

Immunologia ciąży i noworodka – zagadnienia wybrane

Antoni J. Furowicz, Magdalena Ferlas, Paweł Nawrotek

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

„Czynne wytwarzanie elementów odpornościowych u wszystkich gatunków ssaków jest funkcją wieku”
(Ludwik Hirschfeld, 1936 r.)

Aktywna synteza przeciwciał w sposób „pełny” następuje u młodych ssaków z reguły w wieku około 6-8 tygodni. Jednak procesy fagocytozy stwierdza się już u noworodków kilkudniowych [1, 5]. Niektóre mechanizmy o charakterze odpornościowym odnotowuje się prawie natychmiast po urodzeniu. Jest to prezentacja antygenów przez wyspecjalizowane komórki układu immunologicznego (APC), jak również przez niektóre komórki nabłonkowe [4]. Antygeny bakteryjne oraz inne prezentowane są głównie limfocytom T [1, 9]. Mechanizm ten przyspiesza dojrzewanie układu odpornościowego ssaka oraz wzrost jego obronności. W celu zachowania gatunku, tam gdzie istnieje w organizmie zwierzęcia kontakt odpornościowy między matką a dzieckiem (łożysko, gruczoł mlekowy), obserwuje się kumulację przeciwciał [5]. Według Larsena [cyt. za 7], u krowy w ostatnim tygodniu ciąży przenoszone są z surowicą krwi do siary bardzo znaczne ilości immunoglobulin: 0,5 kg czystej IgG.

Wyróżnia się trzy zasadnicze mechanizmy przekazywania odporności przez matkę do organizmu płodu lub oseska. Pierwszy to odporność prenatalna (przedurodzeniowa) *via placenta* (przez łożysko), typowa dla *Homo sapiens* i innych ssaków naczelnych. Z siarą przekazywane są jednak także bardzo istotne immunoglobuliny (SIgA), które chronią przewód pokarmowy oseska przed zasiedleniem oraz inwazją wielu chorobotwórczych drobnoustrojów, takich jak *Salmonella sp.* oraz enterotok-

syczne szczepy *E. coli*. Drugi typ to odporność postnatalna laktogenna. Pierwszym i *de facto* jedynym źródłem odporności jest siara matki. Ze względu na budowę łożyska (nieprzepuszczalne) nie dochodzi do transportu przeciwciał w życiu płodowym. Ten typ odporności występuje u samic zwierząt hodowlanych i niektórych dziko żyjących (dużych i średnich przeżuwaczy). Natomiast u samic ssaków mięsożernych (kotowate, psowate), w wyniku częściowej przepuszczalności łożyska około 1/3 immunoglobulin jest przekazywana w życiu płodowym (*via placenta endotheliochorialis*), a 2/3 przez siarę [5, 7]. U samicy kangura (i niektórych innych torbaczy) w torbie dla noworodka następuje wytwarzanie siary oraz równoległa synteza mleka (które jest przeznaczone dla starszego potomstwa) przez inny gruczoł. W tabeli 1 przedstawiono transport przeciwciał u ssaków z różnymi typami łożyska, natomiast w tabeli 2 – poziom całej frakcji gamma oraz poszczególnych klas Ig w sianie kobiety, krowy i świni. Zasadnicze różnice są związane ze sposobem przekazywania tych białek. U kobiety i innych samic ssaków naczelnych, większość ich jest wcześniej transportowana przez łożysko [8].

Wpływ siary na odporność cieląt

Siara (kolostrum, młodziwo) powinna być pobierana bezpośrednio z gruczołu mlekowego (nowo narodzone cielęta mają w pełni wykształcony odruch ssania). Cielę wypija w ciągu 10 minut około 3 litrów siary, wykonując około 800 ruchów ssąco-połykowych. Siara zmieszana ze śliną dostaje się do rynienki przełykowej i spływa do trawieńca, a stamtąd do jelita cienkiego, gdzie następuje szybka resorpcja immunoglobulin.

Podczas odpajania z wiadra cielę pobiera 3 l siary w ciągu 1 minuty (!), przy 80 ruchach przełykowych. Siara przedostaje się w około 1/3 objętości do żwacza, pozbawionego nie tylko zdolności resorpcji, lecz także enzymów trawiennych. Zaopatrzenie w elementy odpornościowe jest nieznaczne, może dochodzić do zaburzeń w funkcjonowaniu przewodu pokarmowego [7].

Optymalna temperatura siary powinna wynosić około 35°C, nie powinna natomiast być niższa aniżeli 30°C. Zależy od tego strawność białka i tym samym stopień przyswajalności immunoglobuliny G oraz innych globulin. Około 1,5 l siary o temperaturze 35°C ulega ścięciu w ciągu 5 minut, natomiast ta sama

Tabela 1

Transport przeciwciał u ssaków z różnymi typami łożyska, wg E. Knobil, J.D. Neill, zmodyf. przez Furowicza [5]

Gatunek	Typ łożyska	Transport przeciwciał matczynych				
		prenatalnie		postnatalnie		
		znaczenie	droga	znaczenie	droga	czas trwania (w dniach)
Koń, świnia, krowa	<i>P. epitheliochorialis</i>	0	**	+++	jelito	1-1,5
Owca	<i>P. syndesmochorialis</i>	0	**	+++	jelito	1
Pies, kot i inne mięsożerne	<i>P. endotheliochorialis</i>	+	*	++	jelito	1-2
Mysz, szczur	<i>P. hemochorialis</i>	+	woreczek żółtkowy	++	jelito	16-20
Królik, świnka morska	<i>P. hemochorialis</i>	+++	woreczek żółtkowy	0	**	**
Człowiek, małpy człekokształtne	<i>P. hemochorialis</i>	+++	<i>via placenta</i>	+	jelito	**

* – nie do końca poznano; ** – do końca nie wyjaśniono; znaczenie: „0” – nie odgrywają roli, „+” – nie odgrywają zasadniczej roli, „++” – odgrywają ważną rolę, „+++” – odgrywają zasadniczą rolę

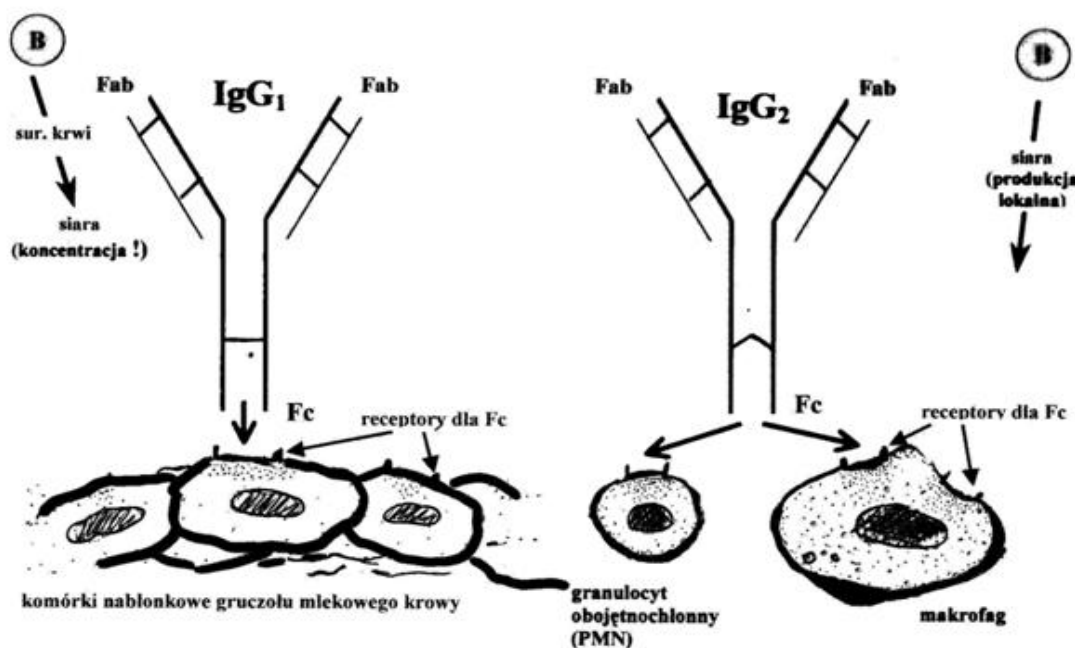
Tabela 2

Poziom różnych klas Ig w sianie, wg Furowicza [5, 7]

Gatunek	IgG (w %)	IgA (w %)	IgM (w %)	Cała frakcja gamma (w mg/ml)
<i>Homo sapiens</i>	2	90	8	~ 20
Świnia	80	14	6	~ 70
Krowa	85	7	8	~ 65

porcja, ale o temperaturze 15°C ulega ścięciu w trawieńcu w ciągu aż 6 godzin. Taka siara nie powinna być wykorzystywana jako dobre źródło immunoglobulin, ponadto może powodować zaburzenia trawienne [5, 7].

Należy pamiętać, że wysoki poziom immunoglobulin (głównie IgG) występuje w sianie przez pierwsze 12 godzin po porodzie. Dotyczy to także pełnego wchłaniania tych białek w przewodzie pokarmowym cielęcia oraz ich ochrony inhibitorem trypsyny, który w wysokim stężeniu syntetyzowany jest przez matkę tylko równoległe z IgG [5, 7]. Wymienione wcześniej parametry (optymalna temperatura ok. 35°C oraz sposób odpajania – wywołanie „efektu ssania”), składają się na pełne i szybkie „zaopatrzenie” cielęcia w podstawowe elementy odpornościowe. Z obserwacji własnych wynika, że najlepiej jest, gdy otrzymywana przez cielę siara pochodzi z gruczołu mlekowego jego matki. W przypadku niskiego poziomu witaminy A oraz zanieczyszczeń bakteryjnych (*mastitis*), należy uzupełnić (lub wymienić) siarę matki siarą „bogatą” w przeciwciała i witaminę A, pochodzącą od innych krów lub preparatem z „banku siary” [5, 7]. Wymienione czynności wymagają wykonywania odpowiednich badań bakteriologicznych, biochemicznych oraz immunologicznych. Przedstawione uwagi dotyczą także odpajania siarą noworodków innych przeżuwaczy (koźląt, jagniąt oraz noworodków lam), jak również w pewnym stopniu prosiąt i źrebiąt.



Rys. 1. Zasadnicze funkcje IgG1 oraz IgG2 u krowy, wg Furowicza [5]

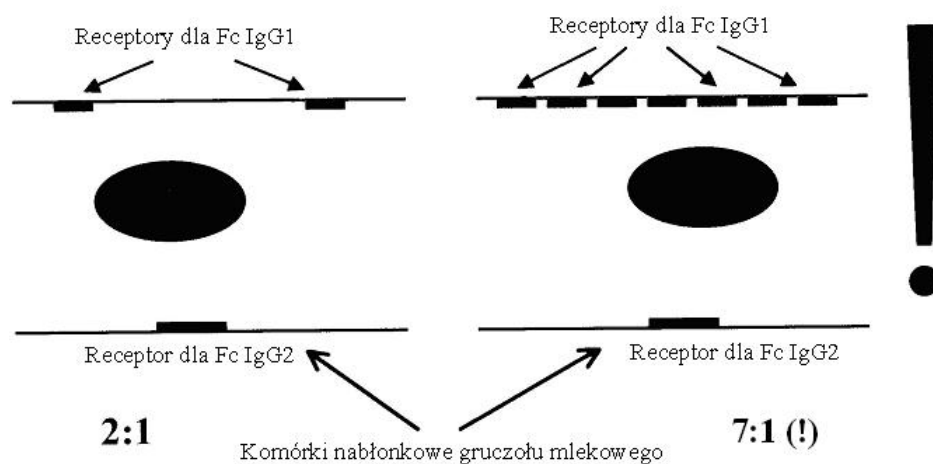
Funkcje podklas immunoglobulin IgG1 i IgG2 u krowy w okresie przedporodowym i w czasie porodu

Stwierdzono, że koniec fragmentu Fc łańcucha H immunoglobuliny G1 posiada właściwość selektywnego przenoszenia tego białka do siary przeżuwaczy [7]. Na powierzchni komórek nabłonkowych gruczołu mlekowego znajdują się receptory dla fragmentu Fc tego białka (rys. 1). Stosunek ich do receptorów dla Fc IgG2 wynosi 2:1, a w okresie przedporodowym i w czasie porodu – 7:1 (rys. 2). Praktycznie tylko immunoglobulina G1 przechodzi z surowicy krwi do siary. Wyjaśnia to jej dominację w surowicy krwi bydła, owiec i kóz [5]. Przenika ona także łatwiej aniżeli IgG2 przez łożysko u samic, u których budowa histologiczna tej błony pozwala na taki transport (tab. 1). Natomiast główna funkcja fragmentu Fc IgG2, to wiązanie się z receptorami makrofagów i granulocytów obojętnochłonnych. Tak więc immunoglobuliny IgG2 tworzą przeciwciała cytofilne, odgrywające ważną rolę w opsonizacji bakterii w procesie fagocytozy [5, 7].

Immunologia okresu neonatalnego i syndrom niedoboru odpornościowego związanego z okresem ciąży (P-AIDS)

Aby utrzymać w macicy płód z ojcowskim, a więc obcym zestawem antygenów, wzrasta w organizmie matki poziom hormonów i białek łożyskowych wygaszających reakcje odporności komórkowej. Stwierdzony przez Weinberga [cyt. przez 5] syndrom P-AIDS (Pregnancy-Associated Immune Deficiency Syndrom), należy traktować jako selektywne obniżenie reaktywności komórkowej, a nie jako ogólną depresję immunologiczną. Mechanizmy odpowiedzialne za P-AIDS, to wzrost w organizmie samicy poziomu hormonów, głównie estrogenów (estradiolu i progesteronu) oraz kortykosteroidów (hydrokortyzonu). Ponadto zwiększenie poziomu białek łożyskowych,

przede wszystkim gonadotropiny kosmówkowej (HCG) oraz α -fetoproteiny (białka płodowo-łożyskowego), globuliny trofoblastycznej (SP1), glikoproteidu SP3 i α 2-makroglobuliny [4, 5, 7]. W wyniku wymienionego syndromu dochodzi do inwolucji grasicy, hamowania funkcji limfocytów T (Th1), zmniejszenia aktywności komórek NK i K, zahamowania aktywności makrofagów (zatrzymanie syntezy interleukiny 1 oraz granulocytów obojętnochłonnych [5]. Między limfocytami Th1 i Th2 dochodzi do antagonizmu.



Rys. 2. Przeciwciała podklas IgG1 i IgG2 u bydła oraz innych przeżuwaczy, wg Furowicza [5]

Przez syntetyzowane przez Th2 interleukiny II-4 i II-10 następuje proces zahamowania aktywności komórek Th1, odpowiedzialnych za mechanizmy odporności komórkowej [3, 8, 10]. Limfocyty Th2 aktywują natomiast w dalszym ciągu komórki B do wytwarzania przeciwciał, tak więc nie dochodzi do wygaszenia odporności humoralnej w organizmie ciężarnej samicy [5, 7].

Konsekwencje kliniczne syndromu P-AIDS u krów (i innych ciężarnych samic), to zwiększona zapadalność na niektóre choroby zakaźne, wywoływane przez wewnątrzkomórkowe fakultatywne patogeny bakteryjne (m.in. prątki gruźlicy i trądu), pasożyty (*Toxoplasma sp.*) oraz wirusy [5]. Ponadto zmniejszona reaktywność na tuberculinę, brucelinę, toksoplazminę oraz inne preparaty używane do prób alergicznych; mogą być one fałszywie ujemne [7]. Powyższe zaburzenia dotyczą zarówno ssaków naczelnych, jak i samic zwierząt hodowlanych [5].

Immunologia ciąży kłaczy i okresu neonatalnego źrebiąt ssysaków

Ciąża u kłaczy trwa 11 miesięcy. Łożysko jest nieprzepuszczalne (*placenta epitheliochorialis*), a pierwszym znaczącym źródłem przeciwciał jest siara matki (tab. 1).

Źrebię rodzi się w stanie silnej hipogammaglobulinemii. Skład immunoglobulin siary odpowiada pod względem jakościowym składowi surowicy krwi. Osesek wchłania przez jelito cienkie cząsteczki immunoglobulin jedynie w ciągu pierwszych 24 godzin życia, a najbardziej efektywne wchłanianie występuje przez pierwsze 12 godzin. Komórki jelita ssysaka wchłaniają immunoglobuliny na drodze pinocytozy. Okres utrzymywania się przeciwciał siarowych w surowicy krwi źrebięcia zależy od ich wyjściowego poziomu w pierwszej dobie życia. Odporność bierna u źrebiąt ma znaczenie w ciągu pierwszych 2-3 miesięcy życia. Wiek źrebiąt, w którym rozpoczyna się synteza własnych immunoglobulin uzależniony jest od charakteru stymulacji anty-

genowej, jakiej poddany jest organizm; średnio w 3. tygodniu życia. Pełna zawartość przeciwciał na poziomie osobników dorosłych stabilizuje się dopiero w wieku 3-4 miesięcy.

Poza „klasycznymi” immunoglobulinami (IgG, IgM, IgA, IgE), w surowicy krwi konia oraz innych koniowatych występuje immunoglobulina IgT o zbliżonej „konstrukcji” do IgG, ale posiadająca szereg właściwości różnicujących ją od pozostałych globulin [1, 3, 5, 7]. Szereg z nich (działanie antybakteryjne i antytoksyczne) ma z klinicznego punktu widzenia oddziaływanie pozytywne, inne towarzyszą niektórym schorzeniom i są traktowane jako elementy negatywne.

Podsumowanie

Znajomość mechanizmów odpornościowych związanych z ciążą i okresem neonatalnym ssaków, jak również procesów starzenia się tych zwierząt prowadzących w sposób nieunikniony do śmierci, jest bardzo istotna. Dotyczy to także współdziałania centralnego i obwodowego układu nerwowego z systemami immunologicznym i wydzielania dokrewnego. Klasycznym przykładem może być tutaj oś podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczowa (HPA). W wyniku infekcji dochodzi bardzo szybko do przekazania o niej informacji i eliminacji zaburzeń chorobowych. Warto także wspomnieć o wykorzystaniu niektórych elementów biologicznych pochodzących od „zwierząt niższych” w leczeniu i zapobieganiu groźnym chorobom zakaźnym ssaków. Do tych celów wykorzystywane są w ostatnich latach ptasie immunoglobuliny IgY, pozyskiwane z żółtka jaj kur immunizowanych określonymi antygenami bakteryjnymi lub wirusowymi [2, 6, 7]. Należy tutaj wymienić między innymi zakażenia jelitowe zwierząt i człowieka (zwłaszcza małych dzieci), których przyczyną są enterotoksyczne szczepy *E. coli* i *Salmonella sp.*, jak również toksemie u ludzi, m.in. wywoływane przez toksynę botulinową [2]. Działanie odpowiednich IgY porównywane jest z oddziaływaniem surowicy odpornościowej; w jednym i drugim przypadku dochodzi do powstawania biernej odporności swojej, szybko eliminującej określone patogeny.

Literatura: 1. Buczek J., Deptuła W., Gliński Z., Jarosz J., Stosik M., Wernicki A., 2000 – Immunologia porównawcza i rozwojowa zwierząt. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa – Poznań. 2. Chacana P.A., Terzolo H.R., Schade R., Furowicz A.J., Borkowski J., 2004 – Advances in Agricultural Sciences 9, 7-17. 3. Deptuła W., Tokarz-Deptuła B., Stosik M., 2008 – Immunologia dla biologów. Wydawnictwo Naukowe Uniwersytetu Szczecińskiego, Szczecin. 4. Furowicz A.J., 2006 – Prezentacja antygeny oraz pamięć

immunologiczna, dwa istotne mechanizmy obronne w zakażeniu. Materiały wykładów dla studentów Biotechnologii AR w Szczecinie. **5. Furowicz A.J.**, 2007 – Immunologia ciąży oraz noworodka. Materiały wykładów dla studentów Biotechnologii AR w Szczecinie. **6. Furowicz A.J.**, 2009 – Ptasie immunoglobuliny IgY w leczeniu i zapobieganiu chorób zwierząt i człowieka. Materiały wykładów dla studentów Biotechnologii AR w Szczecinie. **7. Furowicz A.J.**, 2010 – Immunologia ciąży i noworodka. Materiały wykładu wygłoszonego w ramach sesji naukowej PTMiTTI, Szczecin. **8. Gołąb J., Kozar-**

-Kamińska K., 2007 – Immunologia rozrodu. W: Immunologia (pod red. J. Gołąb, J. Jakóbsiak, W. Lasek, T. Stokłosa). Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa. **9. Jakóbsiak M., Gołąb J.**, 2007 – Prezentacja antygenów limfocytom T. W: Immunologia (pod red. J. Gołąb, J. Jakóbsiak, W. Lasek, T. Stokłosa). Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa. **10. Lasek W., Jakóbsiak M.**, 2007 – Populacje i subpopulacje limfocytów. W: Immunologia (pod red. J. Gołąb, J. Jakóbsiak, W. Lasek, T. Stokłosa). Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.

Rozcieńczalniki do przechowywania nasienia knura

Joanna Jaroszewska

Studium Doktoranckie Instytutu Zootechniki PIB,
Dział Biotechnologii Rozrodu Zwierząt

Inseminacja jest metodą biotechnologiczną szeroko stosowaną w hodowli zwierząt. W ciągu roku na świecie wykonuje się około 100 mln takich zabiegów u bydła [55]. W Europie około 90% loch i loszek jest zapładnianych tą metodą. Warto jednak zaznaczyć, że ponad 99% zabiegów u trzody chlewnej wykonywanych jest z użyciem nasienia przechowywanego w stanie płynnym w temperaturze 15-20°C, w dniu jego pobrania od knura lub dnia następnego. Inseminację z użyciem mrożonego materiału wykonuje się najczęściej w przypadku, gdy nasienie pochodzi z importu [31]. Stosowanie inseminacji umożliwia szeroki dostęp do nasienia wybitnych reproduktorów oraz eliminację genów warunkujących wady rozwojowe. Inseminacja przyspiesza postęp hodowlany, ułatwia handel i międzynarodową wymianę materiału biologicznego oraz zmniejsza ryzyko przeniesienia chorób zakaźnych. Głównym jej celem jest zachowanie ciągłości genetycznej oraz zapobieganie lub wyeliminowanie chorób przenoszonych drogą płciową [16].

Rutynowo wykonywane zabiegi inseminacji wymuszają przygotowanie ogromnej ilości porcji nasienia. Knury mają stosunkowo krótki cykl spermatogenezy, dzięki czemu są największymi producentami nasienia wśród zwierząt gospodarskich [17]. Każda dawka inseminacyjna zawiera około $2,5-3,0 \times 10^9$ plemników w 80-100 ml rozcieńczalnika. Dąży się do ciągłego zmniejszania ilości plemników w takiej dawce. Jednak aby mogło dojść do zapłodnienia, w układzie rozrodczym samicy musi się znaleźć – biorąc pod uwagę straty nasienia związane z wpływem nasienia z dróg rodnych, fagocytozą plemników w drogach rodnych, a także rozległością powierzchni macicy – odpowiednia ilość zdolnych do zapłodnienia plemników [7, 42].

Wykazano, że wielkość dawki jest proporcjonalna do liczby prosiąt urodzonych w miocie, zatem zmniejszanie liczby plemników w dawce może negatywnie wpłynąć na rozród, przy zastosowaniu standardowej inseminacji do szyjki macicy. W przypadku, gdy nasienie wprowadzane jest do rogu macicy zmniejszanie dawek inseminacyjnych może być ekonomicznie wydajne [10].

Jakość nasienia używanego w inseminacji zależy od wielu czynników, takich jak: zastosowany rozcieńczalnik i sposób przechowywania nasienia oraz rasa i wiek knura, sposób jego żywienia, utrzymania i użytkowania [35, 37, 58], a także od czynników sezonowych [5, 38]. Wszystkie te elementy odgrywają dużą rolę, jednak szczególnie istotny, ze względu na wieloskładnikowość, wydaje się być rozcieńczalnik.

Rozcieńczalnikiem do nasienia jest wodny roztwór substancji zwiększający objętość dawki nasienia i stanowiący źródło niezbędnych składników odżywczych dla plemników, mających wysokie wymagania metaboliczne podczas przechowywania oraz transportu w układzie rozrodczym samicy [20].

Każdy rozcieńczalnik zawiera składniki zapewniające źródło energii, właściwe pH, ciśnienie osmotyczne, ale także substancje chroniące przed szokiem termicznym oraz hamujące wzrost bakterii [51]. Każda dawka inseminacyjna musi spełniać określone normy sanitarno-weterynaryjne, zapewniając tym samym bezpieczeństwo epizootyczne [55]. Stosowane do rozrzedzania lub konserwacji preparaty, produkowane na bazie substancji pochodzenia zwierzęcego (mleko, żółtko jaj, krew, surowica, osocze), powinny pochodzić ze źródeł, które nie stanowią zagrożenia dla zdrowia zwierząt [46]. Natomiast w przypadku substytutów roślinnych (białko soi, mleko kokosowe, cukry złożone i inne) powinny być pozyskane na terenach niezapowietrzonych, tj. nieobjętych chorobą [55].

Od czasu opisania pierwszych rozcieńczalników (glukoza – siarczan, glukoza – winian) przez Milovanova w roku 1962, powstało wiele receptur przygotowania podłoża dla nasienia różnych gatunków zwierząt [31]. Każdy rozcieńczalnik musi zapewniać optymalne warunki, w celu utrzymania gamet w dobrej kondycji. Plemniki pozyskują energię z procesu glikolizy przeprowadzanej w mitochondriach, a substratem reakcji tego procesu jest glukoza, która stanowi źródło energii i tym samym jest podstawowym składnikiem każdego rozcieńczalnika [20].