

STANISŁAW GRACZYK, JAN KURYSZKO*

Wpływ tymektomii na kinetykę formowania centrów rozrodczych i intensywność odczynu na fosfatazę kwaśną w śledzionie kurcząt, w przebiegu odpowiedzi immunologicznej

Zakład Fizjopatologii Katedry Anatomii Patologicznej, Fizjopatologii i Weterynarii Sądowej

*Katedra Anatomii i Histologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław

Summary

The influence of thymectomy on the kinetics of germinal centre formation and on the intensity of acid phosphatase reaction in the spleen of chickens in the course of immune response

The aim of the research was to monitor the influence of neonatal thymectomy on the reactivity of chicken spleen structures. The investigations were carried out on chickens with the thymus removed on the 1st day after hatching and with antigen administered in the form of sheep erythrocytes (SRBC) at the age of 12 weeks. On days 6, 14 and 21 after antigen administration the spleen was taken out and histological slides were prepared. On the established area of HE slides germinal centres were counted and mature centres of type I and immature ones of type II were distinguished. Reaction to the acid phosphatase (Aph) was done by the Gomori method. The results of the reaction was read on the established area within the periarterial lymphatic tissue (PAL) using the Thomson point method.

It was found that neonatal thymectomy leads to a decrease in the number of germinal centres and simultaneously to the reduction of the intensity of Aph reaction within the spleen PAL. Following immunization of the thymectomized chickens, in comparison to the control (group) a change of kinetics of germinal centers formation was discovered, mainly of type I. It was ascertained that in the succeeding days after the antigen administration the intensity of Aph reaction within PAL was directly proportional to the number of immature germinal centres of type II. The results demonstrated a distinct association between the bursodependent and thymodependent spleen structures reactivity and confirmed the importance of the functional state of the thymus.

Śledziona ptaków wykazuje wyraźne oddzielenie skupisk limfocytów wywodzących się z grasicy lub z torby Fabrycjusza, co powoduje, iż narząd ten stanowi bardzo dobry model przydatny w badaniach mechanizmów odpowiedzi immunologicznej. Limfocyty wywodzące się z grasicy przeważają w obrębie okołotętniczkowej tkanki limfatycznej (PAL). Natomiast centra rozrodcze oraz perielsoidalna tkanka limfatyczna (PEL), są zasiedlone głównie przez limfocyty B (14, 22).

Zasiedlanie limfocytami warunkowane jest funkcją centralnych narządów limfatycznych, stąd też struktury te określa się jako grasiczo- i bursozależne (14, 27). Dotychczas najwięcej uwagi poświęcono centrom rozrodczym, uznawanym za struktury bursozależne śledziony. Centra rozrodcze w śledzionie ptaków, odmiennie niż u ssaków, oddzielone są od

pozostałych struktur miazgi białej otoczką włókien tkanki łącznej. To w nich ma miejsce proliferacja i różnicowanie komórek produkujących immunoglobuliny (Ig) oraz powstawanie limfocytów B pamięci (9, 10, 17).

Ogata i wsp. (19) wykazali, że pojawiające się centra są zróżnicowane pod względem funkcjonalnym. We wcześniejszych badaniach własnych wykazano, że centra rozrodcze śledziony różnią się między sobą również pod względem morfologicznym (13, 24). Na formowanie się i reaktywność zróżnicowanych pod względem morfologicznym dwóch typów centrów rozrodczych odmienny wpływ wywiera funkcja torby Fabrycjusza i grasicy. Usunięcie torby Fabrycjusza w pierwszym dniu życia kurcząt, a następnie podanie antygeny, ograniczało, zależnie od rodzaju antygeny, reaktywność przede wszystkim centrów rozrodczych dojrzałych (13, 24). Neonatalna tymektomia, po której notowano zmniejszoną liczbę głównie niedojrzałych centrów rozrodczych, w przebiegu odpowiedzi na podawane antygeny, takiego wpływu jak bursektomia na reaktywność tych struktur nie posiadała.

Ocena centrów rozrodczych nie sprawia większych trudności, natomiast ocena reaktywności PEL oraz PAL, z uwagi na brak wyraźnej granicy morfologicznej z pozostałymi strukturami śledziony jest utrudniona i stanowiła przedmiot tylko nielicznych badań polegających głównie na określeniu składu cytologicznego (14, cyt. 22). Z drugiej zaś strony uważa się, że u ptaków, podobnie jak u ssaków, struktury te spełniają istotną rolę w przebiegu odpowiedzi immunologicznej, związanej szczególnie z recyrkulacją limfocytów oraz przemieszczaniem i prezentacją antygenów (5, 25, 29).

Dojrzewaniu i aktywacji limfocytów krwi i komórek narządów limfatycznych towarzyszą zmiany aktywności niektórych enzymów stanowiących ich wyposażenie (4, 11, 12, 23). Moriya i Ichikawa (18) wykazali, że oznaczenie aktywności fosfatazy kwaśnej (FK) może być użytecznym wskaźnikiem wzrostu i dojrzałości tkanek limfatycznych u kurcząt. We wcześniejszych badaniach własnych (11, 12, 13, 24) stwierdzono, że w kilka dni po stymulacji antygenowej wzrasta aktywność FK zarówno w limfocytach krwi obwodowej jak również w obrębie struktur miazgi białej śledziony (centra rozrodcze, PEL i PAL). Wyniki tych badań wskazywały na związek pomiędzy aktywnością FK, a stanem funkcjonalnym komórek limfatycznych.

Mając na uwadze wspomniane sugestie i wcześniejsze spostrzeżenia postanowiono prześledzić dynamikę zmian i reaktywność burso- i grasiczozależnych struktur śledziony u kurcząt stymulowanych antygenem grasiczozależnym (SRBC)

oraz sprawdzić czy neonatalna tymektomia dynamikę tę może zmieniać. Jako kryterium dla oceny zmian struktur śledziony, przyjęto liczbę niedojrzałych i dojrzałych centrów rozrodczych (II i I typu) oraz intensywność odczynu na fosfatę kwaśną w obrębie okołotętniczkowej tkanki limfatycznej (PAL), badanych w ustalonych odstępach czasu po stymulacji kurcząt antygenem.

Materiał i metody

Do badań użyto 48 kurcząt, płci żeńskiej, rasy Leghorn. W pierwszych 48 godzinach życia u 24 przeprowadzono chirurgiczną tymektomię. Po ukończeniu przez ptaki 12 tygodni, 18 kurcząt tymektomowanych i 18 nietymektomowanych podano dożylnie 0,5 ml 5% zawiesiny erytrocytów owcy (SRBC) w buforowanym roztworze soli fizjologicznej (PBS). Materiał do badań od ptaków immunizowanych pobierano w 6, 14 i 21 dniu od podania SRBC. Każdorazowo pobierano go od 6 ptaków tymektomowanych i 6 nietymektomowanych, dokonując równocześnie sekcyjnej oceny skuteczności przeprowadzonej tymektomii. Ptaki wykazujące pozostałość grasicy eliminowano z doświadczenia. Od 6 ptaków nietymektomowanych, stanowiących kontrolę i 6 tymektomowanych, którym nie podawano antygeny, materiał do badań pobierano w dniu immunizacji pozostałych kurcząt.

Z pobranych śledzion sporządzono skrawki histologiczne barwione H i E, w których na powierzchni 2,585 mm² liczono centra rozrodcze wszystkich przekrojów. Centra rozrodcze klasyfikowano jako centra dojrzałe I typu lub nowo powstające centra rozrodcze II typu, posługując się kryteriami opisanymi we wcześniejszych pracach (13, 24). Równocześnie metodą precypitacyjną wg Gomoriego, wykonano odczyn na kwaśną fosfatę (FK). Analizy odczynu dokonywano w obrębie okołotętniczkowej tkanki limfatycznej (PAL). Pomiarów intensywności odczynu na FK dokonywano na obszarze od 0,0325 – 0,0345 mm² PAL wg metody punktowej Thomsona (13, cyt. 16, 24). Wyniki przedstawiono jako średnią z 30 pomiarów.

Wyniki i omówienie

Badania histologiczne. W preparatach przeglądowych śledzion pochodzących od kurcząt kontrolnych i doświadczalnych, analizą objęto centra rozrodcze I i II typu oraz okołotętniczkową tkankę limfatyczną (PAL). Obraz analizowanych struktur nie odbiegał w istotny sposób od opisanego w poprzednich pracach (13, 24).

Centra rozrodcze klasyfikowane jako dojrzałe (I typu) przedstawiały struktury występujące w pobliżu średnich naczyń tętniczych. Otoczone były dobrze uformowaną torebką, zbudowaną z sieci włókien łącznotkankowych, które często łączyły się z włóknami przydanki naczyń. W obrębie tych centrów przeważały limfocyty ułożone w oczkach tworzonych przez występujące tu komórki siateczki.

Centra rozrodcze II typu, w odróżnieniu od centrów typu I, występowały w obszarze zawartym między średnimi naczyniami tętniczymi, a tętniczkami pędzelkowatymi. Otaczała je słabo zaznaczająca się sieć włókien łącznotkankowych. Były one omniejsze i u ptaków grupy kontrolnej mniej liczne. Wnętrze takiego centrum zasiedlone było przez komórki siateczki i liczne duże limfocyty skupione głównie w części centralnej.

Skupiska okołotętniczkowej tkanki limfatycznej (PAL), obejmowały duży obszar miazgi białej, skupionej wokół naczyń krwionośnych, określanymi jako tętniczki środkowe. Tętniczki środkowe wykazywały charakterystyczny śródbłonek typowy dla naczyń w narządach limfatycznych. Były to komórki wysokie, często przybierające formę nabłonka kostowego, powo-

dujące zwężenie światła naczynia. Wokół tętnic środkowych występowały liczne komórki siateczki, makrofagi oraz duże limfocyty. W miarę przesuwania się ku obwodowi PAL zmniejszała się liczba makrofagów. Mniej liczne były też duże limfocyty, natomiast dominowały w obrazie limfocyty małe. Strefa obwodowa PAL była zasiedlona przez komórki siateczki, małe limfocyty oraz nieliczne makrofagi.

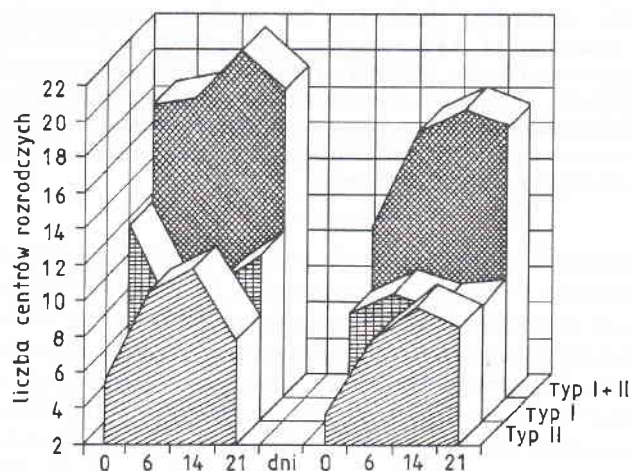
Obraz histologiczny śledzion kurcząt tymektomowanych w zasadzie nie odbiegał od obrazu opisanego dla ptaków grupy kontrolnej.

Równocześnie z oceną morfologiczną poszczególnych struktur śledziony, dokonano analizy liczby centrów rozrodczych wszystkich przekrojów występujących na ustalonej powierzchni skrawków. U kurcząt poddanych tymektomii, obserwuje się spadek liczby wszystkich centrów. Dotyczy on jednak głównie nowo formujących się centrów rozrodczych II typu, a w mniejszym stopniu dojrzałych centrów rozrodczych I typu (tab. 1, ryc. 1).

Immunizacja kurcząt nietymektomowanych erytrocytami owcy (SRBC) spowodowała zmianę liczby omawianych struktur, które badano w poszczególnych dniach po podaniu antygeny. W 6 dniu po immunizacji niewielkiemu wzrostowi całkowitej liczby centrów towarzyszył spadek liczby centrów typu I i

Tab. 1. Centra rozrodcze I i II typu oraz odczyn na FK w obrębie PAL śledziony kurcząt tymektomowanych, immunizowanych erytrocytami owcy ($\bar{x} \pm s$)

Centra rozrodcze	Kurczęta nietymektomowane				Kurczęta tymektomowane			
	dni po podaniu SRBC							
	0	6	14	21	0	6	14	21
Razem	18,21	18,68	21,25	19,1	11,47	16,75	17,96	17,04
I typ	12,85	8,24	9,54	11,29	7,92	9,08	8,32	8,55
	1,18	1,74	1,21	0,72	1,17	0,95	0,87	1,35
II typ	5,36	10,44	11,75	7,81	3,55	7,67	9,64	8,49
	1,43	1,59	1,28	1,12	0,75	1,32	1,25	1,24
PAL – ziarna odczynu na FK	57,39	74,13	80,94	72,45	48,91	58,62	61,27	56,34
	4,52	3,86	4,11	3,58	3,26	3,47	3,88	3,69



Ryc. 1. Liczba centrów rozrodczych w śledzionie kurcząt tymektomowanych, notowana w kolejnych dniach po podaniu antygeny

Objaśnienia: Typ I + II – liczba centrów rozrodczych wszystkich przekrojów na powierzchni 2,585 mm²

Typ I – centra rozrodcze dojrzałe

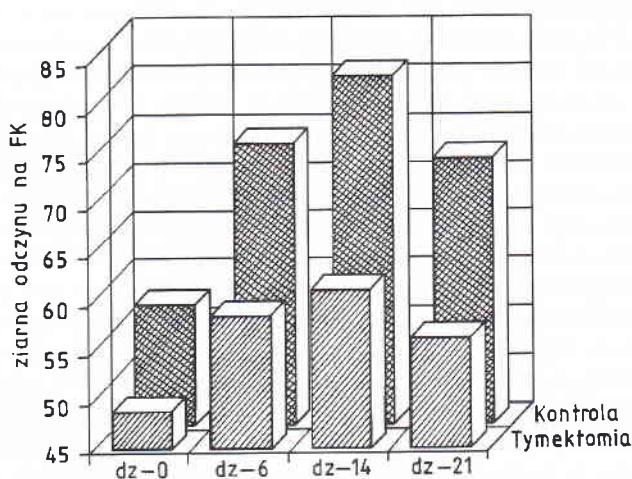
Typ II – centra rozrodcze niedojrzałe

dni – kolejny dzień po podaniu kurczętom SRBC

równoczesny wzrost liczby centrów typu II. Taka tendencja zmian utrzymywała się jeszcze w 14 dniu od podania antygeny. Natomiast po upływie 21 dni od immunizacji liczba wszystkich centrów nieznacznie zmalała przy równoczesnym wzroście liczby centrów typu I i spadku liczby centrów rozrodczych II typu (ryc. 1). Po stymulacji kurcząt tymektomowanych, wystąpił wzrost liczby centrów rozrodczych utrzymujący się do 14 dnia po podaniu antygeny, po czym w 21 dniu widoczny był łagodny spadek.

Odmienne niż u kurcząt nietymektomowanych, stymulacja antygenem kurcząt pozbawionych grasicy, spowodowała tylko nieznaczne wahania liczby centrów rozrodczych typu I. Zmiany zaś ogólnej liczby centrów wynikają przede wszystkim ze wzrostu ilości centrów rozrodczych typu II (tab. 1, ryc. 1).

Badania histoenzymatyczne. W skrawkach histochemicznych śledziony, na obszarze od 0,0325 – 0,0345 mm² PAL, oceniano intensywność odczynu na kwaśną fosfatazę (tab. 1, ryc. 2).



Ryc. 2. Odczyn na fosfatazę kwaśną (FK) w okołotętniczkowej tkance limfaticznej (PAL) śledziony kurcząt tymektomowanych, notowany w kolejnych dniach po podaniu antygeny

Objaśnienia: dz.-0, dz.-6, dz.-14, dz.-21 – kolejny dzień po podaniu kurczętom SRBC

U kurcząt grupy kontrolnej najbardziej intensywny odczyn na FK występuje jako wyraźny pierścień wokół tętniczki środkowej, a więc w skupisku makrofagów, komórek siateczki oraz licznych dużych limfocytów. W miarę przesuwania się ku obwodowi PAL, odczyn na FK słabnie.

U kurcząt, którym usunięto grasicę stwierdzono w obrębie PAL wyraźne osłabienie omawianego odczynu, podczas gdy u ptaków nietymektomowanych a także kurcząt tymektomowanych, które stymulowano antygenem, obserwowano wyraźny, utrzymujący się do 14 dnia po immunizacji, wzrost intensywności odczynu na FK. Nieznaczne osłabienie odczynu nastąpiło dopiero w 21 dniu po immunizacji. Należy podkreślić, że po tymektomii bezwzględne ilości ziaren odczynu na FK są o wiele niższe aniżeli u kurcząt nietymektomowanych, a stymulowanych SRBC (tab. 1, ryc. 2).

U większości gatunków ptaków, nie posiadających węzłów chłonnych, w początkowej fazie odpowiedzi na antygen, istotną rolę odgrywa miazga biała śledziony. Po kontakcie z antygenem, zwłaszcza podanym dożylnie, w obrębie miazgi białej ma miejsce szereg zmian funkcjonalnych i morfologicznych (1, 10, 13, 22, 29). Szczególnie wyraźne zmiany dotyczą centrów rozrodczych, najbardziej zmiennych struktur tego narządu (13, 24, 29). Obecność centrów rozrodczych w śledzionie

stanowi wyraz wcześniejszego kontaktu organizmu ptaka z antygenami środowiskowymi (1, cyt. 22). Wykazano, że formowanie się centrów rozrodczych po podaniu antygeny jest zjawiskiem zależnym od wielu ptaków. Szczytowy okres formowania tych struktur przypada na 4-5 tydzień życia, co jest związane z najwyższą aktywnością biologiczną torby Fabrycjusza (27).

Proces formowania centrów rozrodczych zapoczątkowany skupianiem się limfocytów B w obrębie PAL, wymaga współdziałania limfocytów wywodzących się z grasicy. Współdziałanie limfocytów T i B w obrębie PAL ułatwiające formowanie się centrów rozrodczych traktowane jest jako miernik sprawności kooperacyjnej tych komórek (25, 26, 28). Stwierdzono, że tymektomia znacznie upośledza formowanie się centrów rozrodczych w śledzionie (3, 15).

Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że obecność w śledzionie kurcząt 10-12-tygodniowych, ukształtowanych pod względem morfologicznym centrów rozrodczych jest wynikiem wcześniejszej stymulacji antygenami środowiskowymi.

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują również, że grasicę ma wpływ nie tylko na występowanie centrów rozrodczych ale w istotny sposób zmienia dynamikę formowania się tych struktur w śledzionie kurcząt. Spadek liczby centrów rozrodczych jaki stwierdzono u ptaków, u których w pierwszych dniach życia wykonano chirurgiczną tymektomię, stanowi uwiarygodnienie wyników wcześniejszych badań własnych dotyczących reaktywności tych struktur u ptaków z doświadczalną dysfunkcją centralnych narządów limfaticznych (13).

Interesująco przedstawiają się natomiast różnice w ilości centrów rozrodczych stwierdzone u kurcząt, którym podawano antygen. Okazało się, że u ptaków kontrolnych całkowita ilość centrów rozrodczych wzrasta do 6 dnia po podaniu SRBC. Wzrost ten wynika z wyraźnego zwiększenia się liczby centrów typu II i równoczesnego spadku liczby centrów rozrodczych typu I. W ciągu następnych 14 i 21 dni relacje te uległy wyraźnej zmianie. Ostatecznie w 21 dniu po immunizacji notowane liczby centrów rozrodczych typu I i II są zbliżone do poziomu stwierdzanego u ptaków nieimmunizowanych (ryc. 1). Takie zachowanie się tych struktur w śledzionie kurcząt wydaje się być związane z przebiegiem immunogenezy, w której centra rozrodcze odgrywają istotną, niepośrednią rolę. Centra rozrodcze w narządach limfaticznych stanowią miejsce klonalnej proliferacji i selekcji komórek wytwarzających przeciwciała o dużym powinowactwie (affinity) do antygeny, a w związku z tym stanowią źródło prekursorów komórek plazmatycznych, a przede wszystkim stanowią źródło limfocytów B pamięci. W mniejszym stopniu mają partycypować w bezpośredniej syntezie przeciwciał (cyt. 9, 17). Obserwowana sekwencja zmian liczby centrów rozrodczych I i II typu w śledzionie kurcząt kontrolnych wydaje się być więc logicznym następstwem zachodzących w nich procesów. Przyjmując, że centra rozrodcze II typu, określane jako niedojrzałe, stanowią morfologiczny wyraz struktur nowo powstających; gwałtowny ich wzrost w przebiegu odpowiedzi na antygen tłumaczyłby ich udział w klonalnej proliferacji i selekcji limfocytów o dużym powinowactwie dla antygeny. Struktury te wydają się być prekursorami dojrzałych pod względem morfologicznym centrów rozrodczych typu I. Przemawia za tym wyraźny wzrost liczby centrów typu I jaki stwierdzono pomiędzy 6 a 21 dniem po podaniu SRBC (ryc. 1). Centra rozrodcze I typu jako dojrzałe struktury stanowiłyby w dalszym ciągu rezerwu

limfocytów B pamięci, które po powtórnych kontakcie z antygenem, z pominięciem wcześniej opisanych procesów selekcji przekształcają się w plazmocyty produkujące Ig.

W świetle uzyskanych wyników okazuje się, że wpływ grasicy na formowanie się centrów rozrodczych I i II typu ma charakter złożony, ujawniający się szczególnie u kurcząt tymeptomowanych, które immunizowano za pomocą SRBC. Immunizacja ptaków tymeptomowanych spowodowała, podobnie jak to wykazano u kurcząt nietymeptomowanych, wzrost liczby centrów rozrodczych typu II. Odmienne zachowują się u tych ptaków centra rozrodcze dojrzałe typu I. Stymulacja antygenem kurcząt tymeptomowanych spowodowała bowiem tylko niewielki wzrost liczby centrów rozrodczych I typu, jaki notowano w 6 dniu po immunizacji, po czym do 21 dnia ich ilość utrzymuje się na prawie stałym poziomie (ryc. 1). Odmienne niż u kurcząt nietymeptomowanych dynamika formowania się centrów rozrodczych typu I jest interesująca. Zmniejszona liczba centrów rozrodczych I typu stwierdzona u kurcząt tymeptomowanych sugeruje, że usunięcie grasicy prowadzi do szybszego zaniku tych struktur w śledzionie. Z drugiej zaś strony wykazany wyraźny wzrost po podaniu SRBC liczby centrów rozrodczych typu II i niewielkie zmiany centrów dojrzałych typu I pozwalają sądzić, że obecność i pełna sprawność funkcjonalna grasicy jest niezbędna dla pełnego dojrzewania i przekształcania się centrów typu II w centra I typu.

Mechanizm wspomnianych zmian centrów rozrodczych jest trudny do wyjaśnienia, tym niemniej za taką interpretacją przemawiają wyniki badań cytologicznych. Śledziona kurcząt jako obwodowy narząd limfatyczny kolonizowana jest przez komórki wywodzące się z centralnych narządów limfatycznych (torby Fabrycjusza i grasicy). Kolonizacja śledziona tymocytami rozpoczyna się już w okresie embrionalnym i jest kontynuowana po wykluciu (15). Wykazano, że w grasicy występują trzy różne populacje limfocytów, charakteryzujące się odmiennymi cechami antygenowymi i funkcjonalnymi. Określono je jako limfocyty z antygenami TCR1, TCR2 i TCR3 (T cell receptors) (7). W takiej kolejności zasiedlają one obwodowe tkanki limfatyczne (cyt. 7). Zdaniem Pontes de Carvalho (20) limfocyty T regulatorowe opuszczają grasicę w późniejszym okresie. Tymektomia w dniu wyklucia redukuje obwodową populację komórek regulatorowych lub supresorowych, lecz ma pozostawać bez wpływu na limfocyty efektorowe. Rozmieszczenie tych populacji jest różne w poszczególnych tkankach i narządach (6). Neonatalna tymektomia powoduje drastyczny i długotrwały spadek limfocytów z antygenem TCR1, podczas gdy występowanie limfocytów z antygenami TCR2 i TCR3 nie ulega zmianie (8). Obserwacje te sugerują, że populacja limfocytów z antygenem TCR1, uczestnicząca zdaniem Quere 1990 (21) w regulacji odpowiedzi immunologicznej, wymaga ciągłego zasiedlania ze strony grasicy. Być może obserwowane w omawianym doświadczeniu zmiany w dynamice formowania się centrów typu I wynikają właśnie z braku, po wykonanej tymektomii, dopływu komórek o funkcji regulatorowej.

Przebieg i ostateczny efekt odpowiedzi immunologicznej stanowi wyraz współdziałania wielu komórek. Takiej kooperacji różnych komórek sprzyja właśnie mikrośrodowisko tworzone przez struktury narządów limfatycznych. Wykazano, że okołotętniczkowa tkanka limfatyczna (PAL) będąca skupiskiem głównie komórek wywodzących się z grasicy stanowi środowisko umożliwiające prezentację i wędrówkę antygeny, jak również ma być źródłem komórek inicjujących formowanie

się centrów rozrodczych oraz miejscem tranzytowym dla prekursorów komórek plazmatycznych (5, 29). Główną populację limfocytów T w obrębie PAL stanowią limfocyty z antygenami TCR2 i TCR3. Limfocyty TCR2 przeważają w tej strukturze i dzięki swojemu fenotypowi określanemu jako CD4 odgrywają kluczową rolę jako komórki koordynujące odpowiedź immunologiczną (2).

W przeprowadzonych badaniach nie oznaczano składu cytologicznego PAL, natomiast dla oceny reaktywności tej struktury posłużono się intensywnością odczynu na FK.

Na podstawie przeprowadzonej oceny intensywności odczynu na FK w obrębie PAL można wnosić, że neonatalna tymektomia pociąga za sobą znaczne osłabienie tego odczynu w tej strukturze śledziona (ryc. 2). Trzeba jednak podkreślić, że powiązanie występowania odczynu na FK z poszczególnymi komórkami zasiedlającymi PAL, przy ich różnorodności i przypadkowym rozmieszczeniu jest trudne. Tym niemniej bazując na wcześniejszych obserwacjach z użyciem surowic antytymocytarnych (13) można wnosić, że osłabienie odczynu na FK jakie notowano w obrębie PAL u kurcząt tymeptomowanych dotyczy głównie populacji limfocytów zasiedlających tę strukturę. Komórki limfoidalne w obrębie PAL stanowią bowiem większość (14, 22). Sugestia ta jest istotna po uwzględnieniu poglądu, że odczyn na FK ma być wskaźnikiem stanu funkcjonalnego komórek limfoidalnych (11, 12, 18).

Okazuje się, że zarówno u ptaków tymeptomowanych jak i nietymeptomowanych, stymulacja antygenowa, prowadzi do intensyfikacji odczynu na FK utrzymującej się do 14 dnia po immunizacji. W 21 dniu po podaniu antygeny zarysowuje się jednak tendencja spadkowa (ryc. 2). Pomijając bezwzględne różnice w intensywności odczynu na FK w obrębie PAL jakie stwierdzono u kurcząt tymeptomowanych i nietymeptomowanych, na podkreślenie zasługuje fakt, że obserwowana tendencja zmian w nasileniu tego odczynu pokrywa się ze zmianami w dynamice centrów rozrodczych niedojrzałych typu II (ryc. 1 por. z ryc. 2, tab. 1). Takie zestawienie jest interesujące zwłaszcza po uwzględnieniu sygnalizowanych wcześniej różnic w składzie cytologicznym a także funkcji jakie spełniają centra rozrodcze i PAL w śledzionie. Zbieżność zmian w omawianych strukturach świadczy dobitnie o bezpośrednim i ścisłym związku PAL z reaktywnością centrów rozrodczych. Fakt, że dotyczy to wyłącznie podobieństwa w reaktywności PAL i centrów niedojrzałych II typu, wskazuje na szczególną rolę komórek zasiedlających PAL w początkowym okresie formowania się centrów rozrodczych. Jest to istotne zwłaszcza w odniesieniu do spostrzeżeń mówiących, iż w PAL przeważają limfocyty o fenotypie CTR2 i CTR3, wykazujące głównie cechy komórek pomocniczych (2).

W dostępnym piśmiennictwie nie napotkano prac dotyczących składu cytologicznego PAL u ptaków tymeptomowanych. Można jednak sądzić, że brak oddziaływania lub zaburzenie funkcji grasicy u kurcząt po uzyskaniu dojrzałości ich układu limfatycznego w wyraźny sposób zmienia funkcję limfocytów partycypujących w początkowej fazie odpowiedzi immunologicznej, a do takich zaliczane są limfocyty T pomocnicze zasiedlające PAL.

Wnioski wynikające z przeprowadzonych doświadczeń wydają się mieć znaczenie nie tylko poznawcze. W naturalnych warunkach wiele czynników różnej natury i pochodzenia poprzez wpływ na funkcję grasicy może zmieniać reaktywność komórek i struktur narządów limfatycznych uczestniczących w immunogenezie. Wykazane po tymektomii zmiany w dynamice

struktur grasiczozależnych (PAL) i grasiczniezależnych (centra rozrodcze), zwracają uwagę na rolę śledziony w odporności, a także na mechanizmy mogące pozostawać u podstaw różnych efektów zabiegów profilaktycznych przeprowadzanych w hodowli kurcząt.

Piśmiennictwo

1. Anderson J. C.: J. Pathol. 109, 251, 1973.
2. Arstila T. P., Vainio O., Lassila O.: Poult. Sci. 73, 1019, 1994.
3. Bhogal B. S., Chi D. S., Galton J. E., Bell M. K., Thorbecke G. J.: Cell Immunol. 87, 159, 1984.
4. Błaszczak B., Giełdanowski J.: Arch. Immunol. Ther. Exp. 39, 207, 1991.
5. Brelińska R., Pilgrim C., Reiser J.: Cell Tissue Res. 236, 661, 1984.
6. Bucy R. P., Chen C. H., Cihak J., Losch U., Cooper M. D.: J. Immunol. 141, 2200, 1988.
7. Chen C. H., Kobel T. W. F., Kubota T., Cooper M. D.: Poult. Sci. 73, 1012, 1994.
8. Cihak J., Losch U., Hoffman-Fezer G., Chen C. H., Cooper M. D., Ziegler-Heitbrock: Scand. J. Immunol. 38, 123, 1993.
9. Freedman A. S., Nadler L. M.: Res. Immunol. 142, 232, 1991.
10. Fukuta K., Mochizuki K.: Jpn. J. Vet. Sci. 49, 31, 1987.
11. Graczyk S.: Fol. Histochem. Cytobiol. 22, 85, 1984.
12. Graczyk S.: Folia Histochem. Cytobiol. 24, 45, 1987.
13. Graczyk S.: Zesz. Nauk. AR we Wrocławiu s. rozpr. Nr 123, 1994.
14. Hoffman-Fezer G., Rodt H., Goetze D., Thierfeld S.: Int. Arch. Allergy appl. Immunol. 55, 86, 1977.
15. Kendall M. D.: Develop. Comp. Immunol. 4, 191, 1980.
16. Konwiński M., Szymkowiak W.: Post. Biol. Kom. 2, 1, 1975.
17. Kroese F. G. M., Seijen H. G., Nieuwenhuis P.: Res Immunol. 142, 249, 1991.
18. Moriya O., Ichikawa Y.: Acta Histochem. 87, 99, 1989.
19. Ogata K., Kitagawa H., Kudo N.: Jpn. J. Vet. Sci. 43, 645, 1981.
20. Pontes de Carvalho L. C., Wick G., Roitt I. M.: J. Immunol. 126, 750, 1981.
21. Quere P., Cooper M. D., Thorbecke G. J.: Immunology 71, 517, 1990.
22. Romppanen T., Sorvari T. E.: Int. Arch. Allergy appl. Immunol. 65, 349, 1981.
23. Słomianko-Winnicka M., Kuźna-Grygiel W.: Folia Histochem. Cytob. 18, 303, 1980.
24. Słowik J., Kuryszek J., Graczyk S., Kuprowski M.: Pol. Arch. Vet. 30, 75, 1990.
25. Thorbecke G. J., Palladino M. A., Lerman S. P.: Contemp. Top. Immunobiol. 9, 91, 1980.
26. Toivanen A., Toivanen P.: J. Immunol. 118, 431, 1977.
27. Toivanen P., Toivanen A.: Eur. J. Immunol. 3, 585, 1973.
28. Vainio O.: Scand. J. Immunol. 10, 517, 1979.
29. White R. G., Henderson D. C., Eslami M. B., Nielsen K. H.: Immunology 28, 1, 1975.

Adres autora: dr hab. Stanisław Graczyk, ul. Rogowska 138/35, 54-440 Wrocław

DIONIZY ZIĘBA, JÓZEF DEJNEKA

Zmiany w aktywności mioelektrycznej macicy pod wpływem oksytocyny u owiec nie uczulonych i uczulonych stilboestrem

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

Summary

Changes in the uterus myoelectric activity due to oxytocin in ewes unsensitized and sensitized to stilboestrol

The examinations have been carried out on 6 ewes with implanted bipolar electrodes into horns and corpus of the uterus. Electrical activity was measured by an electroencephalograph Reega Duplex XVI before, during and after intravenous infusion of oxytocin in a dose of 2 iu into ewes unsensitized and sensitized to Stilboestrol-Polfa (0.01 mg/kg b/w, im). In insensitive ewes, an activity potential in myoelectroterograms was absent. However, oxytocin increased the frequency of spikes which persisted for about 25-40 min in ewes at 24 and 48 h after sensitization. The degree of sensitization influenced the sensitivity of myometrium to oxytocin.

Dla celów poznawczych oraz terapeutycznych prowadzone są doświadczenia nad kurczliwością macicy u zwierząt domowych w różnych stanach fizjologicznych bądź patologicznych (1, 3, 5, 7, 14, 16, 18). Oprócz badań klinicznych motoryka macicy u wym. zwierząt określana jest przy użyciu metody mechano- lub elektrograficznej. Z dostępnego piśmiennictwa wynika, że aktywność mioelektryczna macicy badana była u zwierząt domowych w czasie rui (5, 6, 12, 16), ciąży (18), podczas porodu (2, 17, 18), w okresie poporodowym (2), jak też w *anestrus* (10, 11) lub po usunięciu jajników (6, 19).

Wpływ oksytocyny na motorykę macicy uwarunkowany jest poziomem estrogenów. Stężenie ich bowiem w różnych okresach cyklu jajnikowego zmienia koncentrację receptorów oksytocynowych. Matthews i wsp. (11) stwierdzili jednak obecność tych receptorów nawet w fazie *anestrus* u owiec. Autorzy ci wykazali, że koncentracja receptorów oksytocynowych uzależniona jest od poziomu 17 β -estradiolu po jego podaniu. Również Zhang i wsp. (20) wykazali rolę estrogenów i progesteronu w regulacji gęstości receptorów oksytocynowych w macicy u owiec. Autorzy ci potwierdzili wyniki wcześniej uzyskane w badaniach przeprowadzonych przez Roberts'a i wsp. (15), którzy wykazali wpływ estrogenów na wrażliwość macicy na oksytocynę.

Celem pracy było określenie różnic w czułości (reaktywności) mięśniówki macicy na oksytocynę u owiec nie uczulonych i uczulonych stilboestrem w obrazie mioelektroutrougraficznym.

Materiał i metody

Przed przystąpieniem do doświadczeń u 6 macioerek mieszańców międzyrasowych w wieku od 12 do 24 miesięcy i masie ciała 30-48 kg przeprowadzono operację, podczas której podsurowiczówkowo implantowano do rogów i trzonu macicy bipolarne elektrody platynowe (13). Zabieg wykonano w znieczuleniu ogólnym, w grzbietowej pozycji zwierzęcia. Cięcie skóry i powłok brzusznych przeprowadzono w linii białej, od pępka do spojenia łonowego. Następnie po delikatnym podciągnięciu trzonu macicy i rogów implantowano elektrody os-