

był krytycznie obniżony i wynosił 2,76 umol/l. Nie wykazano zależności pomiędzy poziomem karotenów a występowaniem zmian anatomopatologicznych narządu płciowego.

Liczbę żubrów w poszczególnych latach w Puszczy Białowieskiej przedstawia tab. 3. Stan ten, obliczany na 31 grudnia każdego roku, obejmował zarówno żubry dorosłe, jak i urodzone w danym roku cielęta. Uwzględniono w nim także ubytki, do których wliczono odłow, selekcje i padnięcia. Z zestawień liczbowych wynika, że schorzenie narządu płciowego samców dotychczas nie miało wpływu na reprodukcję stada wolnego w Puszczy Białowieskiej.

Na podstawie wykonanych kompleksowych badań żubrów samców nie można jednoznacznie stwierdzić, jaki czynnik etiologiczny jest odpowiedzialny za wywołanie schorzenia narządu płciowego. Hipotetycznie można przyjąć, że wywołały go drobnoustroje względnie chorobotwórcze. Zarazki te ujawniają najczęściej swoje patogenne właściwości u zwierząt z obniżoną

odpornością lub przebywających w niekorzystnych warunkach środowiskowych. Co prawda badań określających stan odporności żubrów nie przeprowadzono, lecz odnotowane inwazje pasożytnicze mogły, naszym zdaniem, wpływać na obniżenie tej odporności. Analogicznie działać może obniżenie poziomu karotenów, z uwagi na znany wpływ witaminy A na stan nabłonków i ich funkcje ochronne.

Piśmiennictwo

1. Drózd J., Demiaszkiewicz A. W., Lachowicz J.: Wiad. Parazyt. 35 53, 1989.
2. Drózd J., Demiaszkiewicz A. W., Lachowicz J.: Acta Paratytologica Polonica 34, 117, 1989.
3. Dziżdżyński B.: Życie Wet. 63, 171, 1988.
4. Gill J.: Comp. Biochem. Physiol. 92 A, 291, 1989.
5. Jensen B., Mackey D. R.: Diseases of Feedlot Cattle (Necrotic Posthitis), Lea and Febiger, Filadelfia, 1971, s. 114.
6. Kingston N., Drózd J., Rutkowska M.: Wiad. Parazyt. 33, 219, 1987.
7. Kita J.: Medycyna Wet. 34, 12, 1978.
8. Keith E., James E., Phillips R., Benjamin M.: Wildlife Dis. 14, 493, 1978.
9. Saregard F.: Vet. Bull. 40, 605, 1970.

Adres autora: prof. dr hab. Jerzy Kita, ul. Wąski Dunaj 7 m 8, 00-256 Warszawa

ZDZISŁAW BORYCZKO, HARTWIG BOSTEDT*,
KATARZYNA ROMANOWICZ-BARCIKOWSKA**,
BERNARD BARCIKOWSKI**, WOJCIECH KARCZEWSKI,
MAREK DOBOSZ, MOHTAR SASSI, ADAMOU WAKJIRA

Efekt zastosowania anty-PMSG przy superowulacji u krów

Katedra Rozrodu Zwierząt z Kliniką Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR,
ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

* Klinika Położnictwa Wydziału Weterynaryjnego Uniwersytetu im. Justusa Liebiga,
Frankfurterstr. 106, 6300 Giessen, RFN

** Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt PAN, ul. Instytucka 3, 05-110 Jabłonna

Summary

The effect of the use of anti-PMSG at superovulation in cows

The results obtained after the application of monoclonal anti-PMSG (monoklonal anti-PMSG, Intervet) after 72 h (group A) and 120 h (group B) since stimulation of ovaries in cows using PMSG are described. The activity of anti-PMSG was monitored mainly on the basis of morphological changes noted in ovariectomised ovaries at the day 12 since the application of PMSG. In the control group K superovulations were stimulated using only PMSG. For comparative studies the level of progesterone was also enclosed. Summarizing the obtained results one can conclude that the action of anti-PMSG is evaluated positively, especially the decrease of the number of unovulated ovarian vesicles: group K 20.4 unovulated vesicles/cow of a diameter 12 mm, group A 0.7 and group B 1.7. A number of ovulations evaluated on the basis of the yellow bodies was comparable in group K and B; a mean value in one cow was 11.8 and 8.2, respectively. The use of anti-PMSG too early, after 72 h inhibited completely superovulation. The effectiveness of ovulation represented also the level of progesterone just after the appearance of the yellow body and secretion of this hormone.

Jedną ze stosowanych metod wywołania superowulacji u krów jest podanie PMSG w czasie fazy lutealnej, a następnie w 48 h później prostaglandyny F₂ alfa, która indukuje regresję ciała żółtego, ruje i owulację. Metoda ta uległa znacznemu udoskonaleniu i modyfikacji z chwilą zastosowania anty-surowicy PMSG, co pozwoliło neutralizować ten hormon o bardzo długim okresie rozpadu w organizmie (3). Dalszym postępowaniem było użycie monoklonalnych przeciwciał anty-

-PMSG (5). Dieleman i Bevers (5) uważając, że przeciwciała anty-PMSG użyte w końcowej fazie dojrzewania pęcherzyków jajnikowych, redukują liczbę nieowulujących pęcherzyków, skracają czas owulacji, a wyniki superowulacji tą metodą są również dobre jak po FSH-P. Według Chupina i wsp. (4) liczba owulujących pęcherzyków w badaniach, w których stosowano PMSG i anty-PMSG kształtowała się w dwóch doświadczeniach $11,4 \pm 7,8$ i $12,5 \pm 6,6$. Zdaniem Dielemana i wsp. (6) neutralizacja PMSG wywiera końcowy korzystny efekt na dojrzewanie oocytów i jakości późniejszych zarodków. Dieleman i wsp. w kolejnej pracy (7) przypisują to skróceniu, po przedowulacyjnym szczycie LH, wpływu hormonów sterydowych na oocyty.

Celem podjętych badań było określenie efektów działania anty-PMSG, podawanego w różnym czasie po PMSG, na podstawie porównania zmian zachodzących w jajnikach, w tym liczby owulacji oraz w wydzielaniu progesteronu.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 22 krowach rasy cb, w wieku od 4–8 lat. Krowom będącym w 11 dniu cyklu, synchronizowanego wcześniej przy pomocy PGF₂ alfa, podano po 2500 j.m. PMSG (Serogonadotropin — Biowet), następnie po 54 godz. — 700 µg PGF₂ alfa (Oestrophan-Spofa). Z tej liczby 6 krowom (grupa A) podano po 72 h anty-PMSG (Monoclonal anty PMSG, Intervet) i 6 krowom (grupa B) — anty PMSG po 120 h. Grupa 10 krów, którą potraktowano jako grupę kontrolną — K, nie otrzymała anty-PMSG. Poziom progesteronu w surowicy krwi oznaczono metodami RIA. W odstępie 12 dni od podania PMSG wykonano u wszystkich krów owariectomie. Każdy jajnik sekcjonowano, obliczając liczbę ciałek żółtych oraz nieowulowanych

pęcherzyków o średnicy ≥ 12 mm. Przy ocenie istotności różnic w poziomie progesteronu zastosowano test Kruskal — Wallisa, natomiast przy porównaniu liczby ciałek żółtych i nieowulowanych pęcherzyków jajnikowych test Duncana.

Wyniki i omówienie

Wyniki badań makromorfologicznych jajników obrazuje tab. 1. Podanie anty-PMSG w 72 h po PMSG (grupa A) zahamowało owulacje. W tej grupie doświadczalnej stwierdzono dwie pojedyncze owulacje, a różnica była istotna $p \leq 0,05$ w porównaniu z grupą B, w której anty PMSG podano po 120 h (średnio 8,2 owulacji u krowy) oraz z grupą kontrolną (11,8 owulacji), która otrzymała wyłącznie PMSG. Według Bevers i wsp. (2) PMSG znacząco obniża poziom, częstotliwość pulsacji i amplitudę FSH w czasie przedowulacyjnego wzrostu pęcherzyków jajnikowych. Nie wywiera natomiast w tej fazie cyklu takiego efektu na poziom i amplitudę pulsów LH. Obniżenie poziomu FSH i efekt gwałtownej wczesnej neutralizacji samego działania PMSG może być wytłumaczeniem obserwowanego zjawiska obniżenia liczby owulacji w grupie krow, u których anty-PMSG podano po 72 h. Należy sądzić, że określony w prospekcie preparatu anti-PMSG firmy Intervet okres stosowania tego preparatu już po trzech dniach od iniekcji PMSG — jest zbyt krótki. Moment neutralizacji krążącego PMSG winien wypaść po szczycie LH, który według Chupina i wsp. (4) występuje między 91 a 99 godziną od czasu rozpoczęcia stymulacji z użyciem PMSG. Szczyt ten może ulegać nieznaczniemu przesunięciu w zależności od czasu podania PGF₂ alfa. W grupie B, w której działanie PMSG neutralizowano po 120 godzinach i w grupie K — kontrolnej stymulowanej wyłącznie PMSG, liczba owulacji mierzona liczbą ciałek żółtych średnio u jednej krowy wyniosła 8,2 i 11,8 i była zbliżona do wyników uzyskanych przez Chupina i wsp. (4) oraz Dielemana i wsp. (6). Statystycznie nie stwierdzono różnic pomiędzy liczbą ciałek żółtych obu tych grup doświadczalnych.

Podanie anty-PMSG, jak wynika z danych tab. 1, obniża wyraźnie liczbę nieowulowanych pęcherzyków pozostających na jajnikach po stymulacji PMSG. W grupie A liczba nieowulowanych pęcherzyków jajnikowych była znikoma; $0,7 \pm 1,2$ średnio u jednej krowy. W grupie B stwierdzono u jednej krowy 1,7 nieowulowanych pęcherzyków, natomiast w grupie K, w której podano wyłącznie PMSG, stwierdzono obecność aż 20,4 takich pęcherzyków. Różnice te były statystycznie istotne. Tak znaczna liczba nieowulowanych pęcherzyków spowodowała, że jajniki krow grupy K odbiegały wydatnie wielkością od jajników krow grupy A i B.

Poziom progesteronu w surowicy krwi krow wszystkich trzech grup doświadczalnych, przed podaniem PMSG był zbliżony i wynosił około 4 ng/ml. Krzywa progesteronu w surowicy krwi badanych krow kształtowała się podobnie do 6 dnia. Od 6 dnia poziom progesteronu wyraźnie zaczął wzrastać w surowicy krwi krow grupy B i K, osiągając w 12 dniu doświadczenia średnie wartości $29,8 \text{ ng/ml} \pm 13,7$ i $84,2 \text{ ng/ml} \pm 72,8$. W grupie A sekrecja progesteronu pozostała niska do końcowego dnia doświadczenia, w którym średnia wartość wyniosła $3,49 \text{ ng/ml}$. Tak niską sekrecję progesteronu należy wiązać z nieliczną owulacją w tej

Tab. 1. Efekt podania anty PMSG (72 i 120 h) mierzony liczbą ciałek żółtych i nieowulowanych pęcherzyków o średnicy > 12 mm (średnia u jednej krowy)

Grupa	Liczba ciałek żółtych	Liczba nieowulowanych pęcherzyków
Grupa kontrolna K (bez anty PMSG)	$11,8 \pm 11,8^a$	$20,4 \pm 10,6^a$
Grupa A (anty PMSG) 72 h	$0,3 \pm 0,5^b$	$0,7 \pm 1,2^b$
Grupa B (anty PMSG) 120 h	$8,2 \pm 4,6^a$	$1,7 \pm 0,8^b$

Objaśnienie: a, b — średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy $p \leq 0,05$ (w pionie).

Tab. 2. Poziom progesteronu w ng/ml w surowicy krwi krow w poszczególnych grupach w przebiegu doświadczenia

Dzień dośw.	Grupa A		Grupa B		Grupa K	
	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s
0	3,88	1,05	3,83	2,07	4,24	1,85
1	6,91	2,13	6,05	2,39	4,6	2,87
2	7,1	1,23	3,8	1,36	4,6	3,63
3	0,53	0,28	0,85	0,38	0,7	0,37
3a	0,61	0,32	0,41	0,40	0,5	0,35
4	0,62	0,26	0,32	0,35	0,54	0,21
4a	0,63	0,20	0,7	0,22	0,78	0,34
5	0,51	0,29	0,40	0,36	0,73	0,33
5a	0,16	0,10	0,43	0,14	0,84	0,55
6	0,65	0,35	0,52	0,24	1,16	0,80
6a	0,48	0,64	0,70	0,32	1,42	1,19
7	0,56	0,46 ^a	1,25	0,71	5,98	5,28 ^b
8	1,27	1,44 ^a	4,78	3,14 ^b	11,76	11,36 ^b
9	1,55	1,79 ^a	6,8	4,33 ^b	16,42	16,02 ^b
10	0,88	1,92 ^a	18,14	12,22 ^b	59,64	56,59 ^b
11	0,84	0,78 ^a	27,98	14,20 ^b	68,16	55,71 ^b
12	3,49	2,16 ^a	29,8	13,70 ^b	84,82	72,85 ^b

Objaśnienie: a, b — średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy $p \leq 0,01$ (w poziomie).

grupie krow i obecnością w jajnikach jedynie dwóch ciałek żółtych. Istotność różnic w poziomie progesteronu w kolejnych dniach doświadczenia między grupami A, B i K ilustruje tab. 2. Poziom progesteronu w surowicy krwi krow grup B i K, u których efektywność wywołania superowulacji była dobra, był zbliżony do wartości podanych przez Ali Dinar i Sreenana (1). Ci sami autorzy (1) stwierdzili też korelacje między liczbą ciałek żółtych a poziomem progesteronu. Podobną zależność można było zauważyć w przedstawionym materiale badawczym w odniesieniu do pojedynczych krow ze zróżnicowaną liczbą ciałek żółtych.

Reasumując uzyskane wyniki należy ocenić pozytywnie działanie anty-PMSG, a szczególnie efekt zmniejszenia liczby nieowulujących pęcherzyków jajnikowych. Liczba owulacji uzyskanych w grupie krow, którym podano anty-PMSG po 120 h była zadowalająca i porównywalna w odniesieniu do grupy kontrolnej, która otrzymała wyłącznie PMSG. Zbyt wczesne podanie anty-PMSG może spowodować całkowite zahamowanie superowulacji. Taki efekt uzyskano podając anty-PMSG po 72 h. Efektywność owulacji znajduje odzwierciedlenie w poziomie progesteronu z chwilą wykształcenia ciałek żółtych i rozpoczęcia sekrecji tego hormonu.

Piśmiennictwo

1. Ali Dinar M. M., Sreenan J. M.: Proc. 11th Int. Congress Anim. Reprod. Art. Insem. 2. 137. 1988.
2. Bevers M. M., Dieleman S. J., Tol. H. T. M. van Blankenstein.

- D. M.: Proc. 11th Int. Congress Anim. Reprod. Art. Insem. 2, 141, 1988.
3. Bouters R., Moyaert J., Corijn M. Vandeplassche M.: Zucht-hygiene 18, 172, 1923.
4. Chapin D., Steiner M., Saumande J.: Proc. 11th Int. Congress Anim. Reprod. Art. Insem. 2, 147, 1988.
5. Dieleman S. J., Bevers M. M.: J. Reprod. Fert. 81, 533, 1987.

6. Dieleman S. J., Bevers M. M., Kruip Th. A. M.: Proc. 11th Int. Congress Anim. Reprod. Art. Insem. 2, 152, 1988.
7. Dieleman S. J., Bevers M. M., Wurth K. A., Kruip Th. A. M.: Proc. 11th Int. Congress Anim. Reprod. Art. Insem. 2, 157, 1988.

Adres autora: prof. dr hab. Zdzisław Boryczko, ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

EWA SITARSKA, ANNA WINNICKA, ELŻBIETA MALICKA,
WŁODZIMIERZ KLUCIŃSKI, STANISŁAW KRAUZE

Biologiczne skutki niskich stężeń lindanu w okresie okołoporodowym

Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką i Katedra Patologii Wydziału Weterynaryjnego
SGGW-AR, ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

Summary

Biological effects of the low lindane concentration in the perinatal period

The degree of cumulation and biological effects of low concentrations of lindane administered to pregnant females was assessed experimentally on guinea-pigs. A high concentration of γ -HCH in the mammary gland was observed during the period of lactation. The level of this compound was statistically significantly higher in the mammary gland than that in the liver. In the group of females which had been given lindane there were noted two cases of mastitis, one case of adenocarcinoma and two cases of glandular tissue atrophy and collapse of follicles. Simultaneously a very high γ -HCH concentration was observed in the mammary glands with inflammatory changes. An intensive phagocytic activity of the peripheral blood cells in relation to *S. aureus* 305 and Smith bacteria was found in the group of females contaminated with lindane. An increased number of Heinz bodies and rings in erythrocytes were also noted; they indicated that some changes in the structure of haemoglobin and erythrocytic membranes took place. The values of haematological (morphology) and biochemical parameters (transaminase, cholesterol) in the control and experimental animals were within the species limits.

Zagadnienie pozostałości chlorowanych węglowodorów w ekosystemie, mimo formalnego zakazu stosowania DDT, jest ciągle aktualne i pozostaje w zakresie zainteresowania zarówno higienistów żywności, jak i klinicystów (4).

Pestycydem chloroorganicznym dopuszczonym do użytku jest sześciochlorocykloheksan. Najczęściej stosowaną formą jest czysty izomer γ -HCH zwany lindanem. Związek ten, o niewielkiej toksyczności ostrej, podlega jednak gromadzeniu w tkance tłuszczowej (7, 10). W piśmiennictwie ostatniego dziesięciolecia są doniesienia o klinicznych skutkach zatrucia lindanem wśród zwierząt i ludzi (5, 8, 9). Niewiele wiadomo na temat następstw wynikających z kumulacji tego związku, zwłaszcza w okresie okołoporodowym w relacji samica ciężarna — gruczoł mlekowy — mleko — noworodek.

Założeniem pracy było doświadczalne odtworzenie warunków kumulacji i wielostronne zbadanie biologicznych skutków niskich stężeń lindanu podawanego samicom w okresie okołoporodowym. Celem podjętych badań było:

- określenie stopnia kumulacji γ -HCH w gruczole mlekowym w okresie laktacji,
- porównanie stężeń γ -HCH w wątrobie i gruczole mlekowym samic w okresie laktacji,
- określenie wpływu różnych stężeń tego związku na strukturę tkankową gruczołu mlekowego, wątroby i nerek,
- określenie wpływu różnych stężeń lindanu na wybrane parametry hematologiczne i biochemiczne samic oraz ich potomstwa.

W badaniach uwzględniono: ocenę funkcji wątroby, stan błon erytrocytarnych oraz odporność komórkową.

Materiał i metody

Doświadczenia zostały przeprowadzone na świnkach morskich. Ciężarne świnki morskie pocono lindanem w roztworze olejowym w stężeniach 0,04 i 0,4 mg/ml dziennie przez okres około 16 dni przed porodem i 12 dni po porodzie. Dawki te stanowiły 0,1 i 1% LD₅₀. Zwierzęta podzielono na 3 grupy. Grupa „0” stanowiła kontrolę i otrzymywała olej w dawkach 1 ml/szt. dziennie w okresie 4 tygodni. Grupa I — otrzymywała lindan w dawce dziennej 0,04 mg/szt. Dawka całkowita w ciągu 28 dni kontaminacji wynosiła 1,1 mg lindanu/szt. Grupa II — otrzymywała w takim samym układzie doświadczalnym dawkę 10-krotnie większą, wynoszącą 11,2 mg/szt. przez 4 tygodnie. Po porodzie potomstwo pozostawało przy matkach do 12 dnia. Następnie zwierzęta usypiano i pobierano materiał do dalszych badań.

Oznaczenie bezwzględnych stężeń γ -HCH w wątrobie i gruczołach mlekowych matek oraz w wątrobie potomstwa przeprowadzono metodą przewidzianą dla analityki pestycydów w mięsie (6).

Ocenę histopatologiczną gruczołów mlekowych, wątrób i nerek wykonano wg ogólnie przyjętych metod. Skrawki utrwalano 4% zobojętnioną formaliną, następnie parafinowano i barwiono metodą przeglądową „H-E” oraz metodą PAS. Dodatkowo wykonano badania na zawartość tłuszczu — mroźne skrawki barwiono Sudanem III (2).

Oceny funkcji wątroby samic dokonano poprzez oznaczenie stężenia transaminazy alaninowej i asparaginowej we krwi obwodowej metodą Reitmana i Frankla (3) oraz cholesterolu całkowitego metodą Błaszczyszyna (1).

Stan odporności komórkowej samic określano oznaczając aktywność fagocytarną granulocytów krwi obwodowej w stosunku do *S. aureus* nie wymagającego opsonizacji szczepu 305 oraz opsonizowanego szczepu *S. aureus* Smith (szczepu *Staphylococcus aureus* pochodzący z Nationale Center-Ames USA). Preparaty barwiono odczynnikami Giemsi, określano odsetek komórek fagocytydujących i liczbę sfagocytowanych bakterii.

Dla oceny stanu błon erytrocytarnych u samic i potomstwa wykonano badania oporności osmotycznej erytrocytów, uwzględniając początkową i końcową wartość hemo-