

Ocena gruczołu sutkowego w okresie involucji u loch zasuszanych metodą tradycyjną i zmodyfikowaną*)

ANNA REKIEL, WOJCIECH BIELECKI**

Katedra Szczegółowej Hodowli Zwierząt Wydziału Nauk o Zwierzętach SGGW, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa,
**Katedra Nauk Klinicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW, ul. Nowoursynowska 159C, 02-787 Warszawa

Rekiel A., Bielecki W.

Evaluating mammary glands of sows dried-off using traditional and modified techniques during the involution period

Summary

The study was conducted on sows which had been dried-off using either traditional techniques (restricted feeding during pre-post weaning period: control group C) or a modified technique (intensive feeding of sows before and after weaning: experimental group E) following the 6-week period of lactation. After rearing 3 or 6 litters, 16 sows (8 each per C and E group) were slaughtered, and their mammary glands were examined post-mortem. The level of feed given to the sows during the weaning period (drying off technique) influenced the drying-off grade of the mammary glands during the involution period. The drying-off technique had no effect on the histological picture of the mammary glands post-mortem. A higher frequency of changes as well as intensity were observed in the mammary glands of sows utilized longer – 6 as compared to 3 reproductive cycles.

Keywords: sows, drying-off technique, mammary gland, histology

Jednym ze sposobów zakończenia laktacji i przyspieszenia involucji gruczołu sutkowego jest stosowanie wysokiego poziomu żywienia loch po odsadzeniu prosiąt. Wzrost ciśnienia wewnątrz pęcherzyków, a w konsekwencji zmniejszenie przepływu krwi przez gruczoł hamuje syntezę, filtrację i sekrecję mleka. Zalegające w gruczole mleko, powodując wzrost ciśnienia w komórkach nabłonka pęcherzyków wydzielniczych, wyzwała reakcję apoptotyczną (2, 4, 5, 7, 8, 14). W indukcji apoptozy (*apoptosis*) biorą udział: czynnik wzrostowy TGF- β_1 (transforming growth factor) – miejscowy induktor i TGF- β – receptor, w regulacji: Bax (Bcl-2-associated x-protein) (promotor) i Bcl-2 (B cell leukemia/lymphoma) (inhibitor), a w egzekucji: CPP-32 (cysteine protease protein) (kaspaza-3) (14). Jednocześnie następuje spadek wydzielania hormonów (prolaktyny, hormonu wzrostu, estradiolu i progesteronu), co stanowi podstawową przyczynę zasuszenia gruczołu (12, 13). Spadek wydzielania prolaktyny, GH (growth hormone) i IGF-1 (insulin like growth factor-1) po odsadzeniu potomstwa prowadzi do wyzwolenia ekspresji działających auto/parakrynnie lokalnych peptydów wydzielanych przez na-

blonek do zatrzymanego w gruczole mleka, które mając zdolność zwrotnego oddziaływania na komórki, odgrywają ważną rolę w procesie involucji (4, 5, 14).

Celem badań było określenie stanu gruczołu mlekowego loch wieloródek zasuszanych techniką tradycyjną (żywienie ograniczone w okresie okołodsadzeniowym) lub zmodyfikowaną (żywienie intensywne przed, w dniu i po odsadzeniu prosiąt) po zakończonej 6-tygodniowej laktacji i odchowaniu 3 lub 6 miotów.

Materiał i metody

Zwierzęta. Badaniami objęto lochy wieloródkki, mieszańce ras polska biała zwiśloucha \times wielka biała polska, karmiące prosiętą przez 6 tygodni. Zwierzęta utrzymywano indywidualnie, w jednakowych, nie odbiegających od norm warunkach zoohigienicznych (11).

Żywienie, technika zasuszania loch w okresie odsadzenia. W czasie ciąży, w okresie okołoporodowym i w pełnej laktacji oraz w okresie oczekiwania na ruję zwierzęta żywiono indywidualnie mieszankami pełnodawkowymi typu „locha prośna” – LP (w 1 kilogramie 13,34 MJ EM, 145,6 g białka ogólnego i 6,3 g lizyny) lub „locha karmiąca” – LK (w 1 kg 13,98 MJ EM, 165 g białka ogólnego i 7,8 g lizyny). Poziom żywienia loch ciężarnych w grupie kontrolnej i doświadczalnej był taki sam. Lochy karmiące

* Praca finansowana z projektu 5P06E 052 14 i DS.

Tab. 1. Stopień zasuszenia gruczołu sutkowego loch w okresie inwolucji po odchowaniu 3. lub 6. miotu

Materiał badawczy	Ocena gruczołów po odchowaniu						
	3. miotu		6. miotu		3. i 6. miotu razem		miotów ogółem
	K	D	K	D	K	D	
Liczba badanych loch, szt.	4	4	4	4	8	8	16
Średnia liczba gruczołów sutkowych u loch, szt.	7/7,25	7/7,25	7/7,50	7,25/7,25	7/7,38	7,13/7,25	7,06/7,19
Lochy o czynnym gruczole sutkowym, szt.*		1	1	3	1	4	5
Lochy o zasuszającym się gruczole sutkowym, szt.**				1		1	1
Lochy o zasuszonym gruczole sutkowym, szt.***	4	3	3		7	3	10
Zmiany zewnętrzne i uszkodzenia gruczołu	-	+	+	-	+	+	+

Objaśnienia: *lochy o intensywnej czynności gruczołu (obfity wypływ mleka); **lochy o słabej czynności gruczołu (punktowe wydzielanie mleka); ***lochy o gruczole nieczynnym (brak mleka w gruczole); (+) obecne; (-) brak; z – zmiany zewnętrzne wystąpiły łącznie u 4 loch objętych oceną *post mortem*

żywno w sposób ujednolicony, odpowiadający liczbie karmionych prosiąt w miocie (1). Żywnienie loch przed odsadzeniem, w czasie odsadzenia i po odsadzeniu było w grupach zróżnicowane, w grupie K przed odsadzeniem ograniczone – tradycyjne. Na dwa dni przed odsadzeniem prosiąt lochom kontrolnym zadawano pół dawki paszy laktacyjnej, na dzień przed odsadzeniem pół dawki paszy z dnia poprzedniego, w dniu odsadzenia stosowano głodówkę. Po odsadzeniu, tj. 1., 2. i 3. dnia lochom podawano odpowiednio: 1, 2, 3 kg mieszanki LK, w kolejnych dniach po 3 kg mieszanki na sztukę/dzień, aż do dnia wystąpienia rui i krycia. W grupie D lochy żywiono w sposób zmodyfikowany, przed odsadzeniem poziom żywienia był taki, jak w okresie pełnej laktacji – wysoki, odpowiadał liczbie karmionych prosiąt (1). Wysoki poziom żywienia z okresu laktacji utrzymano również w dniu odsadzenia i w kolejnych dniach po odsadzeniu, aż do dnia wystąpienia rui, ale nie dłużej niż do 10. dnia po odsadzeniu prosiąt. Przy braku rui lochom od 11. dnia po odsadzeniu prosiąt zmniejszano dawkę paszy do 3 kg/szt./dzień. Wystąpienie rui i krycie wiązało się ze zmianą paszy (z LK na LP) i zmniejszeniem dawki do 2,3 kg/szt. dziennie.

Patomorfologiczne badania gruczołu sutkowego.

W celu przeprowadzenia poubojowej oceny gruczołu sutkowego po odchowaniu i odsadzeniu 3 lub 6 miotów ubito 16 loch. Ubój przeprowadzono w okresie inwolucji gruczołu, tj. 6. dnia po odsadzeniu miotu, w drugim dniu rui. Wybrano po 8 loch z grupy K i D, w tym po cztery sztuki, które odchowaly miot 3. lub 6. Ubój przeprowadzono zgodnie z obowiązującymi procedurami. Od każdej lochy do oceny histomorfologicznej pobrano *post mortem*, a następnie utrwalono w 4% zbuforowanym roztworze formaliny wycinki gruczołów sutkowych obejmujące brodawkę sutkową, zatokę mleczną i tkankę gruczołową. Wycinki do oceny pobrano z gruczołów sutkowych 2., 3., 4. lub 5. położonych po stronie lewej i prawej. Utrwalone wycinki zatopiono w parafinie i pocięto na mikrotomie na seryjne skrawki grubości 4 µm. Skrawki wybarwiono metodą przeglądową hematoksylina-eozyna (H-E) oraz metodą paS-Alejan w celu wykrycia mukopolisacharydów zasadowych i kwaśnych. Skrawki mrożone barwiono Sudanem III na obecność tłuszczów.

Wyniki i omówienie

Wyniki makroskopowej oceny gruczołów sutkowych przedstawiono w tab. 1.

W obrębie gruczołów sutkowych loch D, które odchowaly 3 mioty stwierdzono zmiany o różnym charakterze i nasileniu, m.in. uszkodzenie u podstawy brodawki sutkowej gruczołu czynnego, stan zapalny przewodu wyprowadzającego z zatoki mlecznej w gruczole zasuszonym, nadżerkę na skórze czynnego gruczołu, wylewy krwawe u podstawy brodawki sutkowej w gruczole zasuszonym (tab. 1). Persson i wsp. (6) stwierdzali takie zmiany u loch w kolejnych laktacjach, ich liczba stopniowo zwiększała się od 15% w pierwszej laktacji, 30% w drugiej, do 60% w kolejnych. Poubojowo tylko u jednej lochy z grupy samic odchowującej trzy mioty stwierdzono obecność mleka w gruczołach. Pełne zasuszenie gruczołu mlekowego obserwowano u loch kontrolnych.

U dwóch loch K, które badano po odchowaniu 6 miotów stwierdzono stan zapalny pojedynczych gruczołów. U jednej z nich obserwowano *post mortem* obfity zastój mleka w gruczole. W badaniu makroskopowym gruczołów sutkowych loch D nie stwierdzono zmian, mimo że mleko było w gruczołach obecne.

W ocenie histologicznej gruczołów sutkowych loch stwierdzono, że w obrębie brodawki sutkowej przewód wyprowadzający wyścielał nabłonek wielowarstwowy płaski, który w pobliżu zatoki mlecznej przechodził w nabłonek jednowarstwowy walcowaty lub kostkowy. W obrębie gruczołu występowały zraziki poprzedzielane pasmami tkanki łącznej włóknistej o różnej szerokości. Zraziki tworzone były przez liczne pęcherzyki wydzielnicze wyścielone nabłonkiem płaskim lub kostkowym opartym na błonie podstawnej. W komórkach nabłonkowych stwierdzono obecność jąder komórkowych kulistych o chromatynie ziarnistej, a w cytoplazmie wakuole tłuszczowe (ryc. 1). W okolicach zatoki mlecznej cytoplazma komórek była słabo zasadochłonna, ku obwodowi gruczołu zmieniała się w wodojasną piankowatą.

W wycinkach pobranych od loch grupy K, które odchowaly 3 mioty stwierdzono ogniskowo pod na-

skórkiem brodawki sutkowej nacieki komórek jednojądrowych, ogniskowo mikroropnie, a w tkance zrębu – nie-liczne komórki jednojądrowe oraz granulocyty kwasochłonne. W świetle pęcherzyków stwierdzono obecność homogennej masy kwasochłonnej. W tkance śródmiąższowej obfite nacieki komórek plazmatycznych oraz ogniskowo granulocyty kwasochłonne. Badanie histopatologiczne wycinków pobranych z gruczołów sutkowych loch grupy D wykazało w obrębie brodawki sutkowej nacieki histiocytarne, w tkance łącznej śródmiąższowej nacieki komórek jednojądrowych lub nacieki komórek jednojądrowych z udziałem komórek plazmatycznych, ogniskowo z udziałem granulocytów kwasochłonnych. W świetle pęcherzyków występował obfity wysięk granulocytów obojętnochłonnych, a w tkance łącznej śródmiąższowej stwierdzono obfite nacieki zapalne (tab. 2).

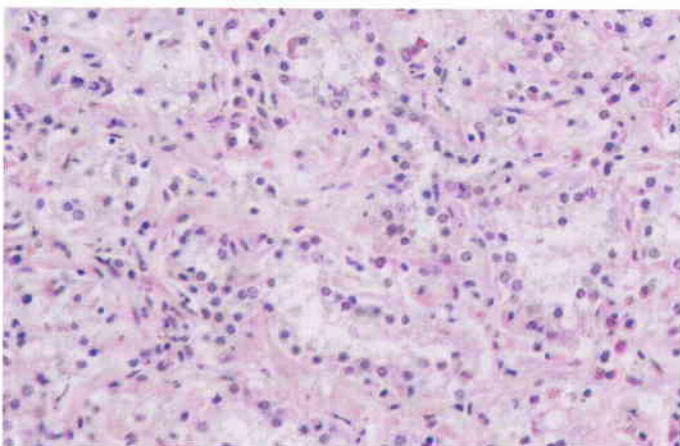
Badania wycinków pobranych od loch, które zakończyły 6. cykl rozrodczy i poddane zostały ocenie *post mortem* wykazały u loch grupy K ogniskowo pod naskórkiem brodawki sutkowej nacieki komórek jednojądrowych. Stwierdzono również ogniskowo masywne nacieki komórkowe o charakterze zapalnym, w obrębie tkanki łącznej śródmiąższowej gruczołu (nacieki komórek jednojądrowych, ogniskowo granulocytów kwasochłonnych), a w obrębie gruczołu ogniskowo nacieki zapalne o charakterze ziarniniakowym. U loch grupy D stwierdzono ogniskowo pod naskórkiem brodawki sutkowej nacieki komórek jednojądrowych oraz obfity zrąb łącznotkankowy. Ponadto w tkance łącznej śródmiąższowej wystąpiły nacieki komórek jednojądrowych (ryc. 2), relatywnie obfite, z udziałem komórek plazmatycznych oraz pojedynczych granulocytów kwasochłonnych (tab. 2).

Tab. 2. Histomorfologiczna ocena występowania nacieków komórkowych w gruczołach sutkowych loch w okresie inwolucji

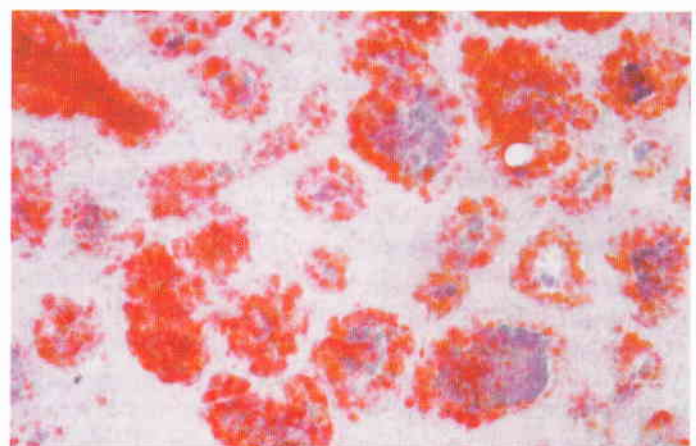
Nacieki komórkowe w tkance łącznej śródmiąższowej	Ocena gruczołów po odchowaniu							
	3. miotu				6. miotu			
	kontrolna		doświadczalna		kontrolna		doświadczalna	
	L = 4 4	P = 4 4	L = 5 5	P = 4 4	L = 4 4	P = 4 4	L = 4 4	P = 4 4
Komórki plazmatyczne (plazmocyty)	+	+	+	*	+	+	+	
Granulocyty kwasochłonne (eozynofile)	++*	++*	++*		+++*	++	++*	+
Histiocyty			+	*				
Granulocyty obojętnochłonne (neutrofile)			+	xx				

Objaśnienia: L – gruczoły sutkowe po stronie lewej; P – po stronie prawej; *nacieki komórek jednojądrowych; + (mała ~ 1/3), ++ (średnia ~ 1/2), +++ (duża ~ 2/3) – częstotliwość występowania zmian w badanych skrawkach, xx – w świetle pęcherzyków

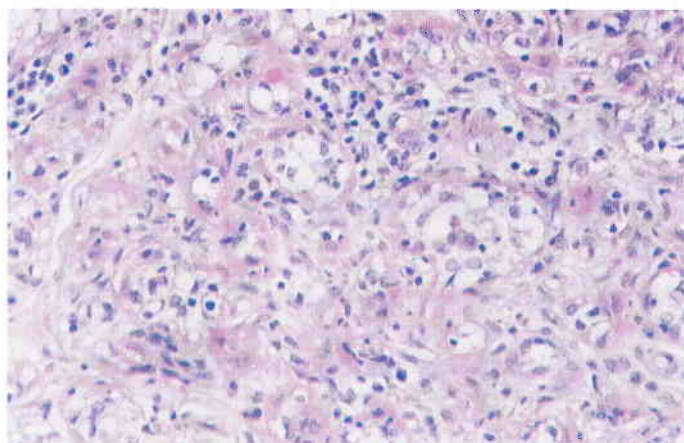
W badaniach Rekiel (10) obserwowano większe nasilenie zmian w obrębie gruczołów u loch wieloródek z krótszą – 28-dniową laktacją w porównaniu z laktacją dłuższą, 42-dniową. Wydłużenie laktacji stwarza potencjalnie większe zagrożenie dla gruczołu mlekowego, jest on narażony na uszkodzenia mechaniczne, czas ekspozycji na czynniki infekcyjne jest dłuższy, a odporność miejscowa jest obniżona. W opracowaniu Rekiel i wsp. (9) zwrócono uwagę na większe nasilenie zmian w gruczołach sutkowych u loch o laktacji 6-tygodniowej, które odchowaly 6 miotów w porównaniu z wieloródkami, które zakończyły 3. cykl rozrodczy. Stwierdzano zmiany w obrębie tkanki gruczołowej w postaci nacieków zapalnych (ogniskowo masywnych), w obrębie tkanki łącznej śródmiąższowej gruczołu nacieki komórek jednojądrowych, ogniskowo z przewagą granulocytów kwasochłonnych lub z udziałem komórek plazmatycznych (8). Wyniki badań własnych są porównywalne.



Ryc. 1.



Ryc. 2.



Ryc. 3.

W badaniach własnych u loch doświadczalnych białko mleka, zalegające w zasuszonym gruczole działało prawdopodobnie jak alergen, zwiększając liczbę eozynofili (ryc. 3).

Na podstawie badań własnych można stwierdzić, że poziom żywienia loch w okresie okołoodsadzeniowym nie wpłynął na obraz histologiczny gruczołu, który pośrednio świadczy również o jego funkcji. Nasilenie zmian w gruczolach sutkowych było większe u loch po odchowaniu 6 miotów w porównaniu z lochami które zakończyły 3. cykl rozrodczy. Bilkei i wsp. (3) przy przewlekłym ropnym zapaleniu gruczołu mlekowego stwierdzili w badaniu pośmiertnym: ropnie, ziarniniaki, zwłóknienia, torbiele oraz zmiany patologiczne w obrębie macicy i pęcherza moczowego. U loch objętych badaniami własnymi nie obserwowano zmian patologicznych w obrębie układu moczowo-płciowego.

U loch z obu grup, tj. kontrolnej i doświadczalnej, zaawansowanie inwolucji gruczołu było zróżnicowane. Nie wszystkie gruczoły były obsadzone przez prosięta z ostatniego, tj. 3. lub 6. miotu, będącego zarazem ostatnim przed ubojem lochy. W związku z tym niektóre segmenty gruczołu sutkowego uległy wcześniejszemu zasuszeniu, co wiązało się z ekspresją białek Bax i bcl-2 (4). Wojewódzka (14) stwierdziła, że ekspresja Bax nie jest jednakowa u tego samego zwierzęcia, wzrasta ona wraz ze stopniem zasuszenia gruczołu sutkowego.

Podsumowanie

Poziom żywienia loch w okresie okołoodsadzeniowym (technika zasuszania) miał wpływ na stopień zasuszenia gruczołu sutkowego loch w okresie inwolucji. Ograniczone (technika tradycyjna) lub intensywne (technika zmodyfikowana) żywienie loch w okresie okołoodsadzeniowym nie wpłynęło na obraz histologiczny gruczołu, świadczący pośrednio o jego funkcji. W badaniach *post mortem* stwierdzono większą częstotliwość i nasilenie zmian w gruczolach sutkowych loch użytkowanych dłużej, tj. przez 6 cykli rozplodowych w porównaniu z lochami użytkowymi w czasie 3 cykli rozrodczych.

Piśmiennictwo

1. Anon.: Normy żywienia świń. IFiZZ Jabłonna. Wyd. Omnitech Press, Warszawa 1993.
2. Banes A. J., Tsuzaki M., Yamamoto J., Fischer T., Brigman B., Brown T., Miller L.: Mechanoreceptors at the cellular level: the detection, interpretation and diversity of responses to mechanical signals. *Biochem. Cell Biol.* 1995, 73, 349-365.
3. Bilkei G., Bolcskei A., Clavadetscher E., Goos T., Hofmann C., Bilkei H., Szenci O.: Bericht über den peripartalen Krankheitskomplex der Muttersau in der industriellen Schweinezucht. 3. Mitteilung: Schlachtbefunde von Altsauen mit der Anamnese von peripartalen Erkrankungen. *Berl. Münch Tierärztl. Wschr.* 1994, 107, 405-408.
4. Motyl T., Gajkowska B., Płoszaj T., Waręski P., Orzechowski A., Zimowska W., Wojewódzka U., Ryniewicz Z., Rekiel A.: Rola bax i bcl-2 w regulacji apoptozy komórek nabłonka gruczołu mlekowego. *Post. Biol. Kom.* 2000, 27, 31-51.
5. Motyl T., Gajkowska B., Wojewódzka U., Waręski P., Rekiel A., Płoszaj T.: Expression of apoptosis-related proteins in involuting mammary gland of sow. *Com. Bioch. Physiol. B.* 2001, 128, 635-646.
6. Persson A., Pedersen A., Goransson L.: Udder status during the postpartum period in sows. Somatic cell content in the milk. *Proc. 5th Inter. Conf. Prod. Disease in Farm Animals*, Uppsala, Sweden August 10-12.1983, s. 220-223.
7. Quarrie L. H., Addey C. V. P., Wilde C. J.: Apoptosis in lactating and involuting mouse mammary tissue demonstrated by nick-end DNA Labeling. *Cell Tissue Res.* 1995, 281, 413-419.
8. Quarrie L. H., Addey C. V. P., Wilde C. J.: Local regulation on mammary apoptosis in the lactating goat. *Biochem. Soc. Transact.* 1994, 22, 178S.
9. Rekiel A., Bielecki W., Urynek M.: The influence of sows nutrition during weaning on anatomopathological image of mammary gland. *Proc. Conf. The perspective importance of prophylaxis and therapy of reproductive tract and mammary gland*. Wenecja 1-2.10.1999, s. 119.
10. Rekiel A.: Wpływ odmiennych technik zasuszania na poziom rezerw tłuszczowych i wyniki reprodukcji loch. *Praca hab.*, Wyd. SGGW, Warszawa 2002.
11. Rokicki E., Kolbuszewski T.: Higiena zwierząt. Fundacja „Rozwój SGGW”, Warszawa 1996.
12. Travers M. T., Barber M. C., Tonner E., Quarrie L., Wilde C. J., Flint D. J.: The role of prolactin and growth hormone in regulation of casein gene expression and mammary cell survival relationship to milk synthesis and secretion. *Endocrinol.* 1996, 137, 1530-1539.
13. Wilde C. J., Addey C. V. P., Fering D. G.: Programmed cell death in bovine mammary tissue during lactation and involution. *Exp. Physiol.* 1997, 82, 943-953.
14. Wojewódzka U.: Zmiany ekspresji białek związanych z regulacją apoptozy w gruczole sutkowym lochy. *Praca magisterska*, Wydział Nauk o Zwierzętach SGGW, Warszawa 2000.

Adres autora: dr hab. Anna Rekiel, prof. nadzw. SGGW, ul. Rtm. Pileckiego 107/107, 02-781 Warszawa; e-mail: rekiel@alpha.sggw.waw.pl

HOLZHAUER M., SAMPIMON O. C., SOL J., VAN VALDERVEEN A., VAN GINKEL C. J. W.: Alergiczne kontaktowe zapalenie skóry strzyków u krów spowodowane przez gumę zaciskającą strzyki dojarki mechanicznej. (Allergic contact dermatitis of bovine teat skin caused by milking machine cluster rubber). *Vet. Rec.* 154, 208-209, 2004 (7)

U krowy mlecznej w wieku 7 lat, rasy holsztyńskiej, rozwinęło się w czwartą laktacji ostre zapalenie skóry strzyków po 1-2 tyg. od rozpoczęcia doju mechanicznego. Zapalenie cechowało się miejscowym podniesieniem temperatury, obrzękiem, zaczerwienieniem i bolesnością dotykową oraz tworzeniem strupów. Leczenie w czasie laktacji nie dało wyników. Po 2 tyg. po zakończeniu laktacji zmiany na strzykach ustąpiły. Pojawiły się one ponownie po 4-5 dniach stosowania dojarki mechanicznej w następnej laktacji. Ustalono, że przyczyną zmian miejscowych było uczulenie na gumę pierścienia dojarki mechanicznej uciskającego strzyki. Jej zastąpieniem silikonem spowodowało cofnięcie się objawów zapalenia skóry w ciągu 3 tyg. Celem potwierdzenia diagnozy przeprowadzono próbę naskórną z gumą syntetyczną używaną w dojarce u krowy, u której uprzednio wystąpiło zapalenie skóry strzyków oraz u dwóch krów zdrowych. Przeprowadzone testy potwierdziły uczulające właściwości składników I-PPD gumy (0,1%-izopropyl-N-fenyldiamina).