

Голэмбиовски С. — Причины конфискации печени кроликов.

При санэкспертизе 39 100 кроликов конфисковали ок. 20% исследованных печени, в том числе 150 шт. подвергли микробиологическим, паразитологическим и анатомопатологическим исследованиям. В 86,6% случаев причиной конфискации были паразиты и вызванные ими анатомо-патологические изменения, а в 13,4% анатомопатологические изменения из-за незаразных болезней. В исследованных печени констатировали инвазию *Cysticercus pisiformis* в 51,3%, *Eimeria stiedae* в 41,3%, *Fasciola hepatica* в 26,0%. Заражение только одним видом паразита отмечали в 56,6%, двумя — в 27,9%, тремя — в 2,0% исследованных случаев. Микробиологическим исследованием устанавливали чаще всего негемолитические стафилококки (41,3%), негемолитические палочки *Escherichia coli* (18,3%) и анаэробные бациллы (15,3%). Печени свободные от паразитов были заражены бактериями в 40%, а печени инвазированные паразитами — в 67,7%.

Gołębiowski S. — The causes of confiscation of rabbit livers.

During post-slaughtery examinations of 39100 rabbits about 20% livers has been confiscated; of that number 150 livers were investigated microbiologically, parasitologically and anatomopathologically. The findings revealed that the main cause (86.6%) of confiscation were parasites. In the examined livers there were found: *Cysticercus pisiformis* (51.3%), *Eimeria stiedae* (41.3%) and *Fasciola hepatica* (26%). Infection with one parasite was noted in 56.6%, with two parasites in 27.9% and with three ones in 2%. Microbiological examinations showed that most often there were found: *Staphylococcus* (41.3%), *Escherichia coli nonhaemolitica* (18.3%) and *Clostridium* (15.3%). The livers free from the parasites were in 40% infected with bacteria and the livers infected with the parasites were infected with the bacteria in 67.7%.

FIZJOLOGIA I PATOLOGIA ROZRODU ORAZ SZTUCZNE UNASIENIANIE

KAREL HRUŠKA, ADOLF NAPRAWNIK

Immunologiczne przyczyny niepłodności*)

Katedra Biochemii Wyższej Szkoły Weterynaryjnej w Brnie, CSRS
Kierownik: Doc. MVDr K. HRUŠKA CSc

Plemniki i plazma nasienia są bardzo złożonym kompleksem substancji białkowych, które w pewnych okolicznościach mogą ujawniać swoje właściwości antygenowe i reagować ze swoistymi przeciwciałami. W procesie reprodukcji, antygenami mogą okazać się i inne substancje natury białkowej, np. niektóre hormony, substancje białkowe błon płodowych, a także samego płodu.

Reakcje immunologiczne niektórych z wymienionych antygenów mogą wpływać lub całkowicie zaburzać fizjologiczny proces zapłodnienia w jego najgroźniejszych stadiach. Już w końcu ubiegłego stulecia Miecznikow (14) i Landsteiner (10) opisali pojawianie się przeciwciał mogących immobilizować plemniki. Od tego czasu liczne naukowe placówki zajmują się badaniem immunologicznych przyczyn niepłodności, a wyniki ich prac świadczą o znaczeniu tej dziedziny badań zarówno dla lecznictwa, jak i dla teoretycznego objaśnienia procesu rozmnażania. Prace przeglądowe z tej dziedziny publikowali m. in. Katsh (4, 5), Katsh i Katsh (6, 7), Tyler i Bishop (24), Naprawnik i Hruška (18).

W niniejszym krótkim doniesieniu pragniemy zwrócić uwagę na niektóre opisane zjawiska, mogące ujawniać się w toku zaburzeń procesów rozmnażania zwierząt gospodarskich.

Immunizowanie samców iniekcjami plemników z pełnym adjuwantem Freund'a wywołuje immunologicznie warunkowaną hypospERMATOGENEZĘ lub całkowitą aspermATOGENEZĘ. Zaburzenia spermatogenezy stwierdzono nie tylko u zwierząt laboratoryjnych lecz także u tryka (1) i buhaja (13). Przeciwciała skierowane przeciwko plemnikom mogą powodować ich aglutynację w ejakulacie (20), wpływać na zdolność penetracji przez śluz szyjki macicznej (3) i na własności błony komórkowej plemników.

Drevius (2) opisał obrzęk plemników byka pod wpływem króliczej immunosurowicy przeciwko nasieniu buhaja oraz zwiększenie przepuszczalności błony komórkowej dla adenylozotrójfosforanu i albuminy.

Zdaniem licznych autorów, urazy narządu rozrodczego samca lub zamknięcie światła przewodów wyprowadzających plemniki mogą prowadzić do autoimmunizacji.

U samic, w wydzielinach narządu rozrodczego i w krwi, pojawiać się mogą przeciwciała przeciwko plemnikom i plazmie nasienia. Obecność tych przeciwciał wprowadzić nie zawsze musi doprowadzać do immobilizacji plemników, jednakże wielu autorów doświadczalnie wykazało, że grają one pewną rolę w obniżaniu płodności.

U małąp i jałówek osiągnięto podwyższenie miana przeciwciał po intrawaginalnym wpro-

*) Tłumaczyła dr Maria Nikolaiczuk.

wadzeniu nasienia (15, 17). Można przypuszczać, że przeciwciała te mogą ujawnić się w przebiegu aglutynacji plemników śluzem szyjki macicznej lub wydzieliną macicy i jajowodu, co powoduje zmniejszenie liczby zapłodnionych komórek jajowych.

Menge (15, 16) obserwował zwiększoną śmiertelność zarodków u immunizowanych królic i jałówek. Również Kiddy i wsp. (9) opisał to zjawisko po inkubacji plemników królika z immunosurowicą bydlęcą przeciwko ejakulatowi królika.

Związek między występowaniem przeciwciał w surowicy krwi oraz w wydzielinach narządu rozrodczego nie jest więc jednoznacznie wysświetlony, podobnie jak i kwestia miejsca powstawania tych przeciwciał. Niektórzy autorzy uważają za bardzo prawdopodobne, że przeciwciała powstają *in situ* w żeńskim narządzie rozrodczym. Opisano wszak różnice między makroglobulinami (19S), które występują tylko w surowicy krwi, a między przeciwciałami typu IgG (7S), które powszechnie wykrywa się i w śluzie szyjki macicznej. Niektóre przeciwciała są związane na tkance macicy i szyjki macicznej, i stąd często stwierdzana jest pozorną rozbieżność między dodatnim mianem niektórych spermaglutynin krwi, a testem zdolności plemników przenikania śluzu szyjki macicznej (21). Nie jest więc łatwo znaleźć właściwy punkt widzenia przy ocenie tego rodzaju immunologicznych przyczyn niepłodności.

Schwimmer i wsp. (21) polecają metodę mikroaglutynacji, jako prostą i powtarzalną, i zwracają uwagę na niepewność hemaglutynacji ze względu na mylnie dodatnie wyniki, powodowane antygenami erytrocytarnymi.

Noyes (19) opisał kliniczny test wykazywania przeciwciał anty-powierzchniowym antygenom plemników, oparty na stosowaniu albuminy surowicy krwi znakowanej jodem radioaktywnym.

Przyczyny spontanicznego pojawiania się przeciwciał u samic nie są więc jasne. W doświadczalnych immunizacjach stosuje się pełny adjuwant Freund'a, ale w klinicznych przypadkach niepłodności, przeciwciała są zwłaszcza często stwierdzane we krwi i w wydzielinach.

Katsh i wsp. (8) zakładają, że żeński narząd rozrodczy ma zdolność degradowania antygenów ejakulatu i że pojawianie się przeciwciał jest warunkowane niedostatkami odpowiednich układów enzymatycznych. Być może, istnieje pewna osłona tych antygenów niektórymi substancjami pochodzenia bakteryjnego, które mogą spełniać rolę immunologicznego adjuwantu. Z pewnością i miejscowe urazy narządu rozrodczego, zwłaszcza stany zapalne, mogą sprzyjać pojawianiu się przeciwciał oraz ich ujemnemu wpływowi na zapłodnienie.

Z dalszych przyczyn obniżania płodności, zwłaszcza u ludzi, jest reakcja przeciwciał przeciwko antygenom krwinkowym a tymi antygenami, występującymi na powierzchni plemnika. Reakcja ta powoduje obniżenie ruchliwości plemników i ich zdolności zapłodnienia. W pewnych okolicznościach mogłyby okazać się antygenami także substancje białkowe łożyska, trofoblastu i samego płodu (22).

Również substancje hormonalne mogą być przyczyną autoimmunizacji. Np. Katsh i Katsh (7) uszkodzeniem jąder wywołali reakcję immunologiczną w stosunku do hormonów gonadotropowych, a Laurence i wsp. (11, 12) immunizując króliki i szczury bydlęcym hormonem luteinizującym, wywołali wytworzenie krążących przeciwciał i stwierdzili zaburzenia cyklu i implantacji.

Z przedstawionych doświadczeń, które dalece nie wyczerpują uzyskanych dotychczas wiadomości widoczne jest, że zdolność ustroju wytwarzania przeciwciał przeciw antygenom występującym w narządach rozrodczych, może powodować obniżenie płodności lub całkowitą niepłodność.

Największe znaczenie kliniczne mają prawdopodobnie przeciwciała przeciwko antygenom plemników, zwłaszcza jeżeli pojawiają się w śluzie szyjki macicznej, wydzielinach macicy i jajowodów, ewentualnie gdy są związane bezpośrednio na komórkach nabłonkowych żeńskiego narządu rozrodczego.

Można przypuszczać, że głębsze wyjaśnienie immunologicznych problemów rozmnażania umożliwiłoby trafniejszą diagnostykę i być może, przyniosłoby bezpośredni wkład do wiedzy o zjawiskach rozmnażania. Śmierć zarodkowa, zaburzenia ruchliwości plemników i inne powszechne problemy kliniczne nie są oczywiście powodowane wyłącznie przeciwciałami i ich reakcją z antygenami plemników.

Możliwość ujawnienia się tych przyczyn winna być wszakże brana pod uwagę, tak ze względu na współczesne dążenia do zmniejszania liczebności używanych rozplodników jak i dlatego, że występujące często schorzenia narządu rozrodczego samic i często powtarzane inseminowanie, mogą sprzyjać rozwijaniu się odpowiedzi immunologicznej.

Piśmiennictwo

1. Busey W. M.: Diss. Abstr. 66, 5379, 1965 (cyt. za 13).
2. Drevious L. O.: Exptl. Cell Res. 51, 362, 1968.
3. Fjällibrant B.: Acta Obstet. Gynec. Scand. 47, Suppl. 4, 38, 1968.
4. Katsh S.: Amer. J. Obstet. Gynec. 77, 946, 1959 (cyt. za 7).
5. Katsh S. W.: Adv. Obstet. Gynec. vol. 1, Baltimore 1967, S. L. Marcus and C. C. Marcus, Eds (cyt. za 7).
6. Katsh S., Katsh G. F.: Pacific. Med. Surg. 73, 1A, 28, 1965, (cyt. za 7).
7. Katsh S., Katsh G. F.: Obstet. Gynec. 43, 230, 1968.
8. Katsh S., Aguirre A., Katsh G. F.: Fert. Steril. 19, 740, 1968.
9. Kiddy C. A., Stone W. H., Casida L. E.: J. Immunol. 82, 125, 1959.

10. Landsteiner K.: Zbl. Bakt. 25, 546, 1899 (cyt. za 21).
11. Laurence K. A., Ichikawa S.: Endocrinol. 82, 1190, 1968.
12. Laurence K. A., Carpuik O., Wahsy O.: Excerpta Med. Int. Congr. Ser. 99, E 145, 1965 (cyt. za 11).
13. Losos G. J., Winter A. J., McEntee K.: Amer. J. Vet. Res. 29, 2295, 1968.
14. Mečnikov E.: Ann. Inst. Pasteur 13, 737, 1899 (cyt. za 21).
15. Menge A. C.: J. Reprod. Fert. 13, 445, 1967.
16. Menge A. C.: Proc. Soc. exptl. Biol. Med. 127, 1271, 1968.
17. Moyer D. L., Maruta H.: Fert. Steril. 18, 497, 1967.
18. Nápravník A., Hruška K. J.: Imunologické otázky reprodukce. Předneseno na pracovní schůzi sekce biologie reprodukce Čs. biologické společnosti v Brně, 16. října 1969.
19. Noyes R. W.: Fert. Steril. 20, 43, 1969.
20. Rümke P.: Ann-N. Y. Acad. Sci. 124, 636, 1965.
21. Schwimmer W. B., Ustay K. A., Behrman S. J.: Fert. Steril. 18, 167, 1967.
22. Simmons R. L., Russel P. S. W.: Adv. Obstet. Gynec., vol. 1 Baltimore 1967, S. L. Marcus and C. C-Marcus, Eds., chap. 3, 38-55 (cyt. za 7).
23. Tyler A.: J. Reprod. Fert. 2, 473, 1961 (cyt. za 21).
24. Tyler A., Bishop D. S. W.: Mechanisms concerned with conception. Mc Millan Comp., New York 1963 (cyt. za 13).

YILMAZER S. K., KMETZ M., SCHULTZ R. D., DUNNE H. W.: Leukocyty jako nosiče v transmisijnej bialaczce bydlia: obserwacie nad próbami przenie-

sienia bialaczki bydlia na myszki zmiennej rasy szwajcarskiej rasy AKR na drodze doustnego lub podskór- nego podawania hodowli leukocytów otrzymanych z mleka lub z krwi. (Leukocytes as carriers in the transmission of bovine leukemia: observations on an attempt to transmit bovine leukemia to variable bred swiss and AKR mice by oral and subcutaneous inoculations of leukocytes from milk and blood). Am. J. Vet. Res., 31, 619-635, 1970 (4).

Badania dotyczyły przenoszenia białaczki bydlia na myszki odporne na białaczkę (zmienna rasa szwajcarska) oraz na myszki cechujące się dużym odsetkiem zapadalności na białaczkę (rasa AKR). Nowo narodzone myszki zakażano doustnie lub podskórnie hodowlą leukocytów wyizolowanych z mleka lub z krwi chorych na białaczkę. Badania wykazały, że u myszek zakażonych występują charakterystyczne zmiany anatomopatologiczne dla białaczek: powiększenie wątroby i śledziony, nowotwory gruczołu mlecznego. Odsetek białaczek był jednakże większy u myszek rasy AKR. Autorzy przypuszczają, że w leukocytach bydlia chorego na białaczkę występuje czynnik indukujący powstawanie chłoniaków lub pobudzający rozwój wirusa białaczki mysiej występującego zawsze u myszek rasy AKR.

Z. G.

JERZY STRZEŻEK

Wskaźniki biochemiczne w zastosowaniu do oceny jakości nasienia zwierząt gospodarskich. III. DNA a jakość nasienia tryka

Katedra Biochemii Wydziału Weterynarii WSR w Olsztynie
Kierownik: prof. dr W. MINAKOWSKI

Plemniki ssaków zawierają połowę ilości DNA w stosunku do komórek somatycznych. Jądro plemnika składa się głównie, w około 96%, z dezoksyrybonukleoproteidu. Oznaczaniem zawartości DNA w nasieniu lub w przeliczeniu na plemnik zajmowali się u tryka: Mann (17), Bertil Aberg i wsp. (1), Davies i wsp. (9), Eapen i wsp. (10), Bratanow i wsp. (2) oraz Walker i Yates (23). Oznaczania te jednak wykonywane były różnymi metodami.

W ostatnich latach wykazano, że wszelkie zaburzenia dotyczące syntezy DNA i związanych z nimi białek zasadowych wiążą się z niepłodnością osobników męskich (11, 12, 16). Poziom DNA w plemnikach płodnych osobników jest stały natomiast u niepłodnych osobników poziom DNA jest zmienny, wysoki lub niski (14, 18, 19).

Odnosnie wpływu zawartości DNA w plemnikach na jakość nasienia zdania są podzielone, ponadto brak jest również dostatecznej ilości badań związanych z określeniem zawartości jak i właściwości DNA plemników tryka. Szczególnie brak jest opracowań dotyczących zawartości DNA w nasieniu tryków niepłodnych.

Dlatego celem pracy było wyjaśnienie wyżej przedstawionych zagadnień oraz próba zastosowania określenia zawartości DNA w nasieniu

i plemnikach, jako jednej z uzupełniających metod diagnozowania niepłodności tryków.

Materiał i metody

Nasienie pobierano do sztucznej pochwy od 24 tryków, w wieku 2-5 lat, z owczarni PGR Raszag woj. olsztyńskiej. Wskaźniki jakości nasienia oznaczano wg powszechnie stosowanych metod.

Określenie zawartości DNA plemników tryka oparto na ekstrakcyjnej metodzie wg Schmidta i Thanhausera. Do analiz pobierano 0,5 ml nasienia o znanej koncentracji. Fosfor DNA oznaczano wg metody Fiske i Subbarowa. Jako czynnika redukującego użyto eikonogenu. Ilość P — DNA wyliczano ze specjalnie przygotowanej krzywej standardowej sporządzonej z wzorcowego roztworu fosforanu jednopotasowego. Do przeliczenia P — DNA na ilość mg DNA w 100 ml nasienia użyto wartości 10,1 podanej przez Spirina (20). Ilość DNA w główce plemnika wyliczano uwzględniając koncentrację plemników. Izolacji DNA z główek plemników dokonano zgodnie z metodyką Borenfreundta i wsp. (8). Jako czynnika chemicznego rozbijającego osłonkę plemników użyto 2-merkaptotetanolu firmy Koch — Light. Deproteinizację kompleksu dezoksyrybonukleoproteidowego przeprowadzono przy pomocy trypsyny i roztworu soli sodowej laurylo siarczanu firmy Schuchardt — München. Otrzymany DNA plemników tryka, wysuszony wobec CaCl_2 , poddano badaniom stosunków zasad purynowych i pirymidynowych stosując metodę Wyatta podaną przez Skwirską i Czepinogę (20).

Dla określenia zdolności zapładniającej nasienia tryków przeprowadzono dwie stanówki przy zastosowaniu