

Immuno-endokryne mechanizmy obronne macicy w infekcjach bakteryjnych

JAN KUCHARSKI

Oddział Endokrynologii i Patofizjologii Rozrodu Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN,
ul. Tuwima 10, 10-747 Olsztyn

Kucharski J.

Immuno-endocrine uterine defense mechanisms in bacterial infections

Summary

Numerous bacterial species are present in the postpartum uterine cavity. When there are no complications during the labor, except for microorganisms that sporadically colonize the uterus, the bacterial count decreases postpartum. In cows with retained placenta or pyometritis the counts of Gram-negative anaerobic bacteria and *Corynebacterium pyogenes* increase from the third week postpartum, destroying the endometrium. In the peri-estrous period estrogens induce intensive migration of neutrophils to the uterine lumen, intensifying phagocytosis and increasing bactericidal activity of these cells. Such a phenomenon is not observed in the luteal phase of the cycle, when the level of progesterone is high. In pigs the uterus is susceptible to bacterial infections as soon as 12 hours after the tolerance period ends. No such regularity was noted in rats. Estradiol caused hypersecretion of the uterine secretion and a decrease in the leukocyte count. It had no influence on the number of *E. coli* colonies. Progesterone produced opposite effects: its increasing doses administered with estradiol did not affect the number of *E. coli* colonies, but resulted in a higher leukocyte count and lower volume of the uterine secretion. In the period of progesterone domination the uterine secretion changed into pus, which indicates uterus hyper-susceptibility to infections. Neutrophils constitute ca. 80-90% of immune cells isolated from the uterus. Phagocytosis and germ killing with their participation are mediated by specific receptors (e.g. Fc for IgG) or by the so-called non-immunological receptors. After mating or insemination chemotactic properties of spermatozoa cause short-lasting endometritis (48-72 hours). This is a physiological process necessary to clean the uterus from an excess of spermatozoa and semen plasma. The development of endometritis is regulated by spermatozoa and semen proteins. The administration of *E. coli* endotoxin may be an alternative to antibiotics in endometritis treatment. This method may be applied in cows for which natural mating or insemination have been repeatedly ineffective.

Keywords: infection, uterus, endometritis, immune cells, estradiol 17 β , progesterone, semen, *E. coli* endotoxin

Stany zapalne błony śluzowej macicy u zwierząt gospodarskich są z pewnością jedną z głównych przyczyn, które prowadzą do niepłodności. Niepłodność z kolei powoduje znaczne straty ekonomiczne, które przejawiają się w obniżonej mleczności, zmniejszonej liczbie cieląt i eliminowaniu z hodowli zwierząt młodych najczęściej po pierwszej lub drugiej laktacji. Klasyczny sposób diagnozowania i leczenia *endometritis* jest znany od dawna i z powodzeniem stosowany w praktyce przez lekarzy weterynarii specjalistów w zakresie rozrodu zwierząt. Jednak mechanizmy związane z odpowiedzią immunologiczną na infekcje bakteryjne macicy, a także zmiany profili hormonalnych wywołane stanem zapalnym w tym narządzie są w dalszym ciągu mało poznane.

Po porodzie jama macicy jest zasiedlana florą bakteryjną, której skład jest najczęściej uzależniony od miejsca, gdzie odbył się poród. Jak podaje Olson i wsp. (15) u bydła w wydalinach poporodowych i ze śluzu szyjkowo-pochwowego izolowane są bakterie: *Actinomyces pyogenes*, Gram-ujemne bakterie beztlenowe, laseczka zgorzeli gazowej, bakterie podobne do pałeczki

okreźnicy i bakterie, które rzadziej przebywają w jamie macicy (paciorkowce, gronkowce, pasteurelle oraz *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*). Wkrótce po porodzie przy prawidłowej inwolucji macicy i pełnej odpowiedzi ze strony układu immunologicznego macica jest stopniowo uwalniana z drobnoustrojów. Jednak u zwierząt, u których proces inwolucji macicy jest zbyt wolny (np. u krów po ciężkich porodach, zatrzymaniu błon płodowych, stanach atonicznych macicy) i przy jednocześnie upośledzonej odpowiedzi immunologicznej, dochodzi do intensywnego namnożenia się drobnoustrojów, a w konsekwencji do rozwoju *endometritis* lub ropomacicza (15, 17-19).

W niniejszym opracowaniu opisano niektóre immuno-endokryne mechanizmy obronne macicy towarzyszące poporodowym i indukowanym eksperymentalnie infekcjom bakteryjnym. Ponadto przedstawiono stymulujący wpływ nasienia na tworzenie się stanów zapalnych macicy oraz opisano alternatywną w stosunku do antybiotyków metodę leczenia *endometritis* przy użyciu endotoksyny *Escherichia coli* (lipopolysaccharide – LPS).

Flora bakteryjna macicy po porodach normalnych i ze zmianami patologicznymi

Wkrótce po porodzie i przez kolejne 3-4 tygodnie okresu poporodowego wiele gatunków bakterii jest obecnych w wydzielinach poporodowych, w śluzie szyjkowo-pochwowym i *endometrium* (1, 6, 9, 15, 17, 18, 20). U krów, u których porody przebiegają bez powikłań, już pod koniec 4. tygodnia po porodzie liczba izolowanych bakterii w śluzie szyjkowo-pochwowym znacznie się zmniejsza, z wyjątkiem drobnoustrojów, które do macicy dostały się przypadkowo (np. paciorkowce, gronkowce, pasterelle i in.). Natomiast u krów z zatrzymaniem błon płodowych, a w konsekwencji z rozwijającym się *endometritis* lub ropomaciczem liczba Gram-ujemnych bakterii beztlenowych i promienowca ropnego już od 3. tygodnia po porodzie stopniowo wzrasta (15).

Wystąpienie pierwszej owulacji po porodzie u krów przypada na okres intensywnego namnażania się wymienionych bakterii, które działają synergistycznie i tworzą wydzielinę ropną, która w dużych ilościach jest gromadzona w jamie macicy. *Endometrium* wprawdzie produkuje wystarczającą ilość prostaglandyny $F_2\alpha$ do spowodowania skurczów mięśniówki macicy i wydalenia ropnej zawartości, jednak do takiej reakcji często nie dochodzi, a nagromadzona ropa wypełnia jamę macicy. Z czasem jednak Gram-ujemne bakterie beztlenowe są stopniowo eliminowane z macicy. Wynikiem działania tych drobnoustrojów jest uszkodzone *endometrium*, które jest dalej niszczone przez maczugowca ropnego. Pomimo to niektóre krowy własnymi siłami pokonują infekcję maczugowca ropnego i usuwają ropną zawartość z macicy. Jednak większość krów wymaga intensywnego i najczęściej długotrwałego leczenia. Po wyleczeniu tylko niewielki odsetek krów zachodzi w ciążę, ponieważ *endometrium* zniszczone przez Gram-ujemne bakterie beztlenowe i maczugowca ropnego nie stwarza dogodnych warunków dla rozwoju płodu (15).

Odporność macicy na infekcje bakteryjne w okresie dominacji estrogenów i progesteronu

Od czasu kiedy inseminacja u świń stała się powszechna, liczba przypadków *endometritis* znacznie wzrosła, zwłaszcza w stadach o dużej populacji tych zwierząt (4-7). Przyczyną tego zjawiska jest niedostateczna kontrola rui i krycie loch zbyt późno, już po zakończonym okresie tolerancji. Jak podaje De Winter i wsp. (4-7), w okresie okolorujowym estrogeny (E) powodują intensywną migrację neutrofilów do *endometrium* i do światła macicy, podwyższoną fagocytozę i pobudzają aktywność bójczą tych komórek. Efekty te są wynikiem podwyższonej perfuzji macicy i zwiększonej przepuszczalności tkanek. W ten sposób neutrofile szybko i łatwo docierają do *endometrium* i światła macicy. Podczas fazy lutealnej cyklu rujowego, gdy poziom progesteronu (P_4) we krwi jest wysoki, takich efektów De Winter i wsp. (6, 7) nie obserwowali. Okazało się, że już 12 godzin po zakończonym okresie tolerancji, we wczesnym *metaestrus*, macica świni jest wrażli-

wa na zakażenia bakteryjne. Domaciczne infuzje *E. coli* spowodowały zapalenie błony śluzowej macicy, czego konsekwencją były obserwowane śluzowo-ropne wycieki z pochwy. Infuzje *E. coli* w okresie rui, podczas dominacji E i niskiego poziomu P_4 takich efektów nie wywołały (6, 7). Na podstawie badań przeprowadzonych przez De Wintera i wsp. (4-7) można stwierdzić, że istnieje wyraźna korelacja pomiędzy stężeniem P_4 we krwi a wrażliwością macicy na infekcje bakteryjne. Można zatem przyjąć, że P_4 może być dobrym wskaźnikiem terminowości unasienniania świni (18).

W badaniach przeprowadzonych na kastrowanych szczurach Nishikawa i Baba (14) przedstawiają nieco odmienny model działania E i P_4 na liczbę reizolowanych z macicy pałeczek *E. coli*, liczbę leukocytów i objętość produkowanej wydzieliny macicznej. Z szeregu przeprowadzonych eksperymentów w tej pracy wynika, że estradiol-17 β (E_2) podawany w dawce 0,1 μ g rozpuszczony w 0,1 ml oleju kukurydzianego lub we wzrastających dawkach od 0 do 1,0 μ g nie miał wpływu na liczbę reizolowanych z macicy pałeczek *E. coli*, natomiast wywarł istotny wpływ na liczbę leukocytów i objętość produkowanej wydzieliny macicznej. Liczba leukocytów pod wpływem działania E_2 wyraźnie zmniejszała się, a objętość wydzieliny macicznej wzrastała. E_2 podawany razem z P_4 utracił swój dominujący wpływ na badane parametry, zwiększała się wówczas liczba leukocytów, a objętość wydzieliny macicznej malała (14). Odwrotne efekty w stosunku do działania E_2 spowodował P_4 . Wzrastające dawki tego hormonu od 0,125 do 2,0 mg podawane razem z 0,1 μ g E_2 nie miały wpływu na liczbę reizolowanych pałeczek *E. coli*, natomiast progresywnie zwiększała się ilość leukocytów i zmniejszała się objętość wydzieliny macicznej (14).

W okresie dominacji P_4 w miarę podawania coraz wyższych dawek hormonu, wydzielina maciczna stopniowo zmieniała się w ropę. Zmniejszona odporność macicy na infekcje bakteryjne w okresie wysokiego stężenia P_4 jest podnoszona przez wielu autorów (3-8, 12, 13, 17, 18, 21) i nie wymaga szerszego komentarza. Natomiast brak reakcji prozapalnej w macicy po zastosowaniu estradiolu przy jednocześnie obniżonej liczbie leukocytów izolowanych z tego narządu, jest trudny do wyjaśnienia. Być może, że taka odpowiedź po podaniu E_2 jest charakterystyczna tylko dla szczurów.

W badaniach przeprowadzonych na myszach Tibbetts i wsp. (23, 24) wykazali, że P_4 przez swój receptor zlokalizowany w *endometrium* (nabłonek powierzchniowy) blokuje prozapalną aktywność E w macicy. W celu wyjaśnienia tej hipotezy kastrowane myszy podzielono na dwie grupy (myszy zdrowe i z zablokowanymi receptorami progesteronowymi – ang.: knockout) otrzymały: placebo, E_2 i E_2 z P_4 . Podany estrogen spowodował intensywny naciek neutrofilów i makrofagów do *endometrium* oraz obrzęk tkanek i rozrost komórek nabłonka macicy. Liczba limfocytów B pod wpływem działania E_2 wzrosła tylko nieznacznie. W grupie, w której był zastosowany E_2 razem z P_4 , liczba neutrofilów i makrofagów w macicy była istotnie niższa od tej, jaką stwierdzono po podaniu samego estradiolu. W grupie

myszy, u których zablokowano receptor progesteronowy, takich zmian nie wykazano. Liczba neutrofilów, makrofagów i komórek B była taka sama lub zbliżona, jak po zastosowaniu E_2 (24).

Przeprowadzone badania wskazują, że P_4 przez swój receptor zlokalizowany w macicy blokuje prozapalne działanie E_2 w tym narządzie. W okresie dominacji estrogenów receptory progesteronowe są głównie zlokalizowane w nabłonku powierzchniowym. Jednak w końcowej fazie aktywności tych hormonów ekspresja receptorów progesteronowych w nabłonku powierzchniowym ulega stopniowo wygaszeniu i jest przesuwana w górę, tzn. w kierunku zrębu macicy (komórki podścieliska). W ten sposób zmieniona lokalizacja receptorów progesteronowych może być przynajmniej w części wyjaśnieniem dla zróżnicowanych efektów działania P_4 na liczbę neutrofilów, makrofagów i komórek B w macicy (23, 24).

Udział komórek układu immunologicznego w mechanizmach obronnych macicy

W środowisku macicy można wyróżnić szereg komórek aktywnych immunologicznie (2, 3, 6-9, 11-13, 21, 22, 25, 28). Niektóre z nich są stałymi mieszkańcami *endometrium* (np. makrofagi, mastocyty), inne w warunkach fizjologicznych występują w niewielkiej ilości (limfocyty T i B, granulocyty). Jednak pod wpływem infekcji bakteryjnej lub wirusowej liczba tych komórek, szczególnie granulocytów wielojądrowych (polymorphonuclear neutrophil leucocytes – PMNL_s), istotnie wzrasta. Neutrofile w *endometrium* stanowią od 80 do 90% komórek immunologicznie kompetentnych, biorących udział w mechanizmach obronnych macicy (12, 13, 21).

W badaniach przeprowadzonych na krowach, Subandrio i wsp. (21) usiłowali obronić trafność hipotezy mówiącej, że istnieje istotna różnica w aktywności fagocytarnej i bójczej pomiędzy neutrofilami pochodzenia macicznego i izolowanymi z krwi obwodowej. Badania krów przeprowadzono w okresie rui, w 10. dniu cyklu, po kastracji oraz po podaniu kastrowanym krowom E_2 lub P_4 . Zwierzęta podzielono na dwie grupy: grupa I w wymienionych okresach badań w infuzjach domacicznych otrzymała glikogen (oyster glycogen – OG) i przesącz bakteryjny z hodowli *Actinomyces pyogenes* (bacteria-free filtrate – BFF), grupa II w tych samych okresach otrzymywała BFF i OG. Jednak OG był infundowany tylko u krów kastrowanych i kastrowanych po podaniu E_2 lub P_4 . Neutrofile były izolowane przez wyplukanie światła macicy 15-18 godz. później. Próby krwi obwodowej były pobierane w czasie przepłukiwania macicy w celu określenia stężenia E_2 , P_4 i liczby białych krwinek ze szczególnym uwzględnieniem neutrofilów. Zdolności fagocytarne i bójcze neutrofilów były ocenione przy pomocy testów: migracji, aktywności fagocytarnej i procentu zabitych drożdżaków w odniesieniu do znakowanego szczepu *Candida albicans*. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy liczbą krwinek białych w krwi obwodowej a badanymi okresami (ruja, 10. dzień cyklu, kastracja, kastracja + E_2 ,

kastracja + P_4). Jednak liczba neutrofilów była istotnie zróżnicowana pomiędzy wymienionymi okresami badań i pomiędzy poszczególnymi krowami. W grupie I wykazano nieistotne różnice w działaniu obwodowych i macicznych neutrofilów. Stwierdzone różnice w zasięgu migracji, zdolności fagocytarnej i bójczej neutrofilów dotyczyły przede wszystkim badanych okresów i poszczególnych krów.

W grupie II izolowane neutrofile po domacicznej infuzji BFF w badanych testach miały słabsze działanie niż te po wlewach OG. W tej grupie stwierdzono istotne statystycznie różnice pomiędzy badanymi okresami (ruja, 10. dzień cyklu, kastracja, kastracja + E_2 i kastracja + P_4), a także pośród poszczególnych zwierząt (21). Przeprowadzone badania nie potwierdziły hipotezy o wpływie stanu fizjologicznego narządu rodowego na oporność macicy na infekcje bakteryjne związane z różnicami w aktywności neutrofilów w krwi obwodowej i izolowanymi ze światła macicy. Natomiast wykazano istotne różnice w aktywności neutrofilów pomiędzy stanami fizjologicznymi narządu rodowego (okresy badań).

W podobnych badaniach przeprowadzonych również na krowach Kluciński i wsp. (12, 13) określali aktywność neutrofilów izolowanych ze zdrowej macicy 2 dni po owulacji i porównywali tę aktywność z aktywnością neutrofilów izolowanych z macicy, w której wcześniej indukowano specyficzną lub niespecyficzną reakcję zapalną. Badania były przeprowadzone na 20 krowach pomiędzy 2. a 8. dniem po owulacji. Aktywność neutrofilów była określana na podstawie procentowej zawartości komórek z receptorami F_c dla IgG na ich powierzchni oraz aktywności fagocytarnej i bójczej. Obecność receptorów F_c na powierzchni neutrofilów była określana przy użyciu testu rozetkowego. Aktywność fagocytarna i bójcza PMNL_s była oceniona w odniesieniu do dwóch szczepów: *Staphylococcus aureus* Smith i *Staphylococcus aureus* 305. Bakterie szczepu *S. aureus* Smith po opsonizacji były fagocytowane za pośrednictwem receptorów F_c . Natomiast bakterie szczepu *S. aureus* 305 takiego przygotowania nie wymagały i były fagocytowane przy pomocy tzw. receptorów „nieimmunologicznych”.

Przeprowadzone badania wykazały, że indukowany eksperymentalnie proces zapalny w macicy spowodował intensywną migrację dużej liczby PMNL_s do *endometrium*. Neutrofile te w porównaniu z kontrolnymi (macicznymi) miały zmienione właściwości, stwierdzono bowiem niższy odsetek komórek z receptorami F_c i niższą, związaną z tym aktywność fagocytarną i bójczą. Jednak wzrost aktywności fagocytarnej za pośrednictwem tzw. nieimmunologicznych receptorów w pełni zrekompensował ten niedobór (13).

Zmiany zapalne w macicy – interakcja pomiędzy nasieniem a endometrium

Chemotaktyczne właściwości plemników powodują przejściowe, od 48 do 72 godz., zapalenie macicy po kryciu naturalnym lub inseminacji (1, 25-29). Jest to proces fizjologiczny, niezbędny do oczyszczenia maci-

cy z nadmiaru plemników i plazmy nasienia. Rozwój zapalenia jest odpowiednio regulowany przez plemniki i specyficzne białka nasienia, oba te czynniki odgrywają aktywną, ale różną rolę w regulacji indukowanego kryciem *endometritis*.

Troedsson i wsp. (26-28) uważają, że bakterie lub nasienie obecne w świetle macicy powodują masywny naciek neutrofilii do tego narządu. Neutrofile fagocytują zarówno bakterie, jak i plemniki, a stan zapalny macicy powoduje zwiększone uwalnianie prostaglandyny $F_2\alpha$. Prostaglandyna $F_2\alpha$ wywiera silny wpływ na skurcze macicy, które są wystarczające do oczyszczenia *endometrium* drogą przez szyjkę maciczną lub poprzez naczynia limfatyczne. Większość klaczy efektywnie oczyszcza macicę przed zejściem zarodka z jajowodu do światła macicy. Klacze podatne na przewlekłe *endometritis* mają osłabioną kurczliwość mięśniówki macicy. Sam proces oczyszczania macicy u takich zwierząt jest zbyt wolny lub niewystarczający i prowadzi do rozwoju stanu zapalnego przewlekłego, a ten z kolei uniemożliwia skuteczne krycie. Indukowane sperma zapalenie macicy, obok poporodowych infekcji bakteryjnych, może być jedną z przyczyn niepłodności u klaczy (16, 26-29)

Wykorzystanie toksyn bakteryjnych w leczeniu stanów zapalnych macicy

Antybiotyki są zwykle używane do walki z bakteryjnymi infekcjami macicy. Jednak leki z udziałem antybiotyków mają szereg wad, do których można zaliczyć: straty w mleku, wysokie koszty stosowanych preparatów, pojawienie się bakterii opornych na leczenie i obniżenie aktywności mechanizmów obronnych macicy. Alternatywną metodą w leczeniu *endometritis* może być domaciczne podawanie LPS jako wewnątrzmacicznego stymulatora mechanizmów obronnych. Singh i wsp. (22), a także Saini (18) oraz Saini i wsp. (19) do leczenia trudnych przypadków *endometritis* u krów użyli LPS. W grupie doświadczalnej w dniu rui 100 μ g LPS rozcieńczonego w 30 ml sterylnego PBS infundowano do światła macicy. W grupie kontrolnej wprowadzono tylko PBS. Sześć godzin po podaniu LPS w popłuczynach macicznych stwierdzono 100-krotnie wyższą liczbę leukocytów, z czego 80% stanowiły neutrofile, a ich żywotność przekraczała 60%. Indeks fagocytarny wynosił 5 bakterii na neutrofil. Taka odpowiedź komórkowa po podaniu LPS utrzymywała się przez 72 godz. W kolejnej rui śluz szyjkowo-pochwowy był wolny od bakterii u 9 z 12 leczonych krów, a 9 krów zacieliło się (75%). W grupie kontrolnej bakterie były obecne w śluzie pochwowo-szyjkowym u wszystkich krów zarówno przed, jak i po podaniu PBS. W tej grupie tylko u jednej krowy stwierdzono ciążę (8,33%). Podsumowując można stwierdzić, że domaciczna infuzja LPS u krów z *endometritis* wydatnie stymulowała mechanizmy obronne macicy i w okresie jednego cyklu rujowego przyczyniła się do skutecznej likwidacji trudnego do wyleczenia antybiotykami stanu zapalnego, czego dowodem był wysoki procent krów cielnych (22).

Piśmiennictwo

- Adams G. P., Kastelic J. P., Bergfelt D. R., Ginther O. J.: Effect of uterine inflammation and ultrasonically-detected uterine pathology on fertility in the mare. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 1987, 35, 445-454.
- Dechaud H., Maudelonde T., Dares J. P., Rossi J. F., Hedon B.: Evaluation of endometrial inflammation by quantification of macrophages, T lymphocytes, and interleukin-1 and -6 in human endometrium. *J. Assist. Reprod. Genet.* 1998, 15, 612-618.
- De M., Wood G.: Influence of estrogen and progesterone on macrophage distribution in the mouse uterus. *J. Endocrinol.* 1990, 126, 417-424.
- De Winter P. J. J., Verdonck M., de Kruif A., Devriese L. A., Haesebrouck F.: Endometritis and vaginal discharge in the sow. *Anim. Reprod. Sci.* 1992, 28, 51-58.
- De Winter P. J. J., Verdonck M., de Kruif A., Devriese L. A., Haesebrouck F.: Influence of the estrous cycle on experimental intrauterine *E. coli* infection in the sow. *J. Vet. Med. A.* 1994, 41, 640-644.
- De Winter P. J. J., Verdonck M., de Kruif A., Devriese L. A., Haesebrouck F.: Bacterial endometritis and vaginal discharge in the sow: prevalence of different bacterial species and experimental reproduction of the syndrome. *Anim. Reprod. Sci.* 1995, 37, 325-335.
- De Winter P. J. J., Verdonck M., de Kruif A., Coryn M., Dehuyker H. A., Devriese L. A., Haesebrouck F.: The relationship between the blood progesterone concentration at early metoestrus and uterine infection in the sow. *Anim. Reprod. Sci.* 1996, 41, 51-59.
- Hunt J. S., Miller L., Platt J. S.: Hormonal regulation of uterine macrophages. *Dev. Immunol.* 1998, 6, 105-110.
- Hussain A. M.: Bovine uterine defense mechanisms: a review. *J. Vet. Med. Ser. B.* 1989, 36, 641-651.
- Hussain A. M., Daniel R. C. W.: Effects of intrauterine infusion of *Escherichia coli* in normal cows and in cows with endometritis induced by experimental infection with *Streptococcus agalactiae*. *Theriogenology* 1992, 37, 798-810.
- Kauschic C., Frauendorf E., Rossoll R., Richardson J., Wira C.: Influence of the estrogen cycle on the presence and distribution of immune cells in the rat reproductive tract. *Am. J. Reprod. Immunol.* 1998, 39, 209-216.
- Klucinski W., Targowski S., Winnicka A., Miernik-Degórska E.: Immunological induction of endometritis-model investigations in cows. *J. Vet. Med. A.* 1989, 37, 148-153.
- Klucinski W., Targowski S. P., Miernik-Degórska E., Winnicka A.: The phagocytic activity of polymorphonuclear leucocytes isolated from normal uterus and that with experimentally induced inflammation in cows. *J. Vet. Med. A.* 1990, 37, 506-512.
- Nishikawa Y., Baba T.: Effects of ovarian hormones on manifestation of purulent endometritis in the rat uterus infected with *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 1985, 47, 311-317.
- Olson J. D., Ball L., Mortimer R. G., Furin P. W., Adney W. S., Huffman E. M.: Aspects of bacteriology and endocrinology of cows with pyometra and retained fetal membranes. *Am. J. Vet. Res.* 1984, 45, 2251-2255.
- Pycock J. F., Allen W. E.: Inflammatory components in uterine fluid from mares with experimentally induced bacterial endometritis. *Equine vet. J.* 1990, 22, 422-425.
- Ramadan A., Johnson G. I., Lewis D.: Regulation of the uterine immune function during the estrous cycle and in response to infection bacteria in sheep. *J. Anim. Reprod. Sci.* 1997, 75, 1621-1632.
- Saini P. S.: Studies on etiopathology and modified therapy of bovine endometritis. M. V. Sc. Thesis, Punjab Agriculture University, Ludhiana 1993.
- Saini P. S., Grewal A. S., Arora A. K.: Intrauterine immunotherapy with immunomodulator tipopolysaccharide (LPS) for bacterial endometritis associated clinical cases of repeat breeders in dairy cattle. *Bull. Fr.-Jpn. Sci. Vet.* 1995, 6, 128-134.
- Shallali A. A., Homeida A. M., Daffalla E. A.: Effects of intrauterine infection by *Staphylococcus aureus* and *Mycoplasma capricolum* on the fertility of Nubian goats. *Reprod. Nutr. Develop.* 1987, 27, 999-1003.
- Subandrio A. L., Sheldon I. M., Noakes D. E.: Peripheral and intrauterine neutrophil function in the cow: the influence of endogenous and exogenous sex steroid hormones. *Theriogenology* 2000, 53, 1591-1608.
- Singh J., Sidhu S. S., Dhaliwal G. S., Pangaonkar G. R., Nanda A. S., Grewal A. S.: Effectiveness of lipopolysaccharide as an intrauterine immunomodulator in curing bacterial endometritis in repeat breeding cross-bred cows. *Anim. Reprod. Sci.* 2000, 59, 159-166.
- Tibbets T. A., Mendoza-Meneses M., O'Malley B., Conneely O.: Mutual and intercompartment regulation of estrogen receptor and progesterone receptor expression in the mouse uterus. *Biol. Reprod.* 1998, 59, 1143-1152.
- Tibbets T. A., Conneely O. M., O'Malley B. W.: Progesterone via its receptor antagonizes the pro-inflammatory activity of estrogen in the mouse uterus. *Biol. Reprod.* 1999, 60, 1158-1165.
- Tremellen K., Seamark R., Robertson S.: Seminal transforming growth factor beta 1 stimulates granulocyte-macrophage colony-stimulating factor production and inflammatory cells recruitment in the murine uterus. *Biol. Reprod.* 1998, 58, 1217-1225.
- Troedsson M. H. T., Franklin R. K., Crabo B. G.: Suppression of PMNL χ -chemotaxis by different molecular weight fractions of seminal plasma. *Pferdeheilkunde* 1999, 15, 568-573.
- Troedsson M. H. T., Lee C. S., Franklin R. K., Crabo B. G.: Post-breeding uterine inflammation: the role of semen plasma. *J. Reprod. Fert.* 2000, 56, Suppl. 341-349.
- Troedsson M. H., Loset K., Alghamdi A. M., Dahms B., Crabo B. G.: Interaction between equine semen and the endometrium: the inflammatory response to semen. *Anim. Reprod. Sci.* 2001, 68, 273-278.
- Zajac S., Karkiewicz M., Boryczko Z.: Mechanizmy odporności macicy klaczy. *Medycyna Wet.* 2000, 56, 490-494.