

Rola komórek NK („naturalnych zabójców”) w rozpoznawaniu i niszczeniu komórek nowotworowych oraz drobnoustrojów chorobotwórczych dla zwierząt i człowieka, z uwzględnieniem różnych elementów terapii

Antoni J. Furowicz, Magdalena Ferlas

AR w Szczecinie

W organizmach ssaków i ptaków, w ramach układu odpornościowego, występuje specjalny system wyspecjalizowany w szybkim rozpoznawaniu komórek ulegających transformacji nowotworowej bądź też zakażonych cząsteczkami wirusów lub wewnątrzkomórkowymi fakultatywnymi patogenami bakteryjnymi. System ten reprezentowany jest przez komórki NK (Natural Killers), określoną populację makrofagów (pobudzonych w powyższym celu) oraz limfocyty TH₁ uczulone na określone antygeny nowotworowe, wirusowe lub bakteryjne (rys. 1). Wymienione komórki odpowiedzialne są za mechanizmy swoistej bądź nieswoistej odporności komórkowej. Za pomocą odpowiednich cytokin przesyłają szereg informacji zarówno do komórek odpowiedzialnych za procesy odporności humoralnej (wytwarzanie przeciwciał przez limfocyty B), jak i do komórek centralnego układu nerwowego oraz hormonalnego [1, 6, 8, 14].

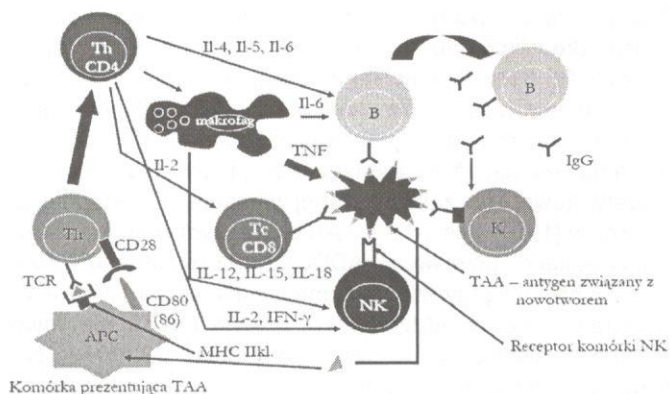
Zaburzenia w funkcjonowaniu tego systemu może powodować proces nowotworzenia lub też zwiększenia ryzyka zakażeń wirusowych i niektórych bakteryjnych [7, 11, 13, 16]. Przykładem może być tutaj szereg groźnych infekcji wirusowych człowieka (m.in. zakażenia wirusami HIV lub herpeswi-

rusami) oraz zwierząt (infekcje przeżuwaczy wirusem enzootycznej bronchopneumonii), bądź też powstawanie różnych złośliwych nowotworzeń.

Nowotworzenie – jeden z problemów naszej cywilizacji

W statystykach światowych nowotwory, jako bezpośrednia przyczyna zejść śmiertelnych, znajdują się tuż za chorobami układu krążenia [4, 16]. Większość złośliwych nowotworów wywodzi się z tkanek ektodermalnych i zaliczana jest do raków (*carcinoma*). Na drugim miejscu, co do częstości występowania, znajdują się mięsaki (*sarcoma*). Najczęściej spotykanymi u ludzi nowotworami jest rak jelita grubego i odbytu, sutka, oskrzeli, macicy, gruczołu krokowego oraz pęcherza moczowego i nerek. Ponadto stosunkowo często odnotowuje się raka i mięsaki układu limfatycznego (m.in. limfom) oraz różne postaci kliniczne białaczki. Bardzo groźnym nowotworzeniem są różne formy czerniaka [4]. U zwierząt hodowlanych problemem epidemicznym jest białaczka bydła oraz niekiedy białaczka u drobiu, natomiast u starych psów stosunkowo często nowotworzenie gruczołu sutkowego oraz różne formy raka (również u kotów).

Śmiertelność w wyniku chorób nowotworowych, mimo olbrzymich postępów w terapii, jest w dalszym ciągu wysoka. Dotyczy to głównie przypadków późno rozpoznawanych, kiedy to dochodzi do wielu przerzutów komórek nowotworowych do różnych narządów. Do najczęściej stosowanych zabiegów leczniczych zalicza się chemioterapię (realizowaną często przy wykorzystaniu przeciwciał monoklonalnych), radioterapię oraz chirurgiczne eliminowanie guzów nowotworowych



Rys. 1. Mechanizm odpowiedzi immunologicznej przeciw komórkom nowotworowym

[4, 9]. Coraz częściej realizuje się także różne formy immunoterapii [5]. W efekcie immunoterapii czynnej wzmacnia się reaktywność odpornościową pacjenta, podając mu inaktywowane komórki nowotworowe lub ich antygeny (terapia swoista), bądź też stymuluje mechanizmy odpornościowe preparatami immunostymulującymi (niektóre cytokiny oraz immuno-

Zarząd Główny Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego wyraża serdeczne podziękowania organizatorom LXXI Zjazdu PTZ w Bydgoszczy. Wyrazy uznania i wdzięczności przekazujemy na ręce Pana Profesora Sławomira Mroczkowskiego, przewodniczącego komitetu organizacyjnego. Uczestnicy chwalili doskonałą organizację Zjazdu, życzliwą atmosferę i gościnność. Bardzo interesujący był program wycieczki, a także wybór tematyki obrad plenarnych.

W imieniu Zarządu Głównego Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego

Prof. dr hab. Zygmunt Reklewski

modulatory). Immunoterapia bierna polega natomiast na podawaniu przeciwciał (swoistych monoklonalnych), odpowiednio modyfikowanych w celu zwiększenia efektywności terapeutycznej [5, 9].

Krokiem milowym w leczeniu nowotworzeń jest wykorzystanie mechanizmów związanych z immunoterapią adoptywną [1, 16]. Za efekt przeciwnowotworowy odpowiedzialne są, podawane dożylnie lub miejscowo, komórki odpornościowe uzyskane wcześniej od chorego. Komórki te aktywuje się pozaustrojowo (w laboratorium), wykorzystując m.in. szereg technik biologii molekularnej; następnie podaje pacjentowi, od którego je izolowano [1, 16]. Główne elementy różnych typów immunoterapii zostaną przedstawione po omówieniu zasadniczych właściwości komórek NK.

Zasadnicze właściwości komórek NK

Komórki te stanowią bardzo istotną populację elementów układu odpornościowego – jako pierwsze rozpoznają i następnie niszczą komórki nowotworowe oraz komórki zakażone wirusami [2, 13], ponadto komórki wielu tkanek organizmów ssaków i ptaków zainfekowane przez fakultatywne patogeny bakteryjne (m.in. prątki gruźlicy i trądu, pałeczki *Salmonella*, *Legionella* i *Listeria*), chorobotwórcze grzyby i niektóre pasożyty (*Toxoplasma gondii*, *Leishmania major* i *Schistosoma mansoni*) [1, 8, 10, 11].

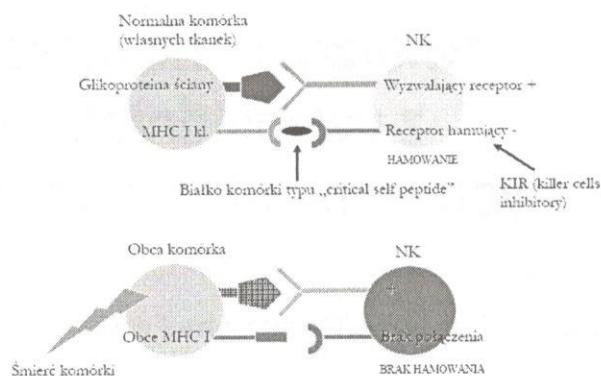
Komórki NK są dużymi komórkami – zawierają szereg ziarnistości. Stanowią około 10% wszystkich limfocytów krwi obwodowej ssaków, ponad 99% komórek NK dojrzewa w szpiku kostnym. Dysponują one „paszportem” CD16-CD56 odpowiedzialnym za ich swoistość. Formy młodociane zawierają tylko cząsteczkę CD56, nie wykazują natomiast ekspresji cząsteczek CD16. Komórki dojrzałe zawierają obydwie cząsteczki; CD16 stanowi receptor dla przeciwciał IgG [2, 16]. W wyniku związania odpowiednich przeciwciał, komórka NK za ich pomocą może związać się z antygenem komórki docelowej (np. nowotworowej lub zainfekowanej wirusem) i następnie ją zniszczyć [1, 10]. Jest to zjawisko cytotoksyczności komórkowej zależnej od przeciwciał (ADCC). Komórki NK fenotypowo i funkcjonalnie są bardziej zbliżone do limfocytów T aniżeli B. Choć z reguły oddziałują prawie natychmiastowo w sposób nieswoisty, po „wykonaniu ataku” zachowują pamięć immunologiczną o swoim „przeciwniku”, co przyspiesza następny atak [16].

Jak już wspomniano, omawiane komórki są odpowiedzialne za przeciwwirusową odporność komórkową, głównie przeciwnowotworową i przeciwwirusową. Jest to typ odporności naturalny – spontaniczny. Wykazano, że już w przeciągu około 4 minut (bez wcześniejszego uczulenia) nabierają cytotoksyczności w stosunku do komórek dokonujących inwazji [10, 11].

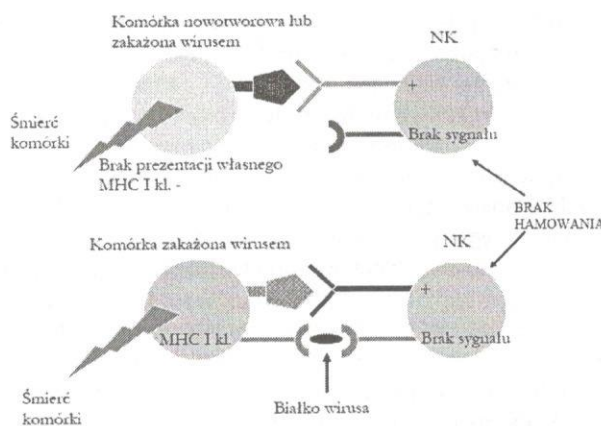
Stwierdzono, że komórki NK wytwarzają cytokinę INF γ (interferon gamma), pobudzając w ten sposób makrofagi do szybszego rozpoznawania komórek nowotworowych i bardziej skutecznego ich niszczenia. Same są z kolei aktywowane przez limfocyty TH $_1$ oraz makrofagi, głównie poprzez cytokiny IL-12, IL-2, IL-13, jak również interferony α i β . Te ostatnie wyjątkowo silnie stymulują aktywność cytotoksyczną tych komórek [1, 16]. Charakteryzowane komórki mogą hamować funkcje limfocytów TH $_2$ i B, a tym samym niektóre mechanizmy odporności humoralnej [2, 8]. Z kolei prostaglandyny E, wytwarzane przez komórki nowotworowe i niektóre makrofagi, hamują aktywność komórek NK [1, 10, 11, 16].

Główne receptory komórek NK podzielono na dwie zasadnicze grupy: hamujące zabijanie („oszczędzające” własne komórki) oraz pobudzające zabijanie (KAR), odpowiedzialne za zabójczy efekt cytotoksyczny [10, 12].

Za pośrednictwem receptorów aktywujących wyzwalane są mechanizmy lityczne prowadzące do śmierci komórki docelowej. Natomiast receptory hamujące, po związaniu odpowiedniej cząsteczki na komórce docelowej, blokują reakcje cytotoksyczne (rys. 2 i 3). Poza wymienionymi istnieją jeszcze tzw. receptory lektynowe, nie mieszczące się w wymienionych wcześniej grupach [8, 12, 16]. Ligandami (elementami wiążącymi dla receptorów komórek NK) mogą być zarówno tzw. klasyczne, jak i nieklasyczne cząsteczki głównego układu zgodności tkankowej (MHC). Natomiast receptory hamujące zabijanie – KIR (Killer Cells Inhibitory), rozpoznają epitopy klasycznych cząsteczek MHC I klasy [16].



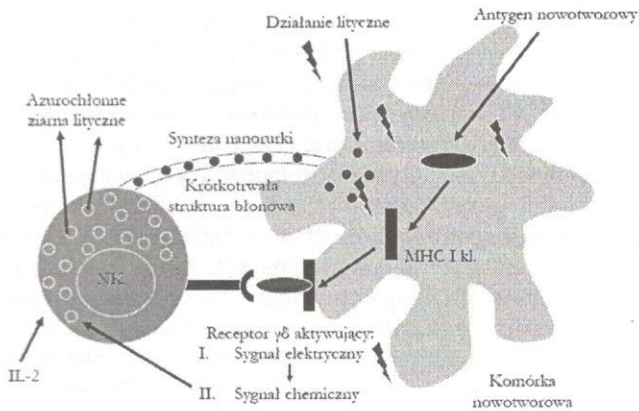
Rys. 2. Receptory aktywujące i hamujące (I), według Goust i Bierer'a (cyt. za Virella i wsp. [16])



Rys. 3. Receptory aktywujące i hamujące (II), według Goust i Bierer'a (cyt. za Virella i wsp. [16])

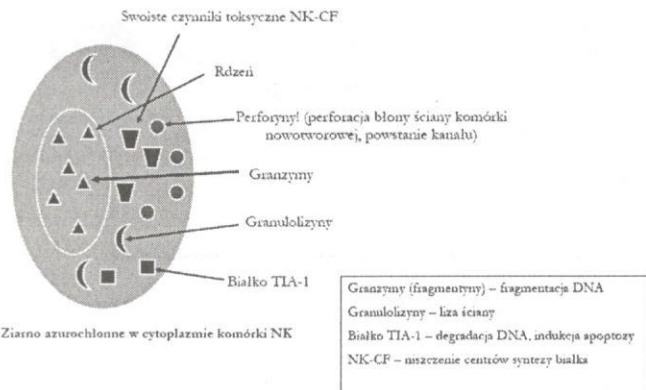
Rozpoznanie i niszczenie komórek nowotworowych przez komórki NK, zasadnicze mechanizmy

Rozpoznanie następuje poprzez receptor aktywujący, który wiąże się z antygenem nowotworowym, prezentowanym przez cząsteczkę głównego układu zgodności tkankowej I klasy na powierzchni komórki nowotworowej (rys. 2). Niszczenie komórki neoplasma następuje dzięki azurochłonnym ziarnom litycznym zawartym w cytoplazmie pobudzonej komórki NK [1, 10, 16]. Przedostają się one do komórki nowotworowej m.in. poprzez nanorurkę, stanowiącą jeden z elementów tzw. synapsy immunologicznej (rys. 4). Ziarno lityczne zawiera szereg substancji, które niszczą ścianę komórki nowotworowej (granulolizyna, perforyna), a następnie jej za-

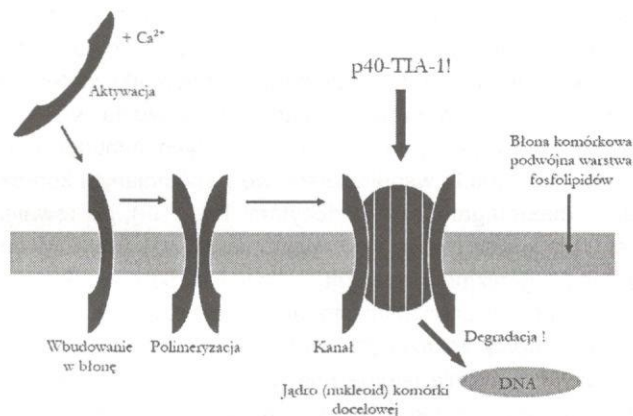


Rys. 4. Przekazywanie sygnałów między komórkami NK i nowotworowymi

sadnicze centra życiowe, takie jak jądro oraz elementy syntezy białka (odpowiednio fragmentyny DNA i białko P40-TIA-1 oraz czynnik NK-CF). Wszystkie elementy indukują procesy programowanej śmierci tej komórki (rys. 5 i 6, tab.). Fizjologiczna aktywność komórek NK związana jest z wieloma czynnikami organizmu ssaka. Odnotowano między innymi, że im starszy organizm, tym niższa jego aktywność immunologiczna. Ponadto jest ona obniżona w organizmach ludzi i zwierząt w rezultacie wielu wyniszczających chorób oraz chronicznego niedożywienia; u człowieka także w wyniku narkomanii. Natomiast elementem, który może powodować wzrost odporności jest zabieg immunomodulacji, realizowany w oparciu o szereg substancji stymulujących [7]. W przypadku



Rys. 5. Działanie przeciwnowotworowe komórek NK (cytotoksyczne), według Laska [10], zmodyf.



Rys. 6. Tworzenie kanału przez polimeryzację perforyny, według Laska [10], zmodyf.

Tabela
Oddziaływanie poszczególnych elementów

Perforyny	Uszkodzenie błony cytoplazmatycznej komórki docelowej, naruszenie jej struktury, powstawanie kanałów
Granzymy (proteazy)/"fragmentyny"	Fragmentacja DNA docelowej komórki
Granulolizyna	Liza błon komórkowych bakterii
P40-TIA-1	Degradacja kwasów nukleinowych komórki docelowej (bakterii)

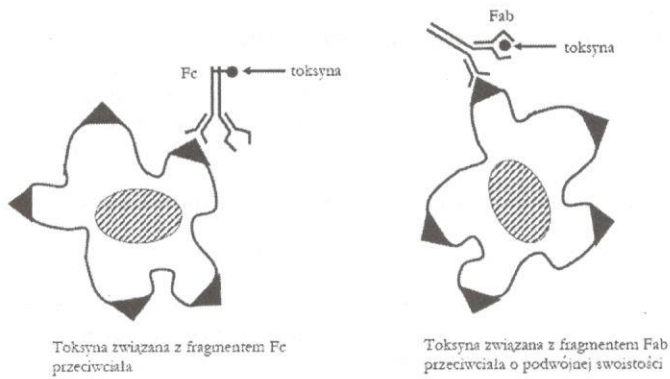
Wszystkie elementy: indukcja procesów apoptozy!!!

komórek NK i innych komórek odpowiedzialnych za odporność komórkową (przeciwwirusową i przeciwnowotworową) są to immunomodulatory naturalne pochodzenia bakteryjnego (m.in. ekstrakty *Propionibacterium acnes*) lub roślinnego. Wyciągi z *P. acnes* zawierają stymulujące substancje, głównie estry trehalozy i N-acetylo-muramyl-dwupeptyd, zawarte w ścianie komórki bakteryjnej. Oddziałują one silnie pobudzająco na replikację i aktywność cytotoksyczną komórek NK, makrofagów i subpopulację limfocytów T, którą stanowią komórki H₁ [3, 4].

Przeciwciała monoklonalne (PM) w rozpoznawaniu i leczeniu choroby nowotworowej

Przeciwciała monoklonalne (PM) są wytwarzane przez hybrydy powstałe w wyniku połączenia śledzionowych limfocytów B z „nieśmiertelnymi” komórkami szpiczaka [1, 16]. Powstałe w ten sposób komórki charakteryzuje ogromna aktywność produkcyjna (synteza przeciwciał) oraz typowa dla komórek nowotworowych „nieśmiertelność”. Wytwarzane przez nie przeciwciała posiadają wysoką swoistość. W diagnostyce i terapii nowotworów znalazły zastosowanie przeciwciała monoklonalne o podwójnej swoistości, syntetyzowane przez podwójne hybrydy, czyli hybrydy hybryd (kwadromy), powstałe w rezultacie fuzji dwóch hybryd, z których każda wytwarza PM o innej swoistości. Każdy z dwóch fragmentów łączących się z antygenami (Fab) takiego przeciwciała, wiąże inny antygen (np. antygen komórki nowotworowej oraz określony lek). Z PM przeciwnowotworowymi sprężą się leki niszczące komórki nowotworowe, takie jak mitomycyna-C, adriamycyna lub metotreksat. Ponadto łączy się te przeciwciała z enzymami, mającymi właściwości aktywowania nieczynnego proleku w aktywny preparat przeciwnowotworowy. Zmniejsza to toksyczność terapeutycznego, ponieważ w dużym stężeniu gromadzi się on tylko wokół komórek nowotworowych (oddziałują lokalnie).

Inny sposób wykorzystania przeciwciał monoklonalnych to synteza immunotoksyn (rys. 7). Okazało się, że takie trucizny tkankowe jak rycyna i dyferotoksyna w powiązaniu z PM wykazują fenomenalną aktywność przeciwnowotworową, blokując syntezę białka przez komórki neoplasma. Charakteryzuje je szereg elementów typowych dla tzw. „kuli magicznej” [7, 10, 16]. Kula ta w przypadku „opętania przez diabła”, przenikając przez ciało, zabija „szatana”, ale nie narusza „ofiary”. Oznacza to, że wymienione immunotoksyny niszczą tylko komórki nowotworowe (antygeny o dużym stężeniu), ale nie zabijają komórek prawidłowych (zbliżone antygeny, ale o bardzo niskim stężeniu). Dodatkowym zabezpieczeniem jest związanie tych toksyn przez określone glikolipidy [7]. W dia-

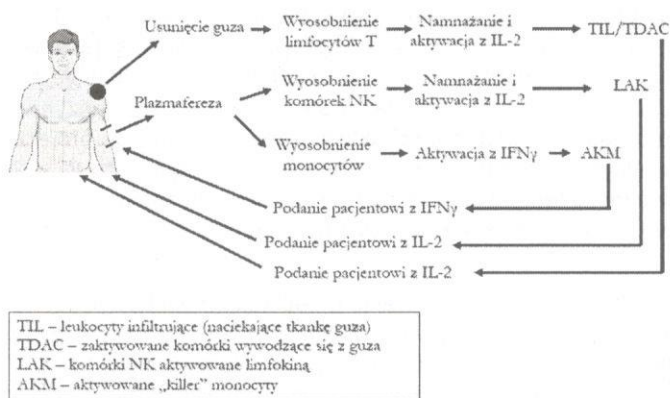


Rys. 7. Immunotoksyny – powiązania z komórką nowotworową, według Jakóbsiaka i Laska [7], zmodyf.

gnostyce do umiejscowienia nawet bardzo małych ognisk nowotworowych, o charakterze pierwotnym lub przerzutowym, używa się przeciwciał o podwójnej swoistości, sprzężonych z radioizotopami. Wykonana następnie radioscyntygrafia umożliwia wykrywanie w organizmie izotopów. Zabieg ten określany jest jako „mapowanie” [9, 10].

Wykorzystanie komórek NK w komórkowej immunoterapii adoptywnej

Pierwsze próby takiej terapii opierały się na obserwacjach różnych komórek układu odpornościowego, wyodrębnianych od pacjentów z chorobą nowotworową. Okazało się, że komórki te, izolowane od chorych będących już w stanie krytycznym (rokowanie negatywne), prezentowały z reguły niską aktywność przeciwnowotworową. Komórki te można było jednak ukierunkować tak, że nabierały silnych właściwości w stosunku do komórek nowotworowych. Badania takie realizowano z różnymi subpopulacjami leukocytów (komórkami NK, limfocytami TH, makrofagami), uzyskiwanymi od pacjentów z różnymi nowotworzeniami [1, 16]. Modyfikowano je następnie w laboratorium (stosując szereg metod immunologicznych) w celu uzyskania przez nie wysokiej cytotoksyczności. Po osiągnięciu wymienionych właściwości podawano je chorym, od których je wcześniej izolowano (rys. 8).

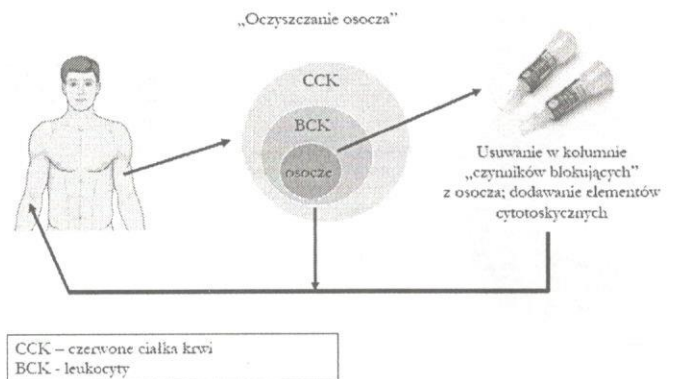


TIL – leukocyty infiltrujące (naciekające tkankę guza)
 TDAC – zaktywowane komórki wydzielające się z guza
 LAK – komórki NK aktywowane limfokina
 AKM – aktywowane „killer” monocyty

Rys. 8. Komórkowa adoptywna immunoterapia nowotworzenia, według Virella [16], zmodyf.

W związku z tym, że komórki NK aktywowano najczęściej limfokina (IL-2), często są one określane jako limfocyty LAK (Lymphokine Activated Killer Cells). Uzyskuje się je z krwi obwodowej pacjenta w wyniku zabiegów plazmaferazy. Następnie namnaża *in vitro* i, jak już wspomniano, aktywuje po-

przez inkubację z interleukiną 2 (IL-2). Okazało się, że komórki te oraz limfocyty T można dodatkowo „uzbroić” w odpowiednie geny, co jeszcze bardziej zwiększa ich toksyczność w stosunku do komórek nowotworowych. Genem takim jest czynnik martwicy nowotworowej (TNF), występujący normalnie w DNA jądra niektórych makrofagów. Wykorzystując techniki inżynierii genetycznej udało się go „przenieść” do genomów wymienionych komórek. W ten sposób uzyskują one cechę, której fizjologicznie nie posiadają [1, 7, 16]. Tak przygotowane komórki NK podaje się pacjentowi, od którego wcześniej je uzyskano, z dodatkiem IL-2 w celu pełnego zachowania aktywności cytotoksycznej (działanie *in vivo*). Uważa się, że w przeciwieństwie do podawania limfocytów TIL (komórek infiltrujących), naciekających tkankę guza nowotworowego, jest to przykład komórkowej immunoterapii z przewagą mechanizmów nieswoistych [1, 16]. Z nowszych obserwacji wynika jednak, że elementy swoistości odgrywają w tym zabiegu także istotną rolę [1]. Niemniej jednak przeważają opinie, że komórki TIL, oddziaływujące bardzo swoiście, są o wiele aktywniejsze (nawet prawie stukrotnie) w leczeniu przerzutów nowotworowych od komórek LAK [15]. W celu podniesienia skuteczności omawianej immunoterapii łączy się ją z kolumnową plazmaferazą powinowactwa, aby wyeliminować z osocza pacjenta czynniki blokujące (m.in. przeciwciała anty-nowotworowe) i utrudniające leczenie (rys. 9). Bardzo aktywnym elementem w procesie tego „oczyszczania” okazało się gronkowcове białko A, często wykorzystywane w odpowiedniej kolumnie [16].



Rys. 9. Immunoterapia raka realizowana na podstawie kolumnowej plazmaferazy powinowactwa, według Virella [16], zmodyf.

W podsumowaniu można stwierdzić, że komórki NK odgrywają zasadniczą rolę w rozpoznawaniu i niszczeniu komórek nowotworowych. Zjawisko to zostało wykorzystane w leczeniu nowotworzeń, w takich zabiegach jak komórkowa terapia adoptywna oraz immunomodulacja, realizowana w pierwszym rzędzie przy wykorzystaniu naturalnych immunostymulatorów. Komórki te współdziałają, we wspomnianym kontekście, z makrofagami oraz limfocytami TH₁ (TIL), jak również pośrednio z elementami odpowiedzialnymi za odporność humoralną organizmów zwierząt i człowieka. Są one także zaangażowane w znacznym stopniu w rozpoznawanie i niszczenie komórek zakażonych wirusami, niektórymi bakteriami i pasożytami. Pełnią istotną rolę w mechanizmach odporności przeciwwakażnej komórkowej nieswoistej oraz w pewnym zakresie swoistej. Mimo olbrzymich osiągnięć w zakresie immunoterapii nie udało się jednak w sposób zasadniczy ogra-

niczyć występowania choroby nowotworowej. Wynika to głównie z faktu, że taktyka oraz strategia komórek ulegających transformacji nowotworowej zdecydowanie przewyższa w tym aspekcie oddziaływanie komórek układu odpornościowego.

Literatura: 1. Abbas A.K., Lichtman A.H., Pober J.S., 1997 – Cellular and Molecular Immunology. W.B. Saunders Company, Philadelphia – London – Toronto – Montreal – Sydney – Tokyo. 2. Boon T., Cerottini J., Van den Eynde B., Van den Bruggen P., Van Pol A., 1994 – Annual Review of Immunology 12, 337-365. 3. Furowicz A.J., 2006 – Komórki NK oraz inne komórki układu odpornościowego rozpoznające i niszczące elementy nowotworzenia. Materiały wykładów, Wyd. Biotech. AR w Szczecinie. 4. Furowicz A.J., 2006 – Etiopatogeneza nowotworzenia, diagnostyka oraz immunoterapia (cz. I i II). Materiały wykładów, Wyd. Biotech. AR w Szczecinie. 5. Hellstrom K.E., Hellstrom I., Chen I., 1995 – Immunological Reviews 145, 167-178. 6. Imai K., Matsuyama S., Miyake S., Suga K., Nakachi K., 2000 – Lancet 356, 1797-1799. 7. Jakóbiński M., Lasek W., 2002 –

Immunologia nowotworów. W: Immunologia (pod red. J. Gołąb, M. Jakóbiński, W. Lasek). Wyd. Naukowe PWN, Warszawa. 8. Kagi D., Jedermann B., Burki K., Zinkernagel R.M., Hengartner H., 1996 – Annual Review of Immunology 14, 207-232. 9. Lanzavecchia A., 1993 – Science 260, 937-944. 10. Lasek W., 2002 – Cytotoksyczność komórkowa naturalna i zależna od przeciwciał. W: Immunologia (pod red. J. Gołąb, M. Jakóbiński, W. Lasek). Wyd. Naukowe PWN, Warszawa. 11. Lasek W., 2005 – Immunologia, podstawowe zagadnienia i aktualności. Wyd. Naukowe PWN, Warszawa. 12. Moretta A., Botwino C., Vitale M., Pende D., Blassoni R., Mingari M.C., Moretta L., 1996 – Annual Review of Immunology 14, 619-648. 13. Piekarczyk A., 2004 – Podstawy wirusologii molekularnej. Wyd. Naukowe PWN, Warszawa. 14. Roitt I., Brostoff J., Male D., 2000 – Immunologia. Wyd. Lekarskie PZWL, Warszawa. 15. Versteeg R., 1992 – Immunology Today 13, 244-247. 16. Virella G., 1999 – Introduction to Medical Immunology. Marcel Dekker Inc., New York – Basel – Hong Kong.

Główne przyczyny biegunek u cieląt w okresie neonatalnym*

Mariusz Korczyński, Witold Janeczek,
Krystyna Pogoda-Sewerniak

AR we Wrocławiu

Trudności, jakie występują w odchowcie cieląt w pierwszym okresie ich życia manifestują się dużym procentem zachorowań i upadków zwierząt. Kondracki i Cąkała [18] stwierdzili, że upadki cieląt do 6. miesiąca życia sięgają w niektórych fermach nawet kilkunastu procent. Po przeanalizowaniu 190 836 wycieleń w fermach wielkotowarowych wykazano, że odsetek zachorowań wśród urodzonych cieląt do 2. tygodnia życia wyniósł 51,69% całej badanej populacji, a głównymi ich przyczynami były schorzenia przewodu pokarmowego (63,33%) oraz dróg oddechowych (29,73%). Śmiertelność cieląt w tej grupie wiekowej wyniosła 11,13%. Między 2. tygodniem a 6. miesiącem życia odsetek zachorowań był wyższy, wynoszący 93,49%, a niejednokrotnie obserwowano nawet powyżej 100%, co wynikało z faktu, że te same cielęta chorowały kilkakrotnie do ukończenia 6. miesiąca życia. Przyczynami zachorowań w tej grupie wiekowej, podobnie jak u cieląt do 2. tygodnia życia, były schorzenia przewodu pokarmowego i oddechowego, przy czym odnotowano wyższy odsetek schorzeń dróg oddechowych (65,20%). Ilość upadków w tym okresie była niższa i wynosiła 5,3%. Tendencje te potwierdzają badania Litwińczuka i Borkowskiej [19] oraz Busato i wsp. [7], stwierdzające, że w pierwszych tygodniach życia cieląt problem stanowią przede wszystkim choroby układu pokarmo-

wego, a następnie choroby układu oddechowego, natomiast w drugim okresie życia częstotliwość występowania tych schorzeń kształtuje się w odwrotnej kolejności.

Biegunki uznawane są przez niektórych autorów za jeden z najpoważniejszych czynników powodujących straty w wychowie cieląt [18, 38, 39, 41]. Loriani i wsp. [21] badali wpływ warunków zoohigienicznych na częstość występowania biegunek u cieląt. Wyznaczając potencjalny czynnik wpływający na wystąpienie objawów biegunki, autorzy wyróżnili miesiąc urodzenia się cielęcia, okres pierwszego odpojenia siarą (podanie pierwszej siary do 6. godzin, po 6. godzinach, poziom białka całkowitego w surowicy krwi poniżej i powyżej 50 g/l), warunki utrzymania i mikroklimat pomieszczeń (czystość, temperatura powietrza oraz jego wilgotność). Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że biegunka występowała u 14,4% badanych cieląt, z których padło 4,2%. Największy wpływ na występowanie objawów biegunki miało postępowanie z cielętami zaraz po porodzie, pora roku, a w późniejszym okresie życia sposób ich żywienia. Zwierzęta, które otrzymywały w dawce pokarmowej kiszonki oraz mielone ziarno zbóż charakteryzowały się wyższą podatnością na schorzenia przewodu pokarmowego, co prawdopodobnie wynikało z krótkookresowego wzrostu poziomu trójglicerydów i mocznika we krwi. Nie odnotowano natomiast wpływu pozostałych czynników na częstość występowania biegunek.

Za główną przyczynę schorzeń przewodu pokarmowego, przejawiających się objawami biegunki u cieląt w okresie neonatalnym, uznaje się wiele czynników zakaźnych, których działanie występuje równoległe [10, 13., 20, 22, 38, 41]. Busato i wsp. [8], badając przyczyny zachorowań cieląt w gospodarstwach wielkotowarowych zachodniej Szwajcarii, od momentu urodzenia do zakończenia okresu siarowego, stwierdzili, że najczęściej występującym schorzeniem w tym okresie jest infekcja przewodu pokarmowego. Wykonane analizy kału chorych i padłych zwierząt wykazały, że objawy biegunki występowały na tle *Campylobacter spp.* (42%), *E. coli* (32%), *rotavirus* (33%), *coronavirus* (13%) i *coccidia* (43%). W większości przypadków odnotowywano jednoczesne infekcje wyżej wymienioną florą bakteryjną. Podobne badania w fermach wielkotowarowych przeprowadzili Wernicki i Rzedzicki [40]. Badane cielęta zostały podzielone na osob-

*Praca wykonana w ramach projektu badawczego – promotorowskiego nr 3P06Z 036 25, finansowanego przez MNiI