

Czynniki warunkujące absorpcję jelitową immunoglobulin siarowych u nowo narodzonych źrebiąt

Anna Włodarczyk-Szydłowska¹, Andrzej Gniazdowski²,
Maciej Gniazdowski², Wojciech Nowacki¹

z Wydziału Medycyny Weterynaryjnej we Wrocławiu¹ oraz Specjalistycznej
Lecznicy dla Koni w Chojnie²

Immunoglobuliny koni

Immunoglobuliny koni zostały sklasyfikowane dzięki zastosowaniu przeciwciał monoklonalnych. Pozwoliły one określić fizykochemiczne właściwości wysoce zmiennych izotypów końskich immunoglobulin (1). Do tej pory opisano u osobników dorosłych następujące klasy i podklasy immunoglobulin: IgGa – obecnie nazywane IgG1; IgGb – obecnie nazywane IgG4; IgGc – obecnie nazywane IgG2; IgG(T) – obecnie nazywane IgG3; IgG5 i IgG(B) – obecnie nazywane IgG6 oraz IgM, IgA i IgE. Dotąd najlepiej poznano sześć immunoglobulin: IgGa, IgGb, IgGc, IgG(T), IgA i IgM. (2). Najpóźniej, bo dopiero w 1996 r. dokonano wyodrębnienia IgGa i IgGb. Wcześniej były one określane jako IgGab, ze względu na podobieństwo ładunków. Dopiero zastosowanie białka *A Staphylococcus aureus* zdolnego do wiązania się z fragmentem Fc niektórych IgG pozwoliło na rozdział tych podklas. Badania prowadzone przez Sheoran (3) sugerują możliwość istnienia również dwóch podklas IgG(T), tj. IgG(T)a i IgG(T)b.

Chociaż nowo narodzone źrebięta są w zdolne do odpowiedzi immunologicznej to w momencie porodu są niemal pozbawione immunoglobulin. Ze względu na budowę łożyska nabłonkowo-kosmówkowego u koni nie jest możliwe przekazywanie immunoglobulin od matki do płodu. Bezpośrednio po urodzeniu we krwi noworodków udaje się wykrywać jedynie nieznaczne ilości IgM i IgGa. Natomiast po zakończonym wchłanianiu immunoglobulin siary we krwi źrebiąt wykazuje się obecność IgGa, IgGb, IgG(T) i IgA. W cytowanych badaniach Sheoran i wsp. (4) nie oznaczano IgM, a immunoglobuliny IgGc nie udało się wykryć u źrebiąt do 63 dnia ich życia. Oznaczano ją natomiast w surowicy koni dorosłych.

Wytwarzanie immunoglobulin przez źrebięta zależy od ekspozycji na antygeny. Wykrywalne ilości immunoglobulin syntetyzowanych przez źrebięta pojawiają między 1 a 2 tygodniem życia, osiągając wysokie stężenie około 2 miesiąca

życia. Do tego czasu ich ochrona przed zakażeniami zależy od przeciwciał uzyskanych z siarą.

Absorpcja jelitowa immunoglobulin siary

Stężenie immunoglobulin w surowicy nowo narodzonego źrebięcia zmienia się gwałtownie w czasie pierwszych 24 godzin życia dzięki absorpcji jelitowej immunoglobulin siary. Poznaniu mechanizmu transportu białek odpornościowych przez jelita poświęcone były liczne prace w latach 70. i 80. ubiegłego stulecia. Szczególny wkład w poznanie i zrozumienie tych procesów u koni miał L.B. Jeffcott. Dzięki jego licznym badaniom (np. z 1971 r.) z użyciem radioaktywnych markerów wiadomo dziś, że szczyt absorpcji immunoglobulin z przewodu pokarmowego u źrebiąt przypada na około 6 godzinę po podaniu siary (5). Absorpcji białek siary dokonują komórki nabłonka jelita cienkiego. Immunoglobuliny siary są wiązane przez specjalne receptory dla fragmentu Fc – FcRn znajdujące się na komórkach nabłonka jelit noworodków. Po związaniu przez ten receptor immunoglobuliny na drodze endocytozy trafiają do komórek nabłonka jelitowego, skąd przenikają do naczyń chłonnych i prawdopodobnie również do naczyń włosowatych jelita (6).

Komórki nabłonka jelit charakteryzują się szybkim tempem wymiany, która odbywa się pod kontrolą licznie występujących tu komórek opiekuńczych, do około 38 godziny życia źrebięcia (7). Pobieranie immunoglobulin odbywa się jednakowo na całej długości jelita cienkiego. U źrebiąt, podobnie jak u prosiąt, wchłanianie immunoglobulin jest selektywne; przede wszystkim wchłaniane są IgG i IgM, a IgA w większości pozostają w jelicie. Zjawisko czynnego transportu immunoglobulin przez enterocyty zaczyna zanikać około 15–16 godziny życia źrebięcia. Dawniej uważano, że przyczyną jest zamykanie się przestrzeni międzykomórkowych i zniesienie możliwości pinocytozy przez enterocyty (8, 9). Obecnie uważa się, że ma to związek z zastępowaniem komórek nabłonka jelitowego

Intestinal absorption of colostral immunoglobulins in newborn foals

Włodarczyk-Szydłowska A., Gniazdowski A.,
Gniazdowski M., Nowacki W. • Faculty of Veterinary Medicine, Agricultural University, Wrocław¹,
Specialistic Clinic for Horses, Chojno².

Unsuckled foals normally have very low levels of immunoglobulins in their serum. The diffuse epithelio-chorial placenta of the mare does not allow the transfer of her immunoglobulins to the fetus in utero. The successful absorption of colostral immunoglobulins immediately supplies them with serum IgG at a level approaching that found in adults. At birth the neonate has specialized enterocytes in the gastrointestinal tract that are able to absorb intact immunoglobulins. Closure of the gut is the result of shedding of specialized enterocytes and replacement by more mature cells. Failure of passive transfer may occur because of ingestion of poor quality of colostrum with low immunoglobulin content, failure to ingest a sufficient quantity of colostrum, and failure to absorb colostral immunoglobulins from gastrointestinal tract. Colostrum may have an sufficient quantity of immunoglobulins because of lactation before parturition, premature foaling, a defect on the mare's ability to concentrate immunoglobulins in the colostrum. Foals that are orphaned or rejected at birth, too weak to stand, or unable or lack the desire to suckle are unlikely to ingest sufficient colostrum.

Keywords: foals, colostrum, immunoglobulins, failure of passive transfer

mającego na błonie komórkowej receptory FcRn przez populację komórek bez tego receptora. Rozważając zagadnienia związane z biernym zabezpieczeniem źrebięcia należy pamiętać, że fenomen przenikania przeciwciał matczynych przez ścianę jelita jest dla źrebięcia jedyną fizjologiczną szansą na uzyskanie białek odpornościowych mających chronić je w pierwszych tygodniach życia (10).

W pierwszych godzinach po urodzeniu działają mechanizmy chroniące immunoglobuliny przed ich strawieniem w przewodzie pokarmowym. Nowo narodzone źrebięta, podobnie jak noworodki innych gatunków zwierząt, wykazują małą aktywność proteaz w przewodzie pokarmowym, a w siarze znajduje się inhibitor trypsyny ograniczający proteolizę w jelitach. Jego zawartość w siarze spada wraz z zanikającą absorpcją jelitową (11).

Ocena odporności siarowej u źrebiąt

Mimo licznych prac na ten temat, nie ustalono jednoznacznych kryteriów oceny stanu odporności biernej u źrebiąt.

Najczęściej przyjmuje się, że o prawidłowej absorpcji immunoglobulin siary

świadczy stężenie ≥ 8 g immunoglobulin/l surowicy źrebięcia. Osiągnięcie takiego poziomu świadczy o prawidłowym zabezpieczeniu biernym. Jednak nie od początku badań nad zabezpieczeniem immunologicznym źrebiąt przyjmowano tę wielkość za normę. Badania McGuira i wsp. z lat 70. (12, 13) podawały wartość 4 g Ig/l surowicy uznawaną wtedy za prawidłową, świadczącą o dobrym zabezpieczeniu źrebięcia. W takich kategoriach oceniał też wyniki badań grupy 70 źrebiąt Pemberton i wsp. (14). Autor ten stwierdził u 63 źrebiąt poziom immunoglobulin > 4 g/l. Odnotowane przez niego wartości mieściły się w przedziale od 4,5–31 g/l. Wyniki takie znacznie odbiegały od przyjętej normy 4 g/l. Zmiana oceny granicy bezpieczeństwa miała miejsce w latach 80. (15), co widać na przykładzie badań Clabough i wsp. (16). Autorka tej pracy wymienia poprzednie kryteria, jednak wyniki swoich badań nad zabezpieczeniem siarowym analizuje już według nowego podziału klasyfikując grupę 65 źrebiąt z poziomami < 4 g/l jako zwierzęta z niedoborem odporności biernej – FPT (failure of passive transfer). Według dzisiejszych poglądów, jeżeli w 24 godzinie życia źrebięcia zawartość immunoglobulin w jego surowicy nie osiąga wartości 8 g/l, mówi się o częściowym niedoborze odporności biernej. Osutki wykazujące wartość immunoglobulin po zakończonym wchłanianiu siary pomiędzy 4 a 8 g/l, zaliczane są do grupy zwierząt z częściowym niedoborem odporności biernej – PFPT (partial failure of passive transfer; 17).

Czynniki warunkujące uzyskanie właściwej odporności siarowej

Uzyskanie przez źrebię pożądanego stężenie immunoglobulin w surowicy może być zaburzone przez wiele czynników. Wśród nich wymienia się: 1) czynniki ze strony klaczy – niski poziom immunoglobulin w sianie, urodzenie wcześniaka pomiędzy 300 a 325 dniem ciąży, zbyt wcześnie rozpoczęta laktacja (np. przy ciążach bliźniaczych), choroby gruczołu mlekowego, nieprzyjęcie źrebięcia przez klacz, zaawansowany wiek matki; 2) przyczyny ze strony źrebięcia – zbyt słabe i chore, osierocone, z niewykształconym odruchem ssania i polykania, z upośledzonym wchłanianiem jelitowym; 3) czynniki ze strony człowieka – choroby zakaźne personelu, które mogą się przenosić na noworodki, nieprawidłowy czas wstawienia klaczy do boksu porodowego, brak czystości w boksie porodowym, przeciągi i niska temperatura pomieszczeń, niedelikatne obchodzenie się z noworodkiem, niedopilnowanie pojenia siarą w przypadkach losowych, wadliwe żywienie klaczy źrebnej.

Badania przeprowadzone w latach 1999–2002 przez Włodarczyk i wsp.

w stadninie koni pełnej krwi pozwoliły zdefiniować inne czynniki mające wpływ na skuteczność absorpcji jelitowej. W surowicy 76 matek i ich źrebiąt oceniano po zakończonej absorpcji jelitowej między innymi poziom białka całkowitego i stężenie immunoglobulin w surowicy. Na uwagę zasługuje stwierdzona wysoka korelacja pomiędzy poziomem białka całkowitego a stężeniem immunoglobulin w surowicy źrebiąt po absorpcji jelitowej wynosząca 0,71 ($p < 0,001$). Efekt absorpcji jelitowej, tj. poziom immunoglobulin w surowicach źrebiąt dwudniowych, był też w sposób dodatni skorelowany z poziomami immunoglobulin w surowicach klaczy matek 0,32 ($p = 0,004$). Godna uwagi jest wykazana w tych badaniach niska zależność pomiędzy zawartością immunoglobulin w sianie, tj. ich dostępnością dla źrebięcia, a poziomem immunoglobulin w surowicy źrebiąt po absorpcji, dla których współczynnik korelacji wynosił jedynie 0,39 ($p < 0,001$). Wartość ta wskazuje, że wynik absorpcji jelitowej nie jest, jak dotąd sądzono, wprost proporcjonalnie zależny od ilości immunoglobulin w sianie. O wysokości odporności posiarowej decydują mechanizmy odpowiedzialne za transport białek odpornościowych przez błonę śluzową jelit (18). Tę obserwację potwierdza szczegółowa analiza wyników badań surowicy i siary dziewięciu wybranych klaczy matek, które trzykrotnie rodziły źrebięta. Źrebięta jednej z tych klaczy w kolejnych trzech latach uzyskiwały podobne poziomy immunoglobulin (15,62 g/l, 15,84 g/l, 16,77 g/l), chociaż zawartość immunoglobulin w sianie tej klaczy w poszczególnych latach była bardzo zróżnicowana i wynosiła kolejno: 105,2 g/l; 47,76 g/l; 70 g/l. U sześciu klaczy niższe wartości immunoglobulin w sianie w jednym z sezonów, pozwoliły na lepsze immunologiczne zabezpieczenie źrebięcia w porównaniu do sezonu z wyższą koncentracją immunoglobulin w sianie. Potwierdza to, że poziom immunoglobulin zabsorbowanych przez źrebięta nie był wprost proporcjonalny do zawartości tych immunoglobulin w sianie i że zawartość w niej immunoglobulin powyżej 30 g/l, nie wpływa już znacząco na odporność posiarową źrebięcia (18).

Najniższą średnią wartość białka całkowitego, tj. 50,6 g/l w surowicy klaczy, statystycznie różną od wyniku najwyższego, odnotowano w 2000 r. W tym roku także w surowicy źrebiąt po zakończonej absorpcji jelitowej stwierdzono najniższy poziom immunoglobulin, podczas gdy zawartość immunoglobulin w sianie w wymienionym roku nie była na najniższym poziomie. Fakt ten jest trudny do wytłumaczenia, ponieważ najniższa zawartość immunoglobulin w sianie w 2001 r., pozwoliła źrebiętom na osiągnięcie najwyższego poziomu za-

bezpieczania po absorpcji. Można jedynie próbować dopatrywać się związku pomiędzy mało skutecznym transferem immunoglobulin w 2000 r., a najniższym poziomem białka całkowitego w surowicy klaczy znacznie odstającym od wyników z pozostałych trzech lat. Powodem tych najniższych wyników w surowicach klaczy było, z dużym prawdopodobieństwem, gorsze jakością żywienie w omawianym roku.

Ponadto w roku tym stwierdzono w surowicach źrebiąt przed piciem siary najwyższe średnie wartości frakcji α - i β -globulinowych, przy niskich wartościach gammaglobulin (19). Powyższe zależności, a także najwyższe wyniki kompleksów immunologicznych w surowicach przedsiarowych w 2000 r. skłaniają do przypuszczenia, że na skuteczność mechanizmu wchłaniania immunoglobulin przez jelita może mieć ujemny wpływ reakcja podkliniczna płodów końskich, którą sugerują wyniki stwierdzone w surowicach nowo narodzonych źrebiąt przed piciem siary. Za domniemaniem tym przemawiają również najwyższe stężenia IgM – immunoglobulin uczestniczącej w pierwotnej odpowiedzi immunologicznej, której najwyższy poziom w 2000 r. może być związany z wcześniej zapoczątkowanymi reakcjami obronnymi płodu. Za tym przypuszczeniem przemawiają również wykazane w 2000 r. najwyższe wartości gęstości optycznej (OD) przeciwciał swoistych klas IgM i IgG oznaczonych metodą ELISA w surowicach przedsiarowych. Na szczególną uwagę wśród tych wyników zasługuje wysoka wartość OD przeciwciał wobec *Enterobacter agglomerans*, których poziom znacznie przewyższał wyniki z pozostałych sezonów, a nawet był wyższy od wartości w surowicach klaczy matek. Przedstawiony obraz może sugerować zależność skuteczności absorpcji jelitowej od rozpoczęcia lub nie rozpoczęcia, immunologicznej reakcji obronnej organizmu już w życiu płodowym (19).

Piśmiennictwo

- Lunn D.P., Holmes M.A., Schram B., Duffus W. P. H.: Monoclonal antibodies specific for equine IgG sub-isotypes including an antibody which recognizes B lymphocytes. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1995, **47**, 239–251.
- Sugiura T., Kondo T., Imagawa H., Kamada M.: Production of monoclonal antibodies to six isotypes of horse immunoglobulin. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1998, **62**, 145–151.
- Sheoran A.S., Lunn D.P., Holmes M.A.: Monoclonal antibodies to subclass-specific antigenic determinants on equine immunoglobulin gamma chains and their characterization. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1998, **62**, 153–165.
- Sheoran A.S., Timoney J.F., Holmes M.A., Karzenski S.S., Crisman M.V.: Immunoglobulin isotypes in sera and nasal mucosal secretions and their neonatal transfer and distribution in horses. *Am. J. Vet. Res.* 2000, **61**, 1099–1105.
- Jeffcott L.B. Duration of permeability of the intestine to macromolecules in the newly-born foal. *Vet. Rec.* 1971, **88**, 340.
- Jeffcott L.B.: Some practical aspects of the transfer of passive immunity to newborn foals. *Equine vet. J.* 1974, **6**, 109–115.

7. Tizard I. R.: Veterinary Immunology. An Introduction. 7th edit., Saunders, 2005, s. 225–229.
8. Jeffcott L.B.: The transfer of passive immunity to the foal and its relation to immune status after birth. *J. Reprod. Fert.* 1975, Supl. 23, 727–733.
9. Bosted H.: Stan odporności nowo narodzonych źrebiąt i cieląt. *Zesz. Nauk. ART Olsztyn* 1996, **23**, 79–85.
10. Jeffcott L.B.: Immune passive transfer to foals: Sixty years on. *Equine Vet. J.* 1985, **17**, 162–163.
11. Saikku A., Koskinen E., Sandholm M.: Sequential changes of IgG and antitrypsin in different compartments during the colostral – intestinal transfusion of immunity to the newborn foal. *J. Vet. Med. B.* 1989, **36**, 391–396.
12. McGuire T.C., Poppie M.J., Banks K.L.: Hypogammaglobulinemia predisposing to infection in foals. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1975, **166**, 71–75.
13. McGuire T.C., Crawford T. B., Hallowell A. L., Macomber L.E.: Failure of colostral immunoglobulin transfer as an explanation for most infections and deaths of neonatal foals. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1977, **170**, 1302–1304.
14. Pemberton D. H., Thomas K.W., Terry M. J.: Hypogammaglobulinaemia in foals: prevalence on Victorian studs and simple methods for detection and correction in the field. *Aust. Vet. J.* 1980, **56**, 469–473.
15. Saikku A., Koskinen E., Sandholm M.: Detection of hypogammaglobulinaemia in neonatal foals using the glutaraldehyde coagulation test. *J. Vet. Med. B.* 1989, **36**, 168–174.
16. Clabough D.L., Levin J.F., Grant G.L., Conboy H.S. Factors associated with failure of passive transfer of colostral antibodies in Standardbred foals. *J. Vet. Intern. Med.* 1991, **5**, 335–340.
17. LeBlanc M.M., Tran T., Baldwin J.L., Pritchard E.L. Factors that influence passive transfer of immunoglobulins in foals. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1992, **200**, 179–183.
18. Włodarczyk-Szydłowska A., Nowacki W., Wierzbicki H.: Wpływ wybranych czynników na jakość siary klaczy i poziom immunoglobulin siarowych u źrebiąt. *Medycyna Wet.* (w druku).
19. Włodarczyk-Szydłowska A., Nowacki W., Wierzbicki H.: Ocena odporności posiarowej źrebiąt we wczesnym okresie neonatalnym. *Medycyna Wet.* (w druku).

Dr A. Włodarczyk-Szydłowska, ul. Więckowskiego 23/16,
50 431 Wrocław, e-mail: aws@poczta.fm