

ROZRÓD ZWIERZĄT

ZOFIA MICHALSKA, WITOLD GOLNIK *

Zmiany morfologiczne u płodów poronionych w wyniku zakażenia wirusem zapalenia tętnic koni

Katedra Anatomii Patologicznej i Weterynarii Sądowej, * Katedra Mikrobiologii Weterynaryjnej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław

Summary

Morphological changes in tissues of aborted fetuses infected spontaneously with Equine arteritis virus

The results of autopsy finding, histopathological and virological examinations of 44 spontaneously aborted fetuses of breed mares are described. In cultures of rabbit kidney cells (RK-13) from the specimens of the spleen, liver and lungs of 18 fetuses Equine arteritis virus (EAV) was isolated. In 11 cases subicteric cases, transudation in body cavities, haemorrhages in serous membranes and haemostasis in mesenteric vessels was observed.

Histopathological examinations of the fetuses revealed atrophy of lymphatic tissue in the spleen and mesenteric lymph nodes. Changes characteristic of EVA were seen in arterioles of muscular type of 6 fetuses but they were poorly pronounced. Some cells of tunica adventitia were congested and hyaline changes and disintegration of media of tunica intima was also visible. Small inflammatory infiltrations in the arterioles were observed only in two examined fetuses.

Wirusowe zapalenie tętnic koni (Equine Viral Arteritis — EVA) stanowi aktualnie znaczne zagrożenie dla hodowli i obrotu końmi rasowymi. W warunkach naturalnych choroba nie doprowadza do śmierci zwierząt, choć padnięcia wśród źrebiąt były już notowane (8, 9). Największe straty powodowane są roniąciami płodów przez ciężarne klacze, bo mogą obejmować 40—50% matek (6, 8, 10, 12), a przy zakażeniach eksperymentalnych dochodzą nawet do 90% (1, 3).

Od kilkunastu lat Katedra Anatomii Patologicznej i Weterynarii Sądowej oraz Katedra Mikrobiologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR we Wrocławiu prowadzą badania nad występowaniem EVA na terenie kraju. W niniejszej pracy przedstawiono obraz sekcyjny i histopatologiczny stwierdzany u poronionych płodów. W piśmiennictwie światowym istnieją rozbieżne poglądy na ten temat. Większość autorów uważa, że zakażenie wirusem zapalenia tętnic koni (Equine Arteritis Virus — EAV) u poronionych płodów nie wywołuje żadnych lub powoduje tylko nieznaczne zmiany patomorfologiczne (1, 2, 5, 6, 7, 13).

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 44 poronionych płodach końskich pochodzących w większości przypadków z kilku dużych stadnin koni pełnej lub półkrwi angielskiej. Z każdego płodu w trakcie sekcji pobierano wycinki płuc, wątroby i śledziony do badań wirusologicznych. W ich wyniku stwierdzono: w 18 przypadkach obecność wirusa EA, w 11 zakażenie Herpeswirusem koni, a u 15 płodów wirusa nie izolowano. Izolację i identyfikację wirusów podał Golnik (11) w osobnym doniesieniu.

W grupie 18 płodów z wyizolowanym wirusem EA, 3 były poronione w 5 lub 6 miesiącu ciąży, a 15 w okresie od 7 do 10 miesiąca ciąży. Czternaście płodów pochodziło z jednej stadniny S, w której w ostatnich latach stale występowały sporadyczne ronięcia.

Po wykonaniu sekcji, wycinki narządów wewnętrznych płodów zatapiano w parafinie i barwiono metodą rutynową (H-E).

Wyniki i omówienie

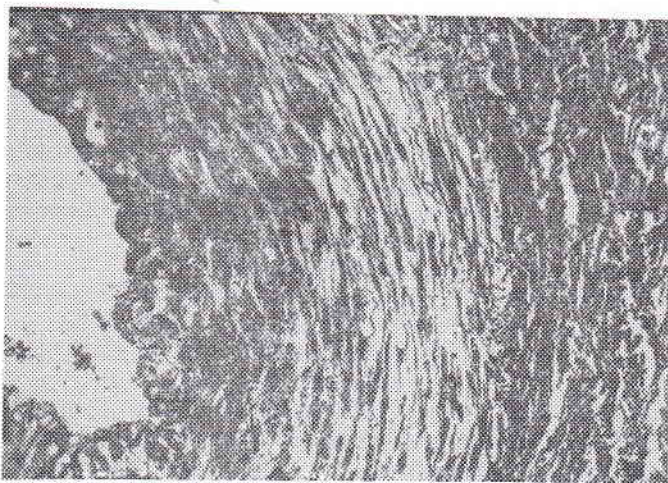
Badanie sekcyjne. Spośród 18 płodów poronionych w wyniku EVA, u 5 zaawansowany proces gnilny zacieśniał obraz sekcyjny, a u 2 nie stwierdzono zmian chorobowych. U 11 płodów stwierdzono zmiany podobne, ale o różnym stopniu nasilenia. Charakterystyczną cechą była żółtaczka, u 2 płodów wyraźna, a u 5 słabiej rozwinięta (stan podżółtaczkowy). Jamy ciała były u większości wolne od zawartości patologicznej. Tylko w 4 przypadkach stwierdzono płyn przesączynowy w jamie brzusznej, a w 2 z nich również w jamach opłucnowych i w worku osierdziowym. Powszechnie występowała wybroczynowość. Najliczniejsze wybroczyny, a wyjątkowo i wylewy krwawe, stwierdzono pod nasierdziem w okolicy uszek serca i pod torebką śledziony. Rzadziej znajdowano je pod opłucną żebrową i płucną, a w 1 przypadku również w grasicy, śródpiersiu, wątrobie i nerkach. Prawie zawsze naczynia żyłne krezki jelitowej były znacznie wypełnione krwią, a błona śluzowa jelit cienkich wykazywała podostry stan nieżytowy. Żołądek i jelita grube nie zmienione. Wątroba przekrwiona zastoinowo, u 7 płodów była nadto powiększona i krucha. Obrzęk zastoinowy śledziony obserwowano rzadko, tylko w 3 przypadkach. Częściej niewielki obrzęk węzłów chłonnych krezkowych, u 2 płodów wyraźny. Prawie zawsze nerki były zastoinowo przekrwione, ale z zachowaną granicą pomiędzy obiema warstwami. Płuca bezpowietrzne, u kilku płodów lekko obrzękłe i przepojone krwią żylną. Duże oskrzela i mięsień sercowy nie były zmienione, ale grasicą i nadnerczami zwykle zastoinowo przekrwione. W obrębie powłok zewnętrznych, podskórza i mięśni szkieletowych (poza zażółceniem) oraz układu rozrodczego zmian chorobowych nie znaleziono. Układu nerwowego i sporadycznie nadsyłanych błon płodowych nie badano.

Badanie histopatologiczne. W wątrobie płodów obserwowano zastój zhemolizowanej krwi żyłnej. Często hepatocyty ulegały zwyrodnieniu wodniczkowemu lub miąższowemu, a w jednym przypadku i tłuszczowemu. U 6 płodów stwierdzono rozplam komórek układu siateczkowo-śródbłonkowego oraz obecność drobnych, limfo-histiocytarnych nacieków, zwłaszcza w sąsiedztwie naczyń (ostatnie w 3 przypadkach). U 1 płodu tkanka łączna podtorebkowa i międzyrazikowa wykazywała surowiczy obrzęk. W nerkach prócz zastoiny, spotkano zwyrodnienie miąższowe nabłanka kanalików kory głębokiej. Najczęściej bezkrwiste kłębki nerkowe miały zwartą budowę sieci naczyńkowej. Wyjątkowo rozplamowi ulegał układ siateczkowo-śródbłonkowy nerek. Mięsień sercowy zmian nie wykazywał. Płuca

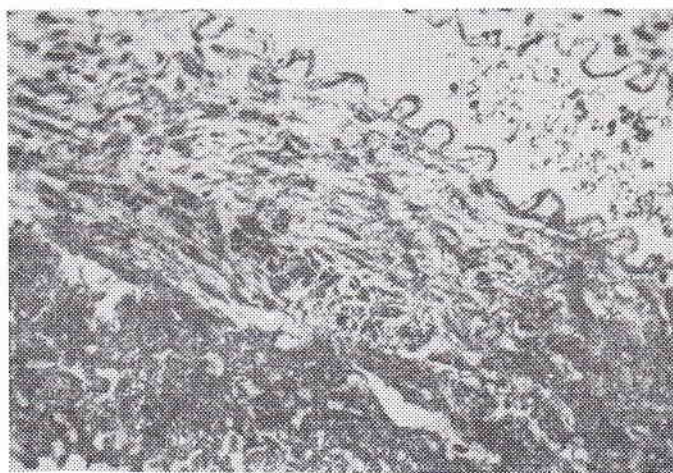
niedodmowe i żylnie przekrwione, tylko w kilku przypadkach miały obrzękłą tkankę podopłucnową i międzypłacikową. W śledzionie ok. 50% płodów stwierdzono mierny zastój żylny miazgi czerwonej. Najbardziej charakterystyczne we wszystkich śledzionach było wyraźne zmniejszenie ilości miazgi białej, gdyż grudki chłonne, choć dość liczne, zawierały bardzo mało limfoblastów i limfocytów. W ich obrębie dominowały komórki siateczki lub były pozbawione większości komórek i wtedy swą luźną budową przypominały siatkę o dużych oczkach. Podobne zmiany obserwowano w węzłach chłonnych krezkowych, jednak ubytki w utkaniu limfatycznym były tu mniejsze. Węzły krezkowe cechował nadto zastój żylny i surowiczy obrzęk. W zmienionych odcinkach jelita cienkiego obserwowano obrzęk i złuszczenie się nabłonka kosmków, zwiększoną liczbę komórek kubkowych oraz przekrwienie naczyń błony śluzowej i podśluzowej. Nie znaleziono nacieków zapalnych. Nadnercza badano tylko u 6 płodów. Nie stwierdzono zmian w układzie warstw, ani w budowie komórek, ale w 3 przypadkach nadnercza były silnie przekrwione i w warstwie podtorebkowej zawierały małe wylewy krwawe. Wyrwykowo badane tarczycy i męskie gruczoły płciowe zmian nie wykazywały.

Z 11 płodów, u których sekcyjnie i histopatologicznie stwierdzono zmiany narządowe, u 6 znaleziono również zmiany w tętniczkach typu mięśniowego. Dotyczyły one naczyń głównie krezki jelitowej, zarówno korzenia przedniego, jak i tylnego. Rzadziej i w słabszym nasileniu znajdowano je w naczyniach tętniczych tkanki łącznej okołonarządowej i w torebce nadnerczy, węzłów krezkowych, nerek i śledziony, jak również w mięszu płuc. Najczęściej obserwowano obrzęk przydanki oraz komórek śródbłonka. Czasem napęczniałe śródbłonki ulegały oderwaniu od podłoża i wtedy obnażały włókna błony elastycznej wewnętrznej. Zakrzepy w świetle naczyń spotykano wyjątkowo. W warstwie środkowej zmienionych tętniczek najczęściej była widoczna wyraźna fragmentacja i rozpad mediacytów oraz napężnienie nielicznych włókien sprężystych (ryc. 1). Czasem cytoplazma mediacytów ulegała zmianom szklistym, ale częściej tylko słabiej wybarwiała się barwnikami kwaśnymi. Prawie zawsze obserwowano większą lub mniejszą dysocjację włókien mięśni gładkich w stosunku do prawidłowego ich układu. U 2 płodów poronionych w 10 miesiącu ciąży znaleziono nacieki zapalne, złożone przeważnie z komórek limfo-histiocytarnych. Były jednak nieliczne, występowały najczęściej w przydancie i rzadko penetrowały do warstwy środkowej naczynia (ryc. 2). Nacieki te spotkano jedynie w naczyniach krezki jelitowej i mięszu płucnego. Dość często w luźnym utkaniu tkanki łącznej, otaczającej węzły i naczynia krezki, znajdowano rozsiane, drobne lub większe skupiska komórek limfoidalnych.

Wielu autorów uważało, że poronione w wyniku infekcji EAV płody końskie nie wykazują charakterystycznych zmian chorobowych. Miało to dotyczyć zarówno poronień spontanicznych jak i eksperymentalnych. Jedynie Doll i wsp. (6) obserwowali u kilku płodów poronionych w 2 fermach koni, zmiany sekcyjne podobne do naszych spostrzeżeń. U niektórych z tych płodów zauważono lekką żółtaczkę, wybroczynowość w obrębie błon śluzowych, błon surowiczych serca, płyn przesączynowy w jamach opłucnowych, nieznaczny obrzęk płuc oraz dość wyraźny obrzęk i przekrwienie węzłów śródpiersiowych i krezkowych. Narządy mięszowe i śledziona nie wykazywały zmian. Badanie histo-



Ryc. 1. Obrzęk i rozpad mediacytów w tętniczkach krezki jelitowej. H-E, pow. 250 ×



Ryc. 2. Skąpe nacieki zapalne wnikaające do warstwy środkowej tętniczki krezki jelitowej. H-E, pow. 250 ×

patologiczne ścian naczyń było negatywne. W późniejszych latach Cole i wsp. (3) podali krótką wzmiankę o sporadycznie występującym *vasculitis* w mięszu sercowym płodów, przy braku zmian naczyń w innych narządach. Dopiero ostatnio ukazała się publikacja Johnsa i wsp. (12), która donosi o wybuchu *arteritis* w fermie koni rasowych w stanie Oklahoma (USA) w 1987 r. Autorzy podają bardzo dokładny opis zmian histopatologicznych w narządach wewnętrznych i błonach płodowych u 2 poronionych płodów. Zamieszczony w niniejszej pracy opis zmian naczyń, można uważać za pierwszy w piśmiennictwie światowym odnośnie do płodów poronionych w wyniku EVA. Zaburzenia w utkaniu ścian średnich i małych tętnic opublikowane przez Johnsa i wsp. (12) były zaawansowane i dotyczyły naczyń łożyska, mózgu, wątroby, śledziony, nerek, nadnerczy, węzłów krezkowych i płuc. Obserwowano rozległą martwicę warstwy środkowej tętnic, poprzedzoną przez zmiany szkliste i fragmentację mediacytów. Nierzadko ogniska martwicy obejmowały też warstwę wewnętrzną, zwłaszcza śródbłonek. Nadto nacieki zapalne przepajały całą ścianę tętniczek. Powyższe zmiany naczyń, pod względem rozległości i natężenia, były prawie identyczne z obserwowanymi u padłych źrebiąt i koni po infekcji eksperymentalnej dużymi dawkami wirusa (4, 13, 14). W naszym materiale zmiany naczyń były o wiele słabiej rozwinięte i odpowiadały opisowi zmian podanemu przez

Golnika i wsp. (9) u 2 źrebiąt padłych w wyniku zakażenia spontanicznego. Można by zatem przypuszczać, że rozległość i zaawansowanie zmian naczyniowych przy EVA jest uzależnione od wielu czynników, zapewne jeszcze całkowicie nie wyjaśnionych. Napewno należy brać pod uwagę indywidualną wrażliwość organizmu na czynniki zewnętrzne i wewnętrzne, stopień nasilenia infekcji oraz zjadliwość wirusa. O nasileniu zmian decyduje również czas trwania choroby, na co zwrócili uwagę w swych badaniach Crawford i wsp. (4). Należy też nadmienić, że u koni doświadczalnie zakażanych, najbardziej rozległe i rozwinięte zmiany w naczyniach pojawiały się dopiero w późnym okresie rekonwalescencji, gdy we krwi występowały już przeciwciała (14). Może to sugerować, że EVA jest chorobą kompleksów immunologicznych, podobnie jak *periarteritis nodosa*, *lupus erythematosus* i *morbus seri* (choroba posurowicza), występujące głównie u człowieka.

Podsumowując wyniki powyższych badań płodów końskich można przyjąć, że zmiany sekcyjne i mikroskopowe narządów przy EVA, nie są na tyle charakterystyczne aby stanowiły podstawę do diagnozowania ronień. Również zmiany naczyniowe występujące tylko w ok. 30% przypadkach, są mało uchwytne i wymagają

doświadczenia histopatologicznego w tym zakresie. Stąd też zawsze rozstrzygające będzie rozpoznanie wirusologiczne. Badania morfologiczne płodów są tylko cennym uzupełnieniem całokształtu badań nad wirusowym zapaleniem tętnic koni.

Piśmiennictwo

1. Brion A., Fontaine M., Moraillon R.: Recl. Med. Vet. 143, 17, 1967.
2. Colnoul F. L., Chevill N. F.: Vet. Pathol. 21, 333, 1984.
3. Cole J. R., Hall R. F., Gosser H. S., Hendricks J. B., Pursell A. R., Senne D. A., Pearson J. E., Gipson C. A.: J. Am. Vet. Med. Ass. 189, 769, 1986.
4. Crawford T. B., Henson J. B.: Proc. 3-rd Int. Conf. Equine Infect. Dis., Paris 1972, Karger, Basel 1973, s. 232.
5. Doll E. R., Bryans J. T., McCollum W. H., Crowe M. E. W.: Cornell Vet. 47, 3, 1957.
6. Doll E. R., Knappenberger R. E., Bryans J. T.: Cornell Vet. 47, 69, 1957.
7. Estes P. C., Chevill N. F.: Am. J. Pathol. 58, 235, 1970.
8. Golnik W., Michalak T.: Medycyna Wet. 35, 665, 1979.
9. Golnik W., Michalska Z., Michalak T.: Schweizer Arch. Tierheil. 123, 523, 1981.
10. Golnik W., Moraillon A., Golnik J.: J. Vet. Med. B, 33, 413, 1986.
11. Golnik W.: Bull. Six Int. Conf. Equine Infect. Dis., Cambridge 1991, s. 82.
12. Johnson B., Baldwin C., Timoney P., Ely R.: Vet. Pathol. 28, 248, 1991.
13. Jones T. C., Doll E. R., Bryans J. T.: Cornell Vet. 47, 52, 1957.
14. Prickett M. E., McCollum W. H., Bryans J. T.: Proc. 3-rd Int. Conf. Equine Infect. Dis., Paris 1972, Karger, Basel 1973, s. 265.

Adres autora: prof. dr hab. Zofia Michalska, ul. Żaka 24, 51-640 Wrocław

KRZYSZTOF BORKOWSKI, JADWIGA TORSKA, JERZY STRZEŻEK

Wpływ częstotliwości ejakulacji na jakość nasienia oraz mechanizmy zabezpieczające układ rozrodczy tryka przed proteolizą

Katedra Biochemii Zwierząt Wydziału Zootechnicznego AR-T,
ul. Oczapowskiego 5, 10-718 Olsztyn

Summary

The effect of ejaculation frequency on semen quality and the mechanism protecting ram reproductive system against proteolysis

Four rams of Polish long-wool sheep were intensively used in course of one year in an experimental scheme: 10 periods of semen collection, 10 ejaculation daily for 10 consecutive days in each period.

It was found that the concentration and number of spermatozoa decreased significantly in the last (10th) ejaculates compared to the first ones. Apart from these qualitative changes connected with intensive use of the animals, it was also noted that the season of semen collection affected semen quality. The highest concentration and number of spermatozoa was observed in the ejaculates collected during the period November-March, the lowest ejaculate volumes were recorded in spring, whereas percentage of spermatozoa with damaged acrosomes was noticeably higher in July and August.

Increased frequency of ejaculation was connected with possibly lower share of epididymis secretion in the ejaculate. This resulted in considerable decrease of the activity of plasmatic proteinase inhibitors in the last (10th) ejaculates.

Studies showed that changes in the inhibitor activity in ram seminal plasma in the annual cycle were caused by variations in the intensity of secretion of these substances, as well as bonding of the inhibitors by proteinase liberated from damaged acrosomes. Intensive sexual exploitation of rams may lead to some disturbances in the system protecting seminal proteins against unspecific proteolysis.

Użytkowanie rozpiodowe tryka w ciągu całego roku stanowi podstawowy problem w intensywnym chowie

owiec. Zachowanie płciowe i produkcja nasienia u tryka stymulowane są skracaniem długości dnia świetlnego (3, 4, 6, 7, 8). Omawiane zjawisko występuje niezależnie od rasy i przebiega podobnie w naturalnych warunkach świetlnych, jak i przy stosowaniu kontrolowanych, sztucznych cykli świetlnych (3, 5, 6, 7, 8). Z powyższych względów poznanie mechanizmów warunkujących sezonowe zmiany aktywności nabłonka plemnikotwórczego u tryka, z uwzględnieniem wpływu częstotliwości ejakulacji na właściwości biologiczne i zdolność zapładniająca nasienia tego gatunku zwierząt, ma szczególnie istotne znaczenie.

Jennings i McWeeney (cyt. 1) stwierdzili, że liczba plemników w ósmym z kolejno uzyskanych ejakulatów może obniżyć się do poziomu uniemożliwiającego zapłodnienie komórki jajowej, natomiast Amir i wsp. (1) nie obserwowali wpływu zwiększonej częstotliwości ejakulacji na płodność tryków. Badania Udały i wsp. (15) wskazują na występowanie zauważalnej sezonowości dotyczącej jakości nasienia polskich ras tryków.

Celem pracy było określenie wpływu intensywnej eksploatacji płciowej tryka na właściwości biologiczne nasienia.

Materiał i metody

W doświadczeniu przeprowadzonym w cyklu rocznym uwzględniono dziesięć 10-dniowych serii pobierania nasienia oraz 20- i 40-dniowe przerwy w użytkowaniu zwierząt (tab. 1). Nasienie pobierano przy użyciu sztucznej pochwy od 4 tryków rasy polska owca długowłosa w wieku 3-4 lat, po 10 ejakulatów od każdego zwierzęcia w kolejnych dniach serii. W czasie doświadczenia tryki utrzymy-