

IWONA SZATKOWSKA, JAN UDAŁA *, ALEKSANDRA CHOMICZEWSKA-MAZARAKI

Przypadek leukocytarnego chimeryzmu komórkowego u nieplodnej maciorki rasy merynos polski

Katedra Hodowli Bydła i Owiec Wydziału Zootechnicznego AR,
ul. Doktora Judyma 10, 71-460 Szczecin
* Katedra Higieny i Rozrodu Wydziału Zootechnicznego AR,
ul. Doktora Judyma 6, 71-460 Szczecin

Summary

A case of leukocytic chimerism in an intertile Polish merino ewe

Cytogenetic studies were carried out involving 17 Polish merino ewes which were culled out as infertile because they remained barren in the course of two consecutive breeding seasons. Two among these females originated from twin pairs of different sex. Leukocytic chimerism 54,XX/54,XY characterized by the presence of two cell lines genetically differing by sex chromosomes was identified in one female. This ewe which was born in pair with a male possessed 41% of her male co-twin's cells.

During clinical examinations before slaughter a constriction of the vulva and vagina and enlargement of the clitoris were found. These changes would indicate the possibility of the incidence of similar deformations in structure of other parts of the genital tract. Gross examinations which were done, however, did not confirm these suppositions because the size and structure of the genital tract were identical to those in mature females. This leukocytic cell chimerism does not always manifest itself by an abnormality of female genital organs. This fact has been also confirmed by the results obtained by other authors.

Zjawisko frymartynizmu, objawiające się występowaniem dwóch różnych genetycznie populacji komórek w układzie krwiotwórczym osobników, pochodzących z ciąży bliźniaczych różnopłciowych z towarzyszącymi zmianami w układzie rozrodczym samicy, zostało szeroko opisane u bydła (3, 16, 25, 27, 29). Analogiczne przypadki bezpłodnych maciorek opisywano również u owiec, określając częstotliwość występowania powyższej anomalii rozwojowej na 1,1—6,9% (7, 10, 12, 13, 17, 26). Mechanizmy prowadzące do nieplodności samic związane są z pojawieniem się we wczesnym życiu zarodkowym anastomoz, czyli połączeń tętniczo-żylnych między łożyskami bliźniaczych płodów, co umożliwia mieszanie się komórek tkanki krwiotwórczej z równoczesnym oddziaływaniem na siebie układów hormonalnego oraz immunologicznego (1, 23). Konsekwencją wystąpienia anastomoz są liczne zmiany struktur pochodnych przewodów Müllera, obok których pojawiają się struktury pochodne przewodów Wolffa (1, 8, 15, 17, 23). Obserwuje się także niedorozwój gonad, przy czym istnieje pozytywna korelacja między stopniem maskulinizacji gruczołów płciowych a zasięgiem i wczesnym okresem wystąpienia fuzji na-

czyniowych, toteż zmiany anatomiczne gonad opisywanych dotąd przypadków chimerycznych samic mogą być sklasyfikowane w czterech kategoriach jako: aplastyczne gonady o niezidentyfikowanym charakterze, dysgenetyczne jajniki, ovotestis i dysgenetyczne jądra (5, 7). Należy ponadto nadmienić, iż opisano przypadki chimerycznych samic, u których wyjątkowo obserwowano występowanie rui, a podobojowo stwierdzano obecność ciałek żółtych, świadczących o prawidłowym funkcjonowaniu jajników (2, 27).

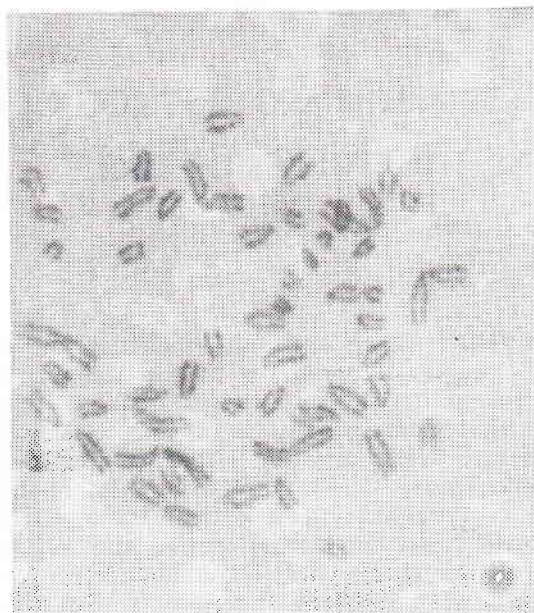
Zmianom klinicznym narządu rozrodczego frymartynów towarzyszy chimeryzm erytrocytarny, wyrażający się obecnością u każdego z bliźniąt cech antygenowych warunkowanych genetycznie przez własny organizm oraz cech antygenowych współbliźniaka (22, 25, 26), a także chimeryzm komórkowy, czyli obecność dwóch różnych genetycznie komórek w krwiobiegu osobników bliźniaczych (9, 13). Ponadto następuje wymiana tkanek, powodująca zniesienie bariery immunologicznej między współbliźniakami, które tolerują wzajemne przeszczepy (22).

Na osobną uwagę zasługuje ocena przydatności do rozplodu samców, wykazujących chimeryzm limfocytarny i pochodzących z urodzeń bliźniaczych różnej płci. Dotychczasowe badania tego zagadnienia nie dostarczyły jednoznacznej odpowiedzi na to pytanie, aczkolwiek przeważają sugestie wskazujące na niższą wartość hodowlaną chimerycznych samców (6, 20, 24, 27, 28). Dotyczy to morfologii, ruchliwości i przeżywalności plemników, nad akrosomu, a nawet aspermii. Obserwowano ponadto zmiany degeneracyjne w obrębie jąder. Mechanizmy zaburzające prawidłowe funkcjonowanie jąder oraz przebieg spermatogenezy nie zostały jednak do dzisiaj w sposób pełny wyjaśnione, co dodatkowo utrudniają pewne sprzeczności w doniesieniach na temat wartości hodowlanej samców — nosicieli chimeryzmu komórkowego (11, 14).

Tak więc problem frymartynizmu owiec pozostaje nadal otwarty, a jego skutki, zarówno w odniesieniu do samic, jak i samców, mogą przybierać różne formy, które niejednokrotnie nie zostają prawidłowo zdiagnozowane, tym bardziej, iż nie tylko frymartynizm, ale i inne przyczyny nieplodności owiec związane z nieprawidłowościami kariotypu do tej pory w Polsce nie były przedmiotem szczegółowych badań. Dlatego też przedstawienie przypadku nieplodnej, chimerycznej maciorki uznano za celowe z poznawczego i praktycznego punktu widzenia.

Materiał i metody

Badaniami cytogenetycznymi objęto 17 maciorek rasy merynos polski, które z uwagi na dwukrotne jałowienie w kolejnych sezonach rozplodowych zostały usunięte ze stada jako nieplodne. Wśród nich dwie samice pochodziły z urodzeń bliźniaczych różnej płci.



Ryc. 1. Płytkę metafazalną chimerycznej maciorki, przedstawiającą żeński zestaw chromosomów, czyli $2n = 54XX$

Analizę kariotypu wykonano w oparciu o hodowlę limfocytów krwi obwodowej. Preparaty chromosomowe barwiono rutynowo barwnikiem Giemsy. Dla każdego osobnika analizowano 40–50 czytelnych płytek metafazalnych, natomiast w odniesieniu do chimerycznej samicy analizą objęto 100 takich płytek, w celu dokładnego określenia procentu komórek własnych i komórek jej współlożniaka.

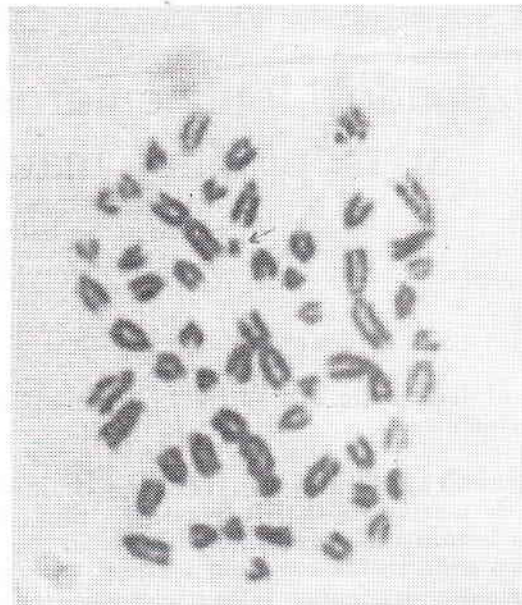
Ponadto poubojowo wykonano szczegółowe badania anatomiczne układu rozrodczego chimerycznej samicy.

Wyniki i omówienie

W grupie 17 cytogenetycznie ocenionych macierek, 16 posiadało prawidłowy dla tego gatunku (*Ovis aries*), żeński zestaw chromosomów, w ilości $2n = 54XX$ (ryc. 1). Sześć chromosomów autosomalnych należało do grupy metacentrycznych, natomiast pozostałe autosomy sklasyfikowano jako akrocentryczne. Chromosomy płci XX u owiec należą do grupy chromosomów akrocentrycznych o bardzo krótkich ramionach p i są trudne do identyfikacji z uwagi na duże podobieństwo do innych chromosomów akrocentrycznych (18, 19, 22), toteż płytki metafazalne charakteryzowano jako żeńskie na podstawie diploidalnej liczby chromosomów oraz obecności lub braku chromosomu Y. Przedstawiony kariotyp owcy jest zgodny ze wzorcem podanym przez Long (18).

Wśród badanego materiału zidentyfikowano jedną samicę, wykazującą w komórkach leukocytar-nych chimerizm, objawiający się występowaniem dwóch, genetycznie różniących się chromosomami płci linii komórkowych (ryc. 2). W płytkach metafazalnych męskich chromosom płci Y jako najmniejszy metacentryk w kariotypie owcy (18), był łatwy do identyfikacji.

Samica ta, urodzona w parze z bratem, posiadała 41% komórek męskich współlożniaka, którego — z uwagi na wcześniejsze wybrakowanie ze stada — nie można było poddać ocenie chromosomowej. Na odsetek obcych komórek w krwiobiegach chimerycznej owcy mogła mieć wpływ ilość połączeń naczyniowych pomiędzy łożyskami bliźniaczych płodów, a także moment zapoczątkowania funkcji układu krążenia (27). Niemniej jednak z obserwacji opra-



Ryc. 2. Płytkę metafazalną tej samej maciorki z męskim zestawem chromosomów, czyli $2n = 54XY$. Strzałką wskazano chromosom Y

cowanych przez innych autorów (11, 13, 15) wynika, iż zasadniczy wpływ na kształtowanie się żeńskiego układu rozrodczego ma już samo wystąpienie chimerizmu, nie zaś procentowy udział męskich komórek współlożniaka.

W przeprowadzonym badaniu klinicznym przed ubojem zwierzęcia stwierdzono zwężenie sromu i pochwy oraz powiększenie lechtaczki. Wskazywało to na możliwość występowania zmian w budowie anatomicznej innych odcinków układu rozrodczego tym bardziej, iż badana maciorka masą ciała wynoszącą 96 kg, pokrojem oraz agresywnym sposobem zachowania się w stadzie bardziej odpowiadała samczemu wzorcowi rasowemu dla merynosa polskiego. Wykonane badanie sekcyjne nie potwierdziło jednak tych przypuszczeń. Poza stwierdzonym wcześniej zwężeniem sromu i pochwy, której długość wynosiła 2 cm, w pozostałych częściach przewodowych badanego narządu rodnego brak było uchwytliwych zmian anatomiczno-patologicznych. Wielkością narząd ten odpowiadał narządowi rodnemu dorosłej owcy (4).

Kształt jajników był kulisty, lekko spłaszczony, przy czym lewy był większy od prawego. Długość jajnika lewego wynosiła 1,6 cm, a prawego 1,4 cm, szerokość i grubość odpowiednio 1,4 i 1,2 oraz 0,9 i 1,0 cm. Stan tych gruczołów wskazywał na przebiegające w nich procesy czynnościowe, zwłaszcza w lewym jajniku. W warstwie korowej tego jajnika występowały bowiem liczne wzrastające pęcherzyki jajnikowe, dwa ciała żółte oraz ciała białawe. Na prawy jajniku znajdowały się tylko niewielkie pęcherzyki jajnikowe o grubej, szklistej osłonce.

Uzyskane wyniki wskazują, iż leukocytar-ny chimerizm komórkowy nie zawsze manifestuje się nieprawidłowościami w budowie żeńskiego układu rozrodczego, chociaż zdecydowana większość opisanych dotąd przypadków frymartynek owczych i bydłych wykazywała różnego stopnia obojnactwo (9, 13, 15, 17, 23, 26). Podobne wyniki przedstawił Sysa (27), a także Balbierz (2), obserwując wyjątkowe

występowanie rui, potwierdzone badaniami sekcyjnymi i histologicznymi, w wyniku których stwierdzono występowanie ciałek żółtych.

Z uwagi na genetyczną predyspozycję owiec do ciąży bliźniaczych i mnogich oraz ekonomiczne konsekwencje wynikające z pozostawiania do dalszej hodowli nieplodnych macierek z urodzeń bliźniaczych różnej płci, należałoby wykonać szczegółowe badania immuno- i cytogenetyczne nad frymartyzmem u owiec. W innych krajach dyskutuje się nad włączeniem tego typu obserwacji do programów hodowlanych poprawiających płodność, która w naszych warunkach pozostaje na dosyć niskim poziomie.

Piśmiennictwo

- Alexander G., Williams D.: Nature 201, 1293, 1964.
- Balbiez H., Geringer H., Kaczmarek A., Nikolajczuk M.: Weterynaria, Wrocław 72, 9, 1987.
- Balbiez H.: Medycyna Wet. 37, 449, 1971.
- Biegański W.: Rozród zwierząt. PWRiL, Warszawa, 1979.
- Borzkowski K.: Determinacja i różnicowanie płci. PWN Warszawa, 1983.

- Cribiu E. P., Popescu C. P.: Proc. 5th Europ. Colloq. Cytogenet. Domest. Anim., Molano-Gargnano, 1982, s. 215.
- Cribiu E. P., Duand W., Chaffaux St.: Recl. Med. Vet. 166, 919, 1991.
- Dain A. R., Tucker E. M.: Proc. Roy. Soc. Lond. B. 175, 183, 1970.
- Dain A. R.: J. Reprod. Fert. 24, 91, 1971.
- Dain A. R.: J. Anat. 118, 53, 1974.
- Dunn H. O., Mcntee K., Hall C. E., Johnson R. M., Stone H. W.: J. Reprod. Fert. 57, 21, 1979.
- Gill J. J. B., Davies D. A. R.: Abstr. 9th Europ. Colloq. Cytogenet. Domest. Anim., Toulouse-Auseville, 1990, s. 18.
- Gustafsson I., Ann. Genet. Sel. Anim. 9, 531, 1977.
- Johnson G., Gustafsson I.: J. Heredity 60, 175, 1969.
- Just A., Vigier B., Prejta J.: J. Reprod. Fert. 23, 349, 1972.
- Long S. E.: Vet. Rec. 106, 175, 1980.
- Long S. E.: Adv. Vet. Sci. 34, 109, 1989.
- McFee A. F., Banner M. W., Murphree R. L.: J. Anim. Sci. 24, 551, 1985.
- Rynkiewicz-Szatkowska I.: Abstr. 10th Europ. Colloq. Cytogenet. Domest. Anim., Utrecht 1992, s. 43.
- Shnedl W., Czaker R.: Cytogenet. Cell Genet. 13, 146, 1974.
- Sota E., Zuk F., Duniec M.: Roczn. Nauk. Zoot. 12, 36, 1985.
- Speeding R. N., Dobson H.: Vet. Rec. 123, 18, 1989.
- Stafford M. J.: Vet. Rec. 90, 148, 1972.
- Stone W. H., Friedman J., Fregin A.: Genetics 51, 1036, 1984.
- Stormont C., Weir W. C., Lene L. L.: Science 118, 695, 1953.
- Sysa P. S., Stawomirski J., Kuńska A.: Medycyna Wet. 35, 225, 1989.
- Świtoński M., Lechniak D., Landzwojczak D.: Genet. Pol. 32, 227, 1991.
- Zieliński J., Dorynek Z.: Medycyna Wet. 33, 159, 1977.

Adres autora: mgr Iwona Szatkowska, ul. Chopina 51/204, 71-460 Szczecin

TADEUSZ JEZIEŃSKI

Telemetryczna rejestracja zmienności tętna u koników polskich podczas godzinowej próby przewozowej

Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN, Jastrzębiec 05-551 Mroków

Summary

Telemetric recording of the heart rate variability in Polish primitive horses (konik polski) during a 1-hour draft trial

The heart rate (HR) and its variability were recorded continuously by a telemetric device in 9 Polish primitive horses, during a 1-hour draft trial at normalized gaits (5 periods of 9 minutes walking + 3 minutes trotting). The mean HR was 109–123 and 148–164 beats/min during walking and trotting respectively, and it did not increase in consecutive periods in the course of the trial. The greatest inter-individual variability of HR was recorded at the start of the trial and during periods of trotting. While trotting the intra-individual mean increase of HR in 1-minute periods was greater than the decrease. While walking the mean intra-individual increase of HR in 1-minute periods was smaller than the mean decrease. After approximately 17 minutes had elapsed from the end of the trial, the mean HR reached the level noted before the start. There were significant differences in the mean HR between horses. The telemetric continuous recording of HR is suitable both for measuring the degree of fatigue, fitness and the emotional state of the horses, as well as for a simple monitoring of HR during different states like for example narcosis under field conditions.

trakcie próby lub po próbie, w innym dogodnym terminie.

Celem niniejszych badań było określenie zmian tętna i szybkości jego powrotu do normy u koników polskich w trakcie godzinowej próby przewozowej w znormalizowanych chodach, przy zastosowaniu urządzenia telemetrycznego, przeznaczonego specjalnie dla ciągłej rejestracji tętna u koni.

Material i metody

Badania przeprowadzono na 9 konikach polskich w ZD PAN Popielno (3 ogiery + 2 klacze) i PSO Sieraków (4 ogiery). Koniki po kilkumiesięcznym przygotowaniu zostały w wieku ok. 3,5 roku poddane rutynowej próbie użytkowości. Jednym z elementów tej próby była jazda godzinowa w pojedynczym zaprzęgu przy sile uciągu równej 13% masy ciała konia (z 10% ulgą dla klaczy) w znormalizowanym tempie (5 odcinków po 9 min. stępa + 3 min. klusa), w trakcie której mierzono nieprzerwanie tętno.

Do rejestracji tętna użyto urządzenia Horse Tester PEH 2000, produkcji fińskiej firmy Polar Electro Oy. Urządzenie składa się z nadajnika o wymiarach 7,8 × 3,8 × 1,4 cm zasilanego wewnętrzną ładowaną baterią, 2 elektrod, z których jedna dotyka okolic mostka konia, a druga lewego boku oraz z anteny w kształcie spiralnego kabelka. Całość jest przytrzymywana na klatce piersiowej przy pomocy elastycznego poprzęgu. W miejscu styku elektrod z ciałem należy zwilżyć sierść roztworem soli. Odbiornik impulsów ma postać zegarka elektronicznego umieszczonego na ręku prowadzącego. Odległość między końcem anteny a odbiornikiem nie powinna przekraczać 2–3 m. Na wyświetlaczu odbiornika można na bieżąco odczytać aktualną częstotliwość tętna. Odbiornik ma ponadto wbudowaną wewnętrzną pamięć, pozwalającą na zapamiętanie przez 16 godzin mierzenia średnich wartości tętna wraz z czasem rzeczywistym (średnie dla każdej minuty pomiaru) lub czasem stoperowym (średnie dla każdego 5 sek. pomiaru). Odbiornik jest tak

W pracach dotyczących rejestracji tętna podczas różnych prób wysiłkowych koni posługiwano się zarówno tradycyjnymi metodami pomiaru (1, 2, 6, 9, 11, 14, 15), jak i aparaturą elektrokardiograficzną (10, 13) lub radiotelemetryczną (5). Obecnie miniaturyzacja urządzeń elektronicznych pozwala na wygodną, ciągłą rejestrację tętna w trakcie całej próby użytkowości oraz na odczyt wyników na bieżąco w