

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN-POLONIA

VOL. LIII, 21

SECTIO DD

1998

Katedra i Klinika Rozrodu Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR w Lublinie

LEON KRAKOWSKI, JAN KRZYŻANOWSKI, ZYGMUNT WRONA

*Kształtowanie się wybranych wskaźników nieswoistej odporności
komórkowej i humoralnej w przebiegu cyklu rujowego u jałówek*

The creating of cellular and humoral nonspecific defenses in heifers during the estrus cycle

WSTĘP

Wzajemne oddziaływanie układu nerwowego, hormonalnego i immunologicznego decyduje o integralności komórek i tkanek całego organizmu oraz o jego homeostazie.

Na szczególną uwagę zasługuje ścisła korelacja pomiędzy układem rozrodczym a immunologicznym (14). W piśmiennictwie krajowym (14) i zagranicznym (2, 6, 7, 8) spotyka się prace dotyczące wpływu cyklu rujowego na mechanizmy obronne samicy. Stwierdzono bowiem, że w czasie trwania fazy pęcherzykowej cyklu jajnikowego u bydła zwiększa się istotnie aktywność fagocytarna i bójcza neutrofili w krwi obwodowej oraz w macicy w porównaniu z fazą lutealną (2, 6, 7, 8). Dowodem na to są często spotykane samowyleczenia stanów zapalnych dróg rodnych w czasie trwania rui (8).

Dowiedziano także, że między innymi przebieg okresu okołoporodowego jest odzwierciedleniem równowagi metabolicznej i immunologicznej (9, 11). Obciążenie samicy takimi fizjologicznymi zjawiskami, jak: ciąża, laktacja oraz stres, prowadzić może również do osłabienia mechanizmów obronnych, co zwiększa podatność samicy na infekcje w okresie poporodowym (1, 3, 9, 11).

Celem niniejszej pracy była ocena kształtowania się wskaźników nieswoistej odporności komórkowej i humoralnej w przebiegu cyklu rujowego u bydła.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzone zostały na 6 dziewiczych jałówkach rasy ncb w wieku 16-18 miesięcy. Zwierzęta były klinicznie zdrowe i wykazywały prawidłowy cykl rujowy.

W trakcie rozpoczęcia doświadczenia jałóWKi znajdowały się w fazie lutealnej cyklu jajnikowego, co zostało potwierdzone badaniem rektalnym. JałóWKom tym podano domięśniowo analog prostoglandyny F_{2α} (Oestrophan Spofa Praga) w dawce 0,50 mg Cloprostenolu na sztukę. Po 72 godz.

Tab. 1 Kształtowanie się wybranych wskaźników nieswoistej odporności komórkowej w cyklu rujowym u jałówek (n=6)

The creating on cellular and cellular nonspecific defenses in heifers during the estrus cycle

Czas badania	Ogólna liczba leukocytów $\times 10^9/l$	NBT %	NBT stymulowany %	Aktywność fagocytarna %	Indeks fagocytarny	Test bójczości %
Faza lutealna	7,9	6	24	42	3,5	73
72 godz. – ruja synchronizowana	13,0	7	29	35	4,0	70
5 dni – faza lutealna	7,9	7	26	41	3,9	74
11 dni – faza lutealna	7,9	6	30	51	3,8	74
17 dni – faza pęcherzykowa	8,3	6	23	50	3,7	72
21 dni – ruja spontaniczna	10,0 (7,0)	7	27	53	5,2	67

Tab. 2. Kształtowanie się wybranych wskaźników nieswoistej odporności humoralnej w cyklu rujowym u jałówek (n=6)

The creating on cellular and humoral nonspecific defenses in heifers during the estrus cycle

Czas badania	Białko całkowite g/L	Kompleks gamma-globulinowy g/L	Aktywność lizozymu g/L	IgG mg/100	IgM mg/100	IgA mg/100
Faza lutealna	34	18	1,50	4590	390	12,4
72 godz. – ruja synchronizowana	38	23	1,71	4541	349	11,4
5 dni – faza lutealna	40	23	1,71	5267	390	14,1
11 dni – faza lutealna	34	19	1,63	4860	384	12,1
17 dni – faza pęcherzykowa	36	21	1,61	5121	310	11,3
21 dni – ruja spontaniczna	36	21	2,13	4688	320	10,4

od podania Oestrophanu badaniem klinicznym stwierdzono u wszystkich badanych jałówek objawy rujowe.

Od wszystkich objętych doświadczeniem sztuk pobrana została krew z żyły szyjnej zewnętrznej do jałowych probówek wirówkowych oraz do probówek silikonowych zawierających heparynę (20 j.m na 1 ml krwi). Krew pobrano przed podaniem Cloprostenolu, a następnie po upływie 72 godz.

(ruja synchronizowana), 5, 11 dnia cyklu (faza lutealna), w 17 dniu cyklu (faza pęcherzykowa) oraz w 21 dniu (ruja spontaniczna). Badania laboratoryjne obejmowały określenie w pełnej krwi lub surowicy następujących parametrów: ogólnej liczby leukocytów, testu redukcji NBT w dwóch wariantach (spoczynkowym i stymulowanym lateksem Difco Laboratories USA) metodą cytochemiczną (12), indeksu fagocytarnej metodą cytochemiczną z zastosowaniem standardowego szczepu *Staphylococcus aureus* 209 P (5), testu wewnątrzkomórkowego zabijania (4), poziomu białka ogólnego i kompleksu gammaglobulinowego metodą według L o w r y' e g o (10), aktywności lizozymu metodą turbidymetryczną (13), wartości poszczególnych klas immunoglobulin (IgG, IgM, IgA) metodą radioimmunofuzyjną przy użyciu gotowych zestawów (Rid Kits) firmy The Binding Site.

WYNIKI

Przeprowadzone badania wykazały, że wybrane wskaźniki nieswoistej odporności komórkowej i humoralnej u dziewiczych jałówek w przebiegu cyklu rujowego wykazują pewne różnice. Stwierdzono, że ogólna liczba leukocytów (tab. 1) w krwi obwodowej znacznie uległa podwyższeniu 72 godz. od podania analogu prostoglandyny $\text{PGF}_{2\alpha}$ (ruja) w porównaniu z fazą lutealną (*metaestrus* i *diestrus* 5, 11 dzień). W 17 dniu cyklu obserwowano ponowny wzrost liczby białych ciałek krwi, który osiągnął najwyższą wartość w 21 dniu cyklu (ruja spontaniczna). W tab. 1 zawarte są również dane dotyczące zdolności komórek PMN do redukcji NBT oraz zdolności fagocytarnej i bójczej. Z danych tych wynika, że aktywność komórek PMN w teście NBT spoczynkowym i stymulowanym nie wykazuje zasadniczych różnic pomiędzy fazą pęcherzykową a fazą lutealną cyklu jajnikowego. W czasie trwania rui tak prowokowanej, jak i spontanicznej zwiększył się natomiast indeks fagocyтары. Zaobserwowano także w przebiegu całego cyklu rujowego wysoki procent bójczości neutrofilii, przy czym nieco wyższe jego wartości zanotowano w fazie lutealnej.

Kształtowanie się poziomu białka ogólnego, kompleksu gammaglobulin, aktywności lizozymu oraz frakcji poszczególnych klas gammaglobulin (IgG, IgM i IgA) w przebiegu doświadczenia przedstawia tab. 2. Z zawartych danych wynika, że poziom białka całkowitego i kompleksu gammaglobulin nie jest zależny od fazy cyklu rujowego. Stwierdzono natomiast, że w fazie lutealnej cyklu jajnikowego uległy podwyższeniu poziomy immunoglobuliny klasy IgM i IgA. Obserwowano natomiast wzrost aktywności lizozymu w fazie pęcherzykowej.

OMÓWIENIE

Uzyskane wyniki badań własnych wskazują, że w fazie pęcherzykowej cyklu jajnikowego następuje wzrost nieswoistych wskaźników odporności komórkowej. Dotyczy to przede wszystkim ogólnej liczby białych ciałek krwi oraz indeksu

fagocytarnego. Potwierdzają to wyniki badań uzyskane przez innych autorów (2, 6, 7, 8). Brak wyraźnej zależności w zdolności bójczej komórek PMN w krwi obwodowej w przebiegu obu faz cyklu jajnikowego nie wyklucza jednak zwiększonej zdolności bójczych tych komórek w macicy podczas fazy pęcherzykowej, na co wskazują prace Carsona i wsp. (2) oraz Hussaina i wsp. (8).

Nie spotkano w dostępnej literaturze danych dotyczących kształtowania się poziomu białka całkowitego, kompleksu gammaglobulin, aktywności lizozymu oraz poszczególnych klas immunoglobulin w przebiegu cyklu jajnikowego, co utrudnia interpretację otrzymanych wyników badań własnych. Niemniej jednak wyniki badań własnych dowodzą wzrostu potencjału obronnego organizmu samicy w fazie przedrujowej i rujowej cyklu

PIŚMIENNICTWO

1. Bostedt H.: Uterine infections in the postpartum period. 10 th Int. Cong. Anim. Reprod. and A.I., Illinois, USA. IV, pp. 25, 1984.
2. Carson R. L., Wolfe D. F., Klesius P. H., Kempainen R. J., Scanlan C. M.: The effects of ovarian hormones and ACTH on uterine defense to *Corynebacterium pyogenes* in cows. *Theriogenology* **30**, 91, 1988.
3. Dejnek J., Raułszkiewicz S.: Wpływ czynników stresogennych na poporodową dynamikę skurczów macicy u krów. *Medycyna Wet.* **51**, 153, 1995.
4. Ferrante A., Thong Y. H.: A rapid one-step procedure for purification of mononuclear and polymorphonuclear leukocytes from human blood using a modification of the Hypaque-Fioll technique. *J. Immunol. Methods.* **34**, 279, 1980.
5. Gościcka T.: Ćwiczenia z immunologii. PWN, Warszawa 1979.
6. Hawk H. W., Turner G. D., Sykes J. F.: The effect of ovarian hormones on the uterine defense mechanism during the early stages of induced infection. *Am. J. Vet. Rec.* **21**, 644, 1960.
7. Hawk H. W., Brinsfield T. H., Turner C. D., Whitmore G. W., Norcross M. A.: Effect of ovarian status on induced acute inflammatory responses in cattle uteri. *Am. J. Vet. Rec.* **25**, 362, 1964.
8. Hussain A. M., Daniel R. C. W.: Studies on some aspects of neutrophil functions and uterine defenses in cows during the estrus cycle. *Reprod. Dom. Anjm.* **26**, 290, 1991.
9. Kościcki W., Glazer T.: Badania nad metafilaktycznym zastosowaniem lewamizolu u krów przed porodem. *Mat. X Kongresu PTNW*, Wrocław 1996.
10. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Randall R.: Protein measurements with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265, 1980.
11. Mieczyska A., Dembiński Z., Bronicki M.: Wybrane wskaźniki odporności nieswoistej u krów w okresie okołoporodowym. *Mat. X Kongresu PTNW*, Wrocław 1996.
12. Park B. H., Fikrig S. Y. M., Smithwick E. M.: Infection and nitrobluetetrazolium reduction by neutrophils. *Lancet.* **2**, 532, 1968.
13. Siwicki A. K., Anderson D. P.: Immunostimulation in fish: Measuring the effects of stimulants by serological and immunological methods. U.S. Fish and Wildlife Service IFI Olsztyn 1993.
14. Ślebodziński A. B.: Sprzężenia zwrotne w interakcji układów hormonalnego i odpornościowego. *Medycyna Wet.* **47**, 289, 1991.

SUMMARY

The objective of this investigation was the estimation of the behaviour of the chosen nonspecific cell-mediated and humoral immunity during heifers estrus cycle. The investigation was executed on 6 virgin heifers of ncb breed, aged 16 - 18 months. At the beginning of the investigation heifers were in luteal phase. The investigated animals were given prostaglandin $F_2 \alpha$ intramuscularly 0.50 each.

The blood to be investigated was taken from jugular external vein, first before prostaglandin $F_2 \alpha$ treatment and then after 72 hr (provoked estrus), next on the 5th and 11th day (luteal phase), the 17th day (follicular phase) and the 21st day (spontaneous estrus).

In the blood taken there were indicated: the number of leucocytes, quantitative nitroblue tetrazolium test, phagocytic index and killer test, whereas in blood serum there were determined: levels of total protein, gammaglobulin complex, lysozyme activity and the level of immunoglobulins at IgG, IgM and IgA class.

The results obtained indicate the increase in the lysozyme activity and PMN-cells in follicular phase during the estrus cycle.