaków, przy braku wykształconych węzłów chłonnych, rolę obwodowego narządu limfatycznego pełni śledziona. W obrębie miazgi białej skupiska limfocytów wywodzących się z torby Fabrycjusza lub grasicy tworzą tzw. struktury burso- i grasiczozależne. Limfocyty wywodzące się z grasicy przeważają w okołotętniczkowej tkance limfatycznej (periarteriolar lymphatic tissue – PAL). Natomiast centra rozrodcze (germinal centers – GC) i periellipsoidalna tkanka limfatyczna (periellipsoidal lymphatic tissue – PEL) zasiedlane są przede wszystkim przez limfocyty wywodzące się z torby Fabrycjusza (6, 11). Centra rozrodcze w śledzionie ptaków, wykazują wyraźne zróżnicowanie czynnościowe, a także morfologiczne, stanowią równocześnie najbardziej zmienne struktury tego narządu (5, 11).

Morfologię, a także czynność struktur oraz komórek limfatycznych może kształtować wiele czynników, w tym środowiskowych. Niektóre z nich, takie jak dostęp do paszy, jej skład, prowadzą do rozwoju stresu (5, 7, 8, 20). Jednym z następstw działania stresorów, podobnie jak podania ACTH, jest wzrost poziomu glikokortykosteroidów, prowadzący m.in. do deplekcji komórek oraz zmian o charakterze zanikowym w centralnych i obwodowych narządach limfatycznych (8, 16, 19, 20). We wcześniejszych badaniach wykazano, że u ptaków po podaniu ACTH lub immunizacji za pomocą SRBC, a także u kurcząt, którym dostęp do paszy ograniczono, w śledzionie dochodzi do zmian liczby centrów rozrodczych (5, 7, 8). Zwrócono również uwagę na zmiany w aktywności niektórych enzymów zachodzące w trakcie dojrzewania układu limfa-

tycznego (6, 9, 10, 12, 14). Moriya i wsp. (17), uważają, że u ptaków odczyn na FK może być wykładnikiem dojrzałości narządów limfatycznych. Zmiany odczynu, jakie obserwowano w komórkach i tkankach limfatycznych w trakcie rozwoju osobniczego, a także u kurcząt bursektomowanych lub tymektomowanych oraz ptaków immunizowanych różnymi antygenami dowodzą, że odczyn na kwaśną fosfatazę może być również traktowany jako wskaźnik stanu czynnościowego nie tylko limfocytów krwi, ale także komórek zasiedlających poszczególne strefy narządów limfatycznych (6, 11).

Dostępne dane dostarczają informacji przede wszystkim na temat roli oraz korelacji centralnych i obwodowych narządów limfatycznych. Mniej uwagi poświęca się zależności struktury oraz funkcji tkanek limfatycznych od zmieniającej się pod wpływem czynników środowiska, czynności układu neuroendokrynego.

Celem badań była ocena wpływu ograniczenia kurczętom dostępu do paszy na reaktywność struktur miazgi białej śledziony kurcząt.

Za wykładnik reaktywności struktur śledziony przyjęto liczbę centrów rozrodczych I i II typu występujących na określonej powierzchni preparatu śledziony oraz intensywność odczynu na kwaśną fosfatazę w obrębie wspomnianych centrów, a także w komórkach zasiedlających perielipsoidalną tkankę limfatyczną – PEL oraz tkankę okołotętniczkową – PAL.

Materiał i metody

Materiał stanowiło 45 piskląt jednodniowych rasy leghorn, krzyżówki międzyliniowej LH97. Kurczęta odchowywano systemem podłogowym w pomieszczeniach, w których warunki zoohigieniczne były zgodne z wymogami stawianymi pomieszczeniom dla drobiu. Podczas odchovu kurcząt kontrolowano temperaturę pomieszczeń, obniżając ją z 33°C w pierwszym dniu do 21°C w okresie od 21. do 42. dnia doświadczenia. Ptaki miały zapewniony swobodny dostęp do wody, otrzymywały standardową paszę zawierającą 194,3 g białka i 11,52 MJ/kg. Mieszanek sporządzono zgodnie z zaleceniami Norm Żywienia Drobiu – 1996 r. dla kurcząt hodowlanych ras nieśnych od pierwszego do dziesiątego tygodnia życia. Wartość energetyczną paszy wyliczono według Europejskich tabel wartości energetycznej pasz dla drobiu, WPSA (1989), na podstawie danych z analizy chemicznej użytych komponentów paszowych.

Od 28. dnia doświadczenia 15 losowo wybranych kurcząt, oddzielonych od pozostałych, otrzymywało przez kolejne 21 dni tę samą co dotychczas paszę, ale podawaną co drugi dzień. Podobną procedurą objęto kolejne 15 kurcząt podając im od 35. dnia do końca doświadczenia (przez 14 dni), tak jak poprzednim, co drugi dzień dotychczasową paszę. Zwierzęta poszczególnych grup nie miały możliwości kontaktu wzrokowego z pozostałymi. W doświadczeniu uwzględniono ptaki z następujących grup doświadczalnych: gr. 1 – kurczęta karmione przez cały okres doświadczenia *ad libitum*, gr. 2 – kurczęta, które przez okres

ostatnich 14 dni doświadczenia karmiono paszą podawaną co drugi dzień, gr. 3 – kurczęta, które przez końcowe 21 dni doświadczenia karmiono paszą podawaną co drugi dzień. Eksperyment zakończono w 49. dniu, a więc po 14 lub 21 dniach ograniczenia kurczętom dostępu do paszy.

Po dekapitacji ptaków, podczas sekcji pobierano śledzionę i torbę Fabrycjusza oraz nadnercza, które ważono, a na podstawie uzyskanych wartości wyliczano względną masę tych narządów (mg/100 g m.c.).

Seryjne skrawki śledziony barwiono hematoksyliną i eozyną HiE oraz wg metody van Giesona, na których w strefie podtorebkowej oraz przylegającej do niej strefie głębokiej mięszu śledziony określano liczbę centrów rozrodczych. Pomiaru dokonywano na powierzchni 2,535 mm². Liczono centra rozrodcze wszystkich przekrojów różnicując je na centra dojrzałe I typu oraz nowo powstające centra typu II. Przy różnicowaniu centrów posłużono się wypracowanym wcześniej kryterium morfologicznym (5, 9, 11). Równocześnie na skrawkach mrozeniowych metodą precypitacyjną Gomoriego wykonano odczyn na kwaśną fosfatazę (Fk). Oceny odczynu dokonano wg metody punktowej Thomsona (6, 9, 11). W tym celu na siatce o boku 9 cm nałożonej na ekran nasadki projekcyjnej mikroskopu, w punktach przecięcia wyznaczonych linii, liczono ziarna odczynu na Fk występujące na określonej powierzchni preparatu. Analizy intensywności odczynu na Fk dokonywano w centrach rozrodczych I i II typu, w obrębie PEL śledziony oraz na obszarze 0,0298-0,0356 mm² okołotętniczkowej tkanki limfatycznej – PAL. W obrębie PEL odczyn analizowano na przekrojach poprzecznych elipsoidy skupiska tkanki limfatycznej, której średnica nie odbiegała w istotny sposób od średnicy PEL u ptaków kontrolnych. W każdej grupie kurcząt oceniano 5 preparatów, dokonując 30 pomiarów każdej ze struktur.

Wyniki badań przedstawiono w postaci wartości średnich ($\pm$ SD). Otrzymane dane porównywano z zastosowaniem testu jednoczynnikowej analizy ANOVA, wykorzystując program Statistica 6,0. Różnice uznano za istotne statystycznie przy $p < 0,05$.

Wyniki i omówienie

Częściowe ograniczenie dostępu do paszy jest jednym z zabiegów technologicznych stosowanych w produkcji drobiarskiej. Wprowadzane najczęściej celem poprawy wartości rzeźnej czy też lepszego wykorzystania paszy (18, 21, 23, 24). Hematologiczne, endokrynologiczne, metaboliczne, a także reprodukcyjne następstwa takiego postępowania są na ogół znane i dobrze opracowane (2-4, 15, 22). Wykazywane są zarówno pozytywne, jak i negatywne aspekty tego postępowania. Uzyskane wyniki potwierdzają w pełni obserwacje mówiące, że konsekwencją ograniczenia dostępu do paszy jest m.in. spadek masy ciała (15, 23, 24). Po 14 dniach ograniczenia kurczętom dostępu do paszy odnotowano istotny, bo prawie 40% spadek masy ciała. Natomiast dalszy, wykazany u ptaków, którym przez kolejne 7 dni dostęp do paszy ograniczono, chociaż już nie tak drastyczny spadek masy ciała (tab. 1) zgodny jest z opinią, że kurczęta w krótkim czasie są

Tab. 1. Masa ciała oraz względna masa torby Fabrycjusza, śledziony i nadnerczy kurcząt

Grupa	Masa ciała g	Torba Fabrycjusza mg/100 g m.c.	Śledziona mg/100 g m.c.	Nadnercza mg/100 g m.c.
1. Pasza <i>ad libitum</i>	585,38 ^a ± 80,96	549,59 ^a ± 49,23	271,12 ^a ± 80,27	13,86 ^a ± 2,14
2. Ograniczenie dostępu do paszy – 2 tyg.	358,5 ^b ± 88,05	314,26 ^b ± 93,40	154,40 ^b ± 30,13	16,35 ^{a,b} ± 3,63
3. Ograniczenie dostępu do paszy – 3 tyg.	297,88 ^{b,c} ± 66,14	300,08 ^b ± 65,37	169,86 ^b ± 43,24	19,91 ^b ± 3,94

Objaśnienie: a, b, c – średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się między sobą istotnie przy $p < 0,05$

w stanie wyrównać straty spowodowane ograniczeniem paszy (4, 15, 18, 23). Stanowi to równocześnie dowód, że postępowanie wg metody „karmienie co drugi dzień” (skip a day feeding) narusza równowagę energetyczną kurcząt. Należy podkreślić, że podawanie paszy co drugi dzień okazuje się silnym stresorem (8). Przemawia za tym odnotowany u kurcząt doświadczalnych charakterystyczny dla stresu spadek względnej masy torby Fabrycjusza, śledziony, a przede wszystkim wzrost względnej masy nadnerczy (tab. 1). Na podkreślenie zasługuje zróżnicowany poziom obserwowanych zmian, zależny od rodzaju narządu, a także czasu ograniczenia dostępu do paszy. Obniżona, po 14-dniowym ograniczeniu paszy, względna masa śledziony, wzrosła u ptaków, którym okres limitowanego dostępu przedłużono. Równocześnie dłuższy, 21-dniowy okres ograniczenia dostępu do paszy, nie powodował dalszego spadku masy torby Fabrycjusza, prowadził natomiast do wzrostu względnej masy nadnerczy (tab. 1). Interpretacja tak różnego zachowania się omawianego parametru jest trudna. W dostępnym piśmiennictwie można spotkać opisy stwierdzające głównie fakt obniżenia masy narządów limfatycznych z równoczesnymi zmianami zanikowymi w tych narządach (8, 20). W świetle obserwacji własnych można przypuszczać, że za opisanymi zmianami masy narządów kryje się rozwijająca się w przebiegu stresu strategia radzenia sobie z zagrożeniem (coping strategies) lub wtórna, powstała pod wpływem wydzielanych hormonów, odmienna wrażliwość badanych narządów.

W dotychczasowych badaniach nad konsekwencjami zmian systemu karmienia ptaków mniej uwagi poświęcono morfologii i reaktywności struktur obwodowego narządu limfatycznego, jakim u ptaków jest śledziona. To w tym narządzie po dożylnym wprowadzeniu antygeny ma miejsce formowanie nowych centrów rozrodczych, których obecność traktowana jest jako ślad wcześniejszego kontaktu z antygenami, również środowiskowymi (11).

We wcześniejszych badaniach (5), na podstawie analizy jakości i ilości centrów rozrodczych w śledzionie kurcząt wykazano zróżnicowaną wrażliwość tych struktur na działanie różnorodnych czynników (antygeny, ACTH). Na tej podstawie opracowano model przydatny w ocenie dynamiki tych struktur w śledzionie ptaków (5). Opracowana metoda wykorzystana została w omawianym doświadczeniu do oceny wrażliwości

struktur limfatycznych na działanie stresu, do którego niewątpliwie prowadziło ograniczenie dostępu do paszy.

W przeprowadzonych badaniach stwierdzono, że obraz histologiczny śledziony kurcząt kontrolnych nie odbiega w istotny sposób od opisanego we wcześniejszych pracach (5, 6, 11). Dominują centra I typu

zlokalizowane w pobliżu tętnic miazgi. Mają one postać dobrze wykształconych kulistych struktur tkanki limforetikularnej otoczonych w pełni zorganizowaną tkanką łączną włóknistą. Utkanie tkanki limforetikularnej przedstawia się w postaci licznych komórek siateczki oraz tkwiących pomiędzy nimi limfocytów.

Centra rozrodcze, klasyfikowane jako centra II typu są mniejsze, występują mniej licznie i są zlokalizowane w obszarze zawartym między tętnicami miazgi a tętniczkami pędzelkowatymi. Zbudowane są z komórek siateczki oraz dużych limfocytów skupionych głównie w części centralnej. Otacza je słabo zaznaczająca się sieć włókien łącznotkankowych.

Tkanka perielipsoidalna (PEL) śledziony kurcząt jest rozmieszczona wokół końcowych odcinków tętniczek pędzelkowatych. Skupienia PEL zbudowane są z komórek siateczki, której oczka w jej części wewnętrznej wypełniają współśrodkowo układające się duże limfocyty, a w części zewnętrznej limfocyty małe.

Tkanka okołotętniczkowa (periarterialna) – PAL zlokalizowana jest wokół tętnic miazgi (odpowiedników tętniczek centralnych u ssaków). Tętniczki te posiadają charakterystyczny wysoki śródbłonek i wyraźnie zredukowaną błonę środkową. PAL tworzy rozległe skupiska utworzone głównie z komórek siateczki i małych limfocytów.

Liczbę centrów rozrodczych, ze zróżnicowaniem na centra dojrzałe typu I i nowo powstające centra typu II, jaką notowano na powierzchni 2,535 mm² śledziony kurcząt podano w tab. 2. Przeprowadzona równocześnie ocena intensywności odczynu na Fk wykazała, że w badanych strukturach śledziony kurcząt kontrolnych odczyn ten jest zróżnicowany. Zróżnicowanie to dotyczy zarówno liczby, jak i rozmieszczenia ziaren odczynu. W dojrzałych centrach typu I odczyn na Fk rozkłada się równomiernie na całym przekroju, natomiast

Tab. 2. Liczba centrów rozrodczych notowanych na pow. 2,535 mm² śledziony kurcząt

Grupa	Centra razem	Centra typ I	Centra typ II
1. Pasza <i>ad libitum</i>	16,21 ^a	11,76 ^a ± 1,48	4,45 ^a ± 0,97
2. Ograniczenie dostępu do paszy – 2 tyg.	17,12 ^b	11,88 ^a ± 0,86	5,24 ^b ± 1,01
3. Ograniczenie dostępu do paszy – 3 tyg.	16,75	10,65 ^b ± 1,43	6,10 ^c ± 1,23

Objaśnienia: jak w tab. 1.

Tab. 3. Odczyn na Fk w miazdze białej śledzony kurcząt doświadczalnych (ziarna odczynu)

Grupa	Typ I	Typ II	PEL	PAL – 0,0298- -0,0356 mm ²
1. Pasza <i>ad libitum</i>	71,43 ^a ± 4,65	34,74 ^a ± 4,22	78,04 ^a ± 6,33	52,36 ^a ± 5,91
2. Ograniczenie dostępu do paszy – 2 tyg.	68,27 ^b ± 5,54	37,38 ^b ± 3,89	76,48 ^a ± 6,84	56,52 ^b ± 5,74
3. Ograniczenie dostępu do paszy – 3 tyg.	60,64 ^c ± 5,14	22,57 ^c ± 1,69	56,33 ^b ± 5,51	48,98 ^c ± 4,27

Objaśnienia: jak w tab. 1.

w nowo formujących się centrach typu II odczyn ten jest skupiony głównie w części środkowej centrum, tj. w miejscu występowania dużych limfocytów. W obrębie PEL oraz PAL rozmieszczenie ziaren odczynu jest na ogół równomierne.

Dane dotyczące intensywności odczynu na fosfatazę kwaśną, ocenianej liczbą ziaren odczynu w poszczególnych strukturach miazgi białej śledzony zebrano w tab. 3. Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że ograniczenie ptakom, przez okres 14 lub 21 dni, dostępu do paszy, nie wpłynęło na ogólną liczbę centrów rozrodczych. Zmieniły się natomiast relacje pomiędzy liczbą centrów I typu i centrów typu II. W śledzienie kurcząt wszystkich grup doświadczalnych niewielkim wahaniom liczby centrów I typu, towarzyszył istotny ($p < 0,05$) wzrost liczby nowo powstających centrów typu II (tab. 2). Spostrzeżenie to stanowi potwierdzenie wcześniejszych sugestii, co do zróżnicowanej wrażliwości obydwu centrów rozrodczych (5).

Odnotowany wzrost liczby nowo formujących się centrów świadczy, że w przebiegu stresu związanego z ograniczeniem dostępu do paszy dochodzi do zmian nie tylko leukocytów krwi obwodowej (8, 20), inwencji narządów limfatycznych, ale ma miejsce również mobilizacja struktur uczestniczących w swoistej fazie odpowiedzi immunologicznej, a do tych należą niewątpliwie centra rozrodcze. Ponieważ nie odnotowano równoczesnego wzrostu liczby centrów dojrzałych typu I, można przypuszczać, że brak stymulacji antygenem sprawia, iż dojrzewanie centrów kończy się na etapie centrów II typu.

Wspomniane zmiany centrów rozrodczych śledzony, przypominające opisane po podaniu kurczętom ACTH (5), pozwalają na stwierdzenie, że wzmożone formowanie się centrów typu II stanowi przejaw adaptacji zachodzącej w śledzienie ptaków pod wpływem działającego stresora. Nieznaczny wzrost ogólnej liczby centrów, a przede wszystkim brak zmian w zakresie centrów rozrodczych dojrzałych typu I dowodzi równocześnie, że niemożność swoistego rozpoznania zagrożenia (brak aktualnej stymulacji antygenem) prowadzi do zaniku tych struktur.

W przebiegu stresu dochodzi do zmian jakości zarówno krążących leukocytów, jak i komórek zasiedlających obwodowe tkanki limfatyczne (8, 16). W przeprowadzonych badaniach nie śledzono składu cytolo-

gicznego struktur śledzony. Oceny dokonywano na podstawie analizy odczynu na Fk w tych strukturach. Wcześniejsze obserwacje własne (12), a także spostrzeżenia innych autorów (14) wykazały, że u ptaków w trakcie dojrzewania układu limfatycznego, jak też podczas stymulacji antygenowej zmienia się w aktywność niektórych enzymów. Jednym z nich jest kwaśna fosfataza (Fk), uznawana za

główny marker lizosomów (1, 12, 13). Aktywność tego enzymu w limfocytach krwi oraz komórkach tkanek limfatycznych może kształtować szereg czynników (m.in. obecność czy też brak grasicy lub torby Fabrycusa, stymulacja antygenowa, a także zmiany poziomu niektórych hormonów) (6, 10, 13). W omawianym doświadczeniu ograniczenie dostępu do paszy (karmienie kurcząt, co drugi dzień) doprowadziło, niezależnie od czasu ograniczenia, do osłabienia intensywności odczynu na Fk w obrębie centrów rozrodczych I typu. W pozostałych strukturach śledzony (centra typu II, PEL oraz PAL) stopień i charakter zmian odczynu zależał od okresu ograniczenia dostępu do paszy (dwa lub trzy tygodnie). Dwutygodniowy okres ograniczenia kurczętom dostępu do paszy spowodował intensyfikację odczynu w centrach II typu oraz PAL, pozostając bez wyraźnego wpływu na jego intensywność w obrębie PEL. Natomiast u ptaków, którym dostęp do paszy ograniczono o dalsze 7 dni, osłabienie odczynu odnotowano już we wszystkich omawianych strukturach śledzony (tab. 3).

Jeśli przyjąć wcześniejsze sugestie, że odczyn na Fk odzwierciedla stan funkcjonalny komórek oraz uwzględnić fakt przewagi w obrazie histologicznym komórek limfoidalnych, można z dużym prawdopodobieństwem stwierdzić, że opisane zmiany odczynu na Fk dotyczą właśnie dominującej w badanych strukturach populacji komórek limfatycznych. W tym kontekście uzyskane wyniki potwierdzają wcześniejsze spostrzeżenia, że zmiany endokrynium występujące w przebiegu stresu wpływają na aparat lizosomalny komórek układu limfatycznego. Przy czym okazuje się, że mniejsze znaczenie ma rodzaj stresora, natomiast istotny jest czas i nasilenie jego działania.

Przeprowadzone badania o charakterze podstawowym mogą posłużyć do wyjaśnienia mechanizmów zmian reaktywności układu limfatycznego zachodzących pod wpływem czynników żywieniowych.

Piśmiennictwo

1. Bull H., Murray P. G., Thomas D., Fraser A. M., Nelson P. N.: Acid phosphatases. J. Clin. Pathol. 2002, 55, 65-72.
2. Crouch A. N., Grimes J. L., Christensen V. L., Krueger K. K.: Effect of physical feed restriction during rearing on Large White turkey breeder hens: 3. Body and carcass composition. Poultry Sci. 2002, 81, 1792-1797.
3. Crouch A. N., Grimes J. L., Christensen V. L., Krueger K. K.: Effect of physical feed restriction during rearing on Large White turkey breeder hens: 2. Reproductive performance. Poultry Sci. 2002, 81, 16-22.

4. Crouch N., Grimes J. L., Christensen V. L., Krueger K. K.: Effect of physical feed restriction during rearing on Large White turkey breeder hens: 1. Growth performance. *Poultry Sci.* 2002, 81, 9-15.
5. Graczyk S., Kurysko J., Madej J.: Reactivity of spleen germinal centres in immunized and ACTH-treated chickens. *Acta Vet. Brno* 2003, 72, 523-531.
6. Graczyk S., Kurysko J.: Wpływ tymektomii na kinetykę formowania centrów rozrodczych i intensywność odczynu na fosfatazę kwaśną w śledzionie kurcząt, w przebiegu odpowiedzi immunologicznej. *Medycyna Wet.* 1995, 51, 675-679.
7. Graczyk S., Orda J., Zawadzki W., Baran M., Czerski A.: Effect of protein sources and restricted feeding on some blood parameters and performance of chickens. *Medycyna Wet.* 2005 (w druku).
8. Graczyk S.: Obraz krwi obwodowej oraz morfologia narządów limfatycznych kurcząt immunizowanych, karmionych paszą ograniczoną ilościowo. *Zesz. Nauk. AR Wrocław, Weterynaria* 1999, 59, 31-42.
9. Graczyk S.: The effect of anti-bursa serum (ABS) on the intensity of acid phosphatase reaction in bursa-dependent structures of the chicken spleen and on the level of antibodies in the blood serum. *Arch. Vet. Pol.* 1994, 34, 25-36.
10. Graczyk S.: The lysosomal apparatus of peripheral blood lymphocytes reactivity in bursectomized or thymectomized chickens, after lipopolysaccharide E. Coli (LPS) administration. *Bull. Polish Academy of Sciences, Biological Sciences* 1998, 46, 91-101.
11. Graczyk S.: Wpływ bursektomii, tymektomii i surowic antylimfocytarnych na reaktywność struktur limfatycznych śledziony u kurcząt. *Zesz. Nauk. AR Wrocław* 1994, s. rozpr. hab. Nr 123.
12. Grundboeck M., Szczotka M., Graczyk S.: Alpha naphthyl acetate esterase (ANAE) and acid phosphatase (ACP) activities in blood lymphocytes of bursectomized and thymectomized chickens. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 1995, 39, 145-148.
13. Kondomerkos D. J., Kalamidas S. A., Kotoulas O. B.: In vitro effects of hormones and autacoids on the activity of acid phosphatase in lysates of endotoxin-activated rat peritoneal and bronchoalveolar macrophages. *Histol. Histopathol.* 2003, 18, 1103-1113.
14. Kovaru H., Kovaru F., Fisherova A., Zelnickova P., Matalova E.: Biochemical markers of lymphocyte maturation. *Acta Vet. Brno* 2002, 71, 503-508.
15. Kubikova L., Vyboh P., Kostal L.: Behavioural, endocrine and metabolic effects of food restriction in broiler breeder hens. *Acta Vet. Brno* 2001, 70, 247-257.
16. Kushima K., Fujita M., Shigeta A., Horiuchi H., Matsuda H., Furusawa S.: Flow cytometric analysis of chicken NK activity and its use on the effect of restraint stress. *J. Vet. Med. Sci.* 2003, 65, 995-1000.
17. Moriya O., Ichikawa Y.: Acid phosphatase in lymphoid tissues of developing chick embryos. *Acta Histochem.* 1989, 87, 99-105.
18. Oyedeji J. O., Atteh J. O.: Response of broilers to feeding manipulations. *Int. J. Poultry Sci.* 2005, 4, 91-95.
19. Pliszczyk-Król A.: Wpływ ACTH na RS jąder i aktywność fosfatazy kwaśnej w aktywowanych antygenem limfocytach krwi ptaków. *Medycyna Wet.* 2001, 57, 676-679.
20. Puvadolpirod S., Thaxton J. P.: Model of physiological stress in chickens 1. Response parameters. *Poultry Sci.* 2000, 79, 363-369.
21. Santoso U., Tanaka K., Ohtani S.: Early skip-a-day feeding of female broiler chicks fed high-protein realimentation diets. Performance and body composition. *Poultry Sci.* 1995, 74, 494-501.
22. Shelton J. L., Mavromichalis I., Payne R. L., Southern L. L., Baker D. H.: Growth performance of different breed crosses of chicks fed diets with different protein and energy sources. *Poultry Sci.* 2003, 82, 272-278.
23. Tumova E., Skrivan M., Skrivanova V., Kacerovska L.: Effect of early feed restriction on growth in broiler chickens, turkeys and rabbits. *Czech J. Anim. Sci.* 2002, 47, 418-428.
24. Urdaneta-Rincon M., Leeson S.: Quantitative and qualitative feed restriction on growth characteristics of male broiler chickens. *Poultry Sci.* 2002, 81, 679-688.

Adres autora: dr hab. Stanisław Graczyk, prof. nadzw., ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław; e-mail: graczyk@ozi.ar.wroc.pl