

HELMINTOFAUNA WOLNO ŻYJĄCYCH GRYZONI A HORMONY STERYDOWE

KAROLINA KULIŚ, ANNA BAJER I EDWARD SIŃSKI

Zakład Parazytologii, Uniwersytet Warszawski, ul. Miecznikowa 1, 02-096, Warszawa; E-mail: karolinak@biol.uw.edu.pl

ABSTRACT. Helminth fauna and steroid hormones concentration of wild rodents. Fragmentation of the environment by natural barriers (lakes, mountain ranges) and human activities (towns, major roads, agriculture) can lead to isolate subpopulations of hosts. The study was based in Mazury lake district in north-eastern Poland, the region rich in forests, lakes, rivers and canals, which can create impassable barriers. Population of bank voles (*Clethrionomys glareolus*) – dominant woodland rodent – showed local differences in helminth communities in fragmented forest habitat. The sites were chosen on the basis of the similarity of their habitat structure and type, and isolation from one another. There are evidences that steroids hormones associated with stress and reproduction may mediate trade-offs between physiology and immune function.

Key words: corticosterone, helminth fauna, rodents, testosteron.

WSTĘP

W dostępnej literaturze pojawia się wiele prac wskazujących na naturalne, wielogatunkowe zarażenie żywicieli, które kształtuje złożone układy oddziaływań pasożyt-żywiciel. Badania dowodzą, że koinwazje dwoma lub większą liczbą gatunków pasożytów występują nawet częściej niż infekcje pojedyncze (Patney i Andrews 1998). Również mechanizmy regulujące odpowiedź immunologiczną są złożone, są też wynikiem zawilej sieci interakcji, dzięki czemu modulowanych jest tak wiele etapów reakcji. Jednym z lepiej poznanych czynników jest wpływ hormonów produkowanych w nadnerczach, tarczycy, gonadach, czy grasicy (Baxter i Rousseau 1979). Uznano, iż układ hormonalny jest zaangażowany w regulacje odpowiedzi immunologicznej, co może wyjaśniać zauważalne różnice w odpowiedzi organizmu, obrazie choroby i jej intensywności u obu płci (Alexander i Stimson 1988). Zainteresowanie hormonami sterydowymi wzrosło, gdy wykazano wyraźne zależności pomiędzy płcią żywicieli a intensywnością zarażenia pasożytami (Barnard i wsp. 1997a, b, 1998).

Badania dotyczące interakcji pasożyt-żywiciel, szczególnie w przypadku naturalnych koinwazji, wymagają pomiarów hormonów sterydowych z bardzo wielu

powodów. U gryzoni testosteron jest wskaźnikiem statusu społecznego. Ponadto oddziałuje na układ odpornościowy poprzez obniżenie odpowiedzi immunologicznej (Alexander i Stimson 1988, Smith 1996). Również wzrost poziomu hormonów płciowych w okresie wejścia gryzoni w fazę rozrodu przyczynia się do zwiększenia prawdopodobieństwa inwazji pasożytniczej. Z drugiej strony wzrost stężenia kortykosteronu, glukokortykoidu charakterystycznego dla gryzoni i produkowanego przez korę nadnerczy, następuje przede wszystkim w różnorodnych stanach emocjonalnych o charakterze stresogennym, m.in. w przypadku inwazji pasożytniczych (Schmidt-Nielsen 1997), i może być wskaźnikiem poziomu zarażenia populacji.

MATERIAŁY I METODY

Gryzonie odławiane były za pomocą pułapek żywołownych w trzech różnych siedliskach na Pojezierzu Mazurskim – w okolicach Urwitału k/Mikołajek, w okolicach jeziora Tałty i w okolicach Pilch k/Piszu. Charakterystyka powierzchni i sposób ich wytypowania zamieszczone są w pracy Behnke i wsp. 2001. Odłowy odbywały się przez 7 do 10 dni, co miesiąc, od kwietnia do października. Miesiące badań przypisywane były do trzech sezonów (1 – wiosna, 2 – lato, 3 – jesień) na podstawie kalendarzowych pór roku. Pułapki rozstawiane były w kilku transektach, po dwie w punktach oddalonych od siebie co 15 metrów. Sprawdzane były dwa razy dziennie: rano (7⁰⁰-9⁰⁰) i po południu (16⁰⁰-19⁰⁰). Zwierzęta zabierane były w pułapkach do laboratorium w stacji terenowej w Urwitałcie, gdzie oznaczano je do gatunku, określano płeć, aktywność płciową oraz masę ciała z dokładnością do 0,5 g.

Następnie izolowano układy pokarmowe, które przechowywano w 10% formalinie. Robaki jelitowe z utrwalonych przewodów pokarmowych, które dzielono na anatomiczne odcinki, zostały utrwalone, barwione i oznaczone do gatunku.

Poziom hormonów sterydowych kory nadnerczy i hormonów płciowych mierzony był w surowicy, pozyskanej w trakcie sekcji w terenie, metodą radioimmunologiczną (Stupnicki 1985, Stachon i wsp. 2001). Część materiału wykorzystana została do pomiaru poziomu hormonów z wykorzystaniem testu Elisa (*Testosteron ELISA*, DRG International, INC. USA; *OCTEIA Corticosterone*, IDS Inc, USA). Analiza statystyczna przeprowadzona została z użyciem dwóch pakietów statystycznych: SPSS (test korelacji rang Spearmana) i GLIM (minimalne modele czynników wpływających na średnie stężenie hormonów).

W trakcie trzech lat badań (2001-2003) odłowiono 465 osobników *Clethrionomys glareolus* i 210 osobników *Apodemus flavicollis*. Do analizy wykorzystano dane dotyczące wszystkich 675 gryzoni należących do wymienionych gatunków.

WYNIKI I DYSKUSJA

Wyznaczone trzy powierzchnie badawcze, w znaczący sposób różnią się skła-

dem gatunkowym parazytofauny. Już w pracach wcześniejszych w populacji nornicy rudej (*C. glareolus*) w Północno-Wschodniej Polsce wykazano lokalne różnice w różnorodności gatunkowej naturalnej helmintofauny (Barnard i wsp. 2002).

Wykazano, że pomimo, iż wyznaczone powierzchnie są podobne pod względem ekologicznym, struktura zgrupowań robaków jelitowych nornicy rudej znacząco się różni. *Heligmosomum mixtum* – najczęściej występujący gatunek nicieni jelitowych – był identyfikowany na dwóch powierzchniach badawczych (okolice Urwitałtu i Tałt), nie był jednakże stwierdzany u nornic odławianych na powierzchni trzeciej (okolice Pisz). Natomiast drugi gatunek z rodziny Heligmosomoididae – *Heligmosomoides glareoli* – wykazywał niską ekstensywność występowania na powierzchni pierwszej i drugiej, a na powierzchni trzeciej ekstensywność jego występowania była wysoka. Sytuacja taka utrzymywała się przez trzy lata badań (Rys. 1). Pomimo, że w kolejnych latach badań zmalała ekstensywność występowania infekcji, różnice pomiędzy powierzchniami badawczymi pozostały znaczące (Tabela 1).

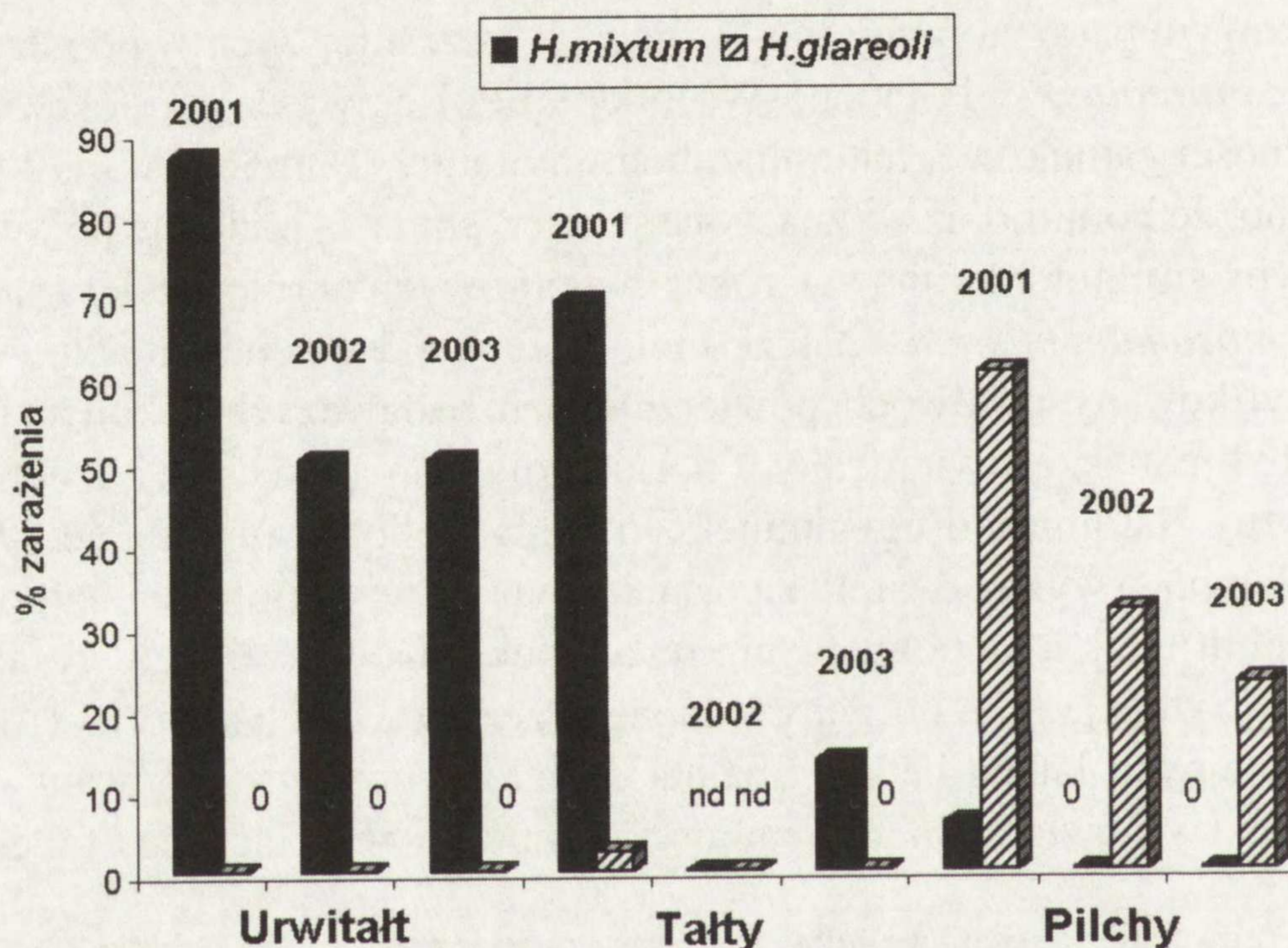
Tabela 1. Porównanie zarażenia helmintami nornicy rudej i myszy wielkookiej leśnej z trzech powierzchni badawczych

| Grupa | Gatunek | Prewalencja (%) | | |
|-----------------------|---------------------------------|----------------------|--------------------|------------------|
| | | Urwitałt (2001-2003) | Tały (2001 i 2003) | Pisz (2001-2003) |
| Nornica ruda | | | | |
| (n=301) | | | | |
| Nicienie | <i>Heligmosomum mixtum</i> | 69,7 | 69,1 | 2,8 |
| | <i>Heligmosomoides glareoli</i> | 0 | 2,4 | 45,8 |
| | <i>Syphacia petruszewiczi</i> | 15,8 | 19,1 | 14,0 |
| | <i>Aspicularis tetraptera</i> | 6,6 | 19,1 | 27,7 |
| | <i>Mastophorus muris</i> | 12,5 | 2 | 4,7 |
| | <i>Trichuris muris</i> | 0,7 | 0 | 0 |
| | Tasiemce łącznie* | 23,7 | 38,1 | 9,3 |
| (dorosłe i larwy) | | | | |
| Mysz wielkooka | | | | |
| leśna (n+88) | | | | |
| Nicienie | <i>Heligmosomoides</i> sp. | 0 | 36 | 7,1 |
| | <i>Syphacia federici</i> | 38,1 | 54,5 | 14,3 |
| | <i>Masophorus muris</i> | 4,8 | 0 | 14,3 |
| Tasiemce łącznie** | 33,3 | 18,2 | 14,3 | |

**Catenotaenia henttoneni*, *Paranoplocephala* spp., *Anoplocephaloides dentata*, *Taenia martis*, *Mesocestoides* sp.

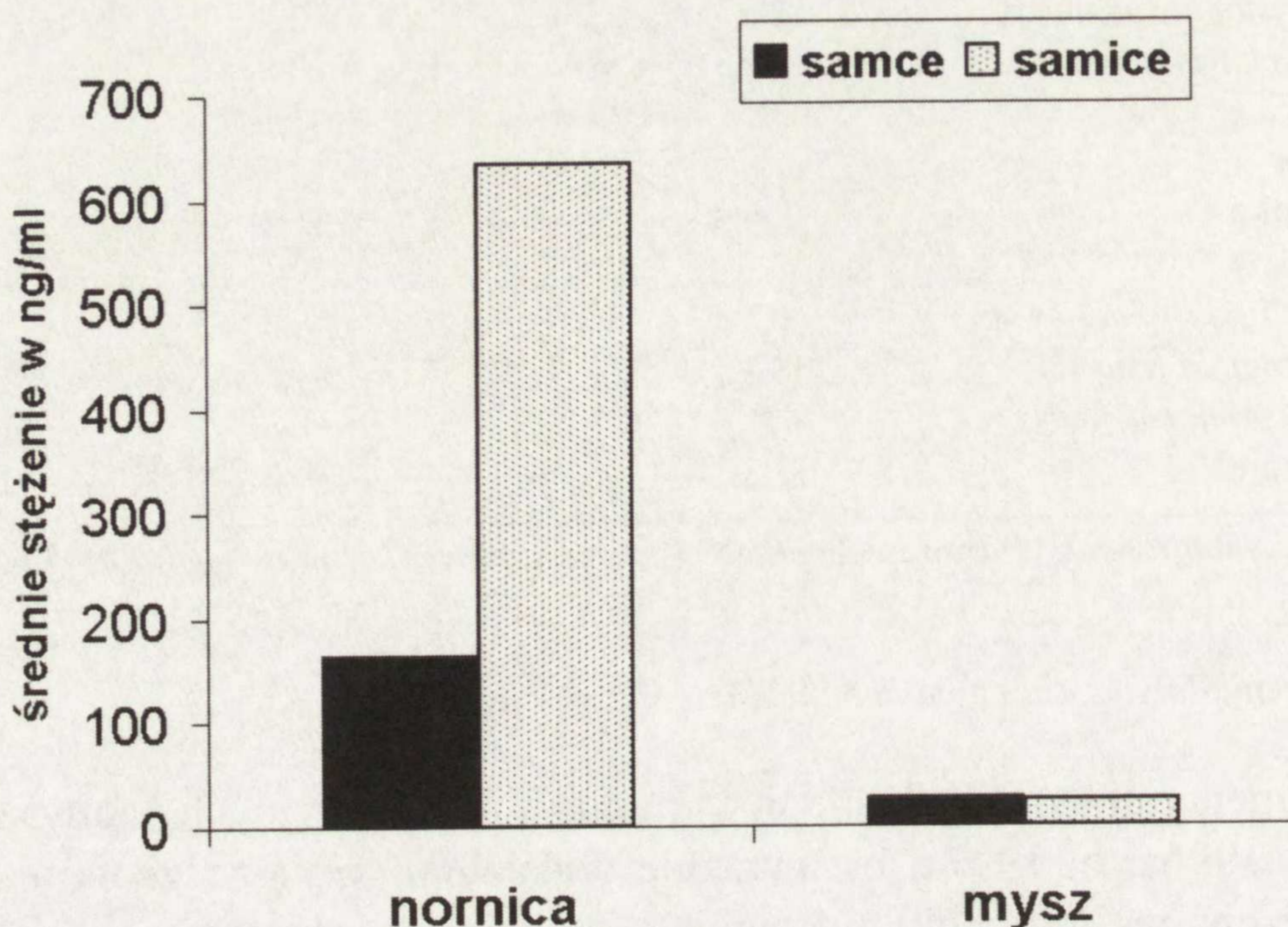
***Skrjabinotaenia lobata*, *Catenotaenia pusilla*

Eksperymenty przeprowadzone w warunkach laboratoryjnych na myszach (Barnard i wsp. 1996a, b, 1997a, b) wyraźnie wykazują wpływ stężenia testosteronu i kortykosteronu na immunokompetencję i status immunologiczny gryzoni.

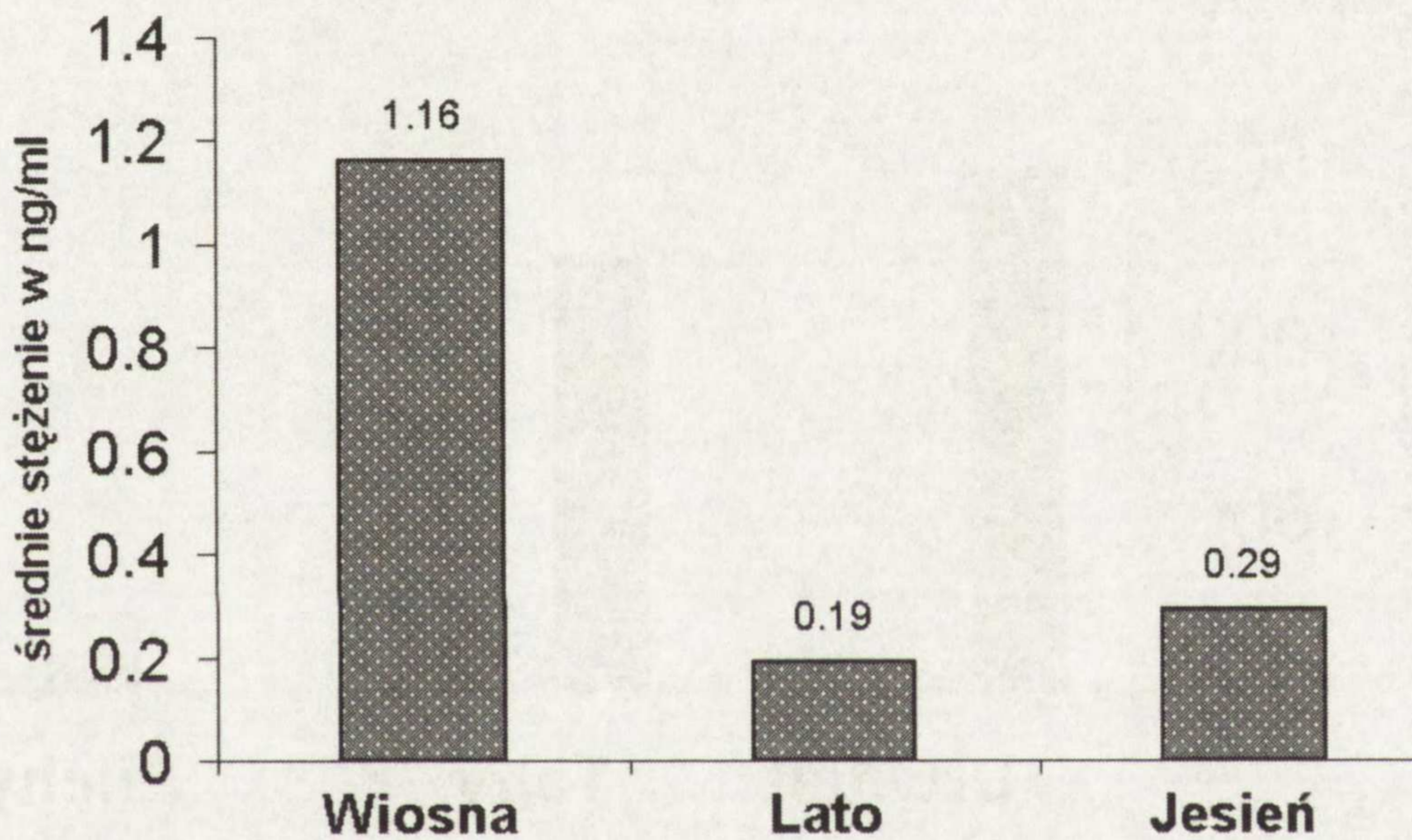
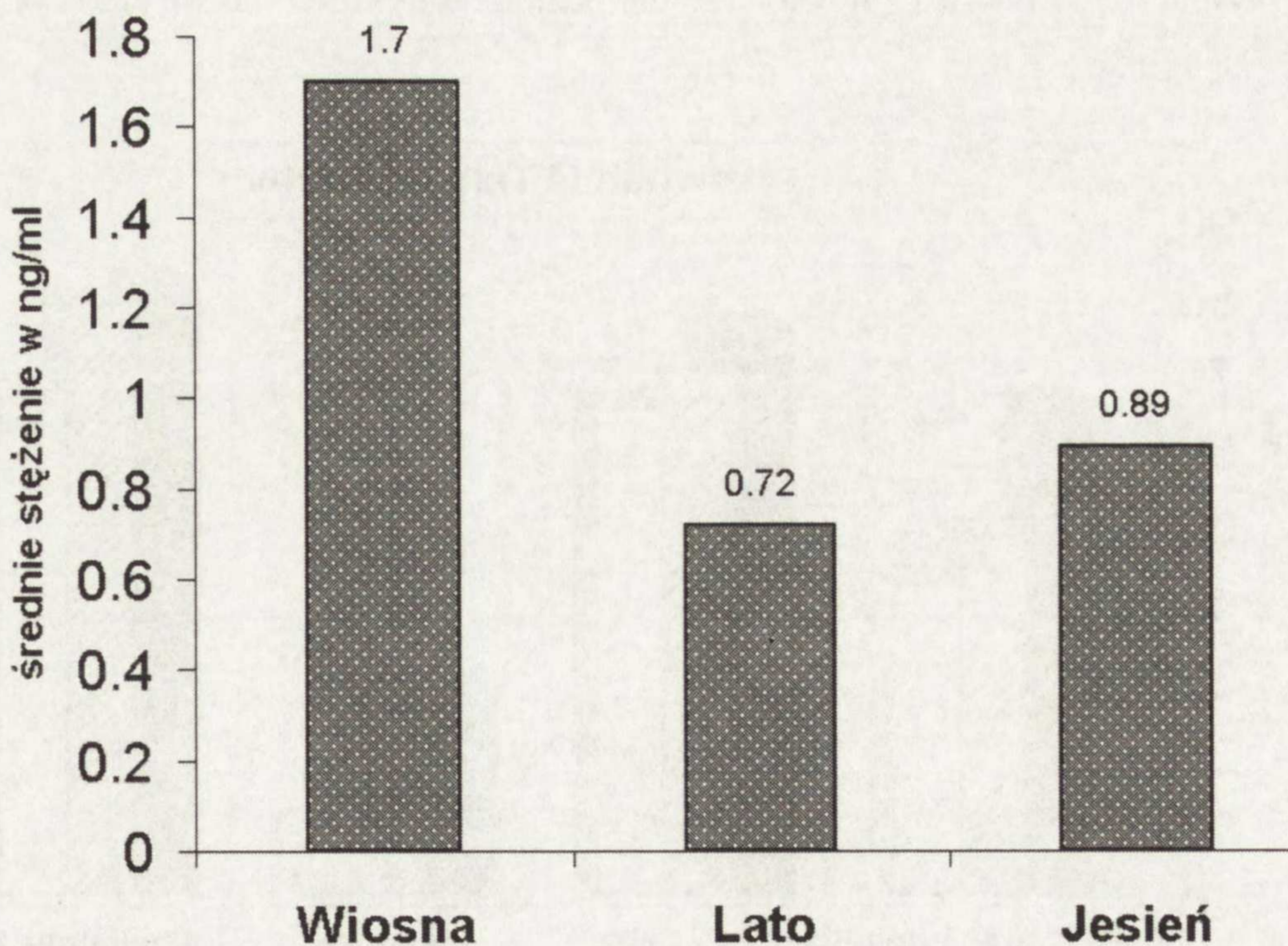


Rys. 1. Występowanie nicieni z rodziny Heligmosomoididae u nornicy rudej z trzech różnych powierzchni badawczych w ciągu kolejnych lat badań.

Na podstawie przeprowadzonej analizy stwierdzono znaczące różnice w poziomie hormonów u dwóch gatunków gryzoni. U samców nornicy rudej średni poziom testosteronu wynosił 0,46 ng/ml natomiast u myszy leśnej był wyższy i wynosił 1,05 ng/ml. Średnie stężenie kortykosteronu było kilkakrotnie wyższe u nornicy rudej, zarówno u samców jak i u samic, niż u myszy leśnej (Rys. 2). Wykazano także wpływ czynników egzo- i endogennych na stężenie testosteronu i kortykosteronu

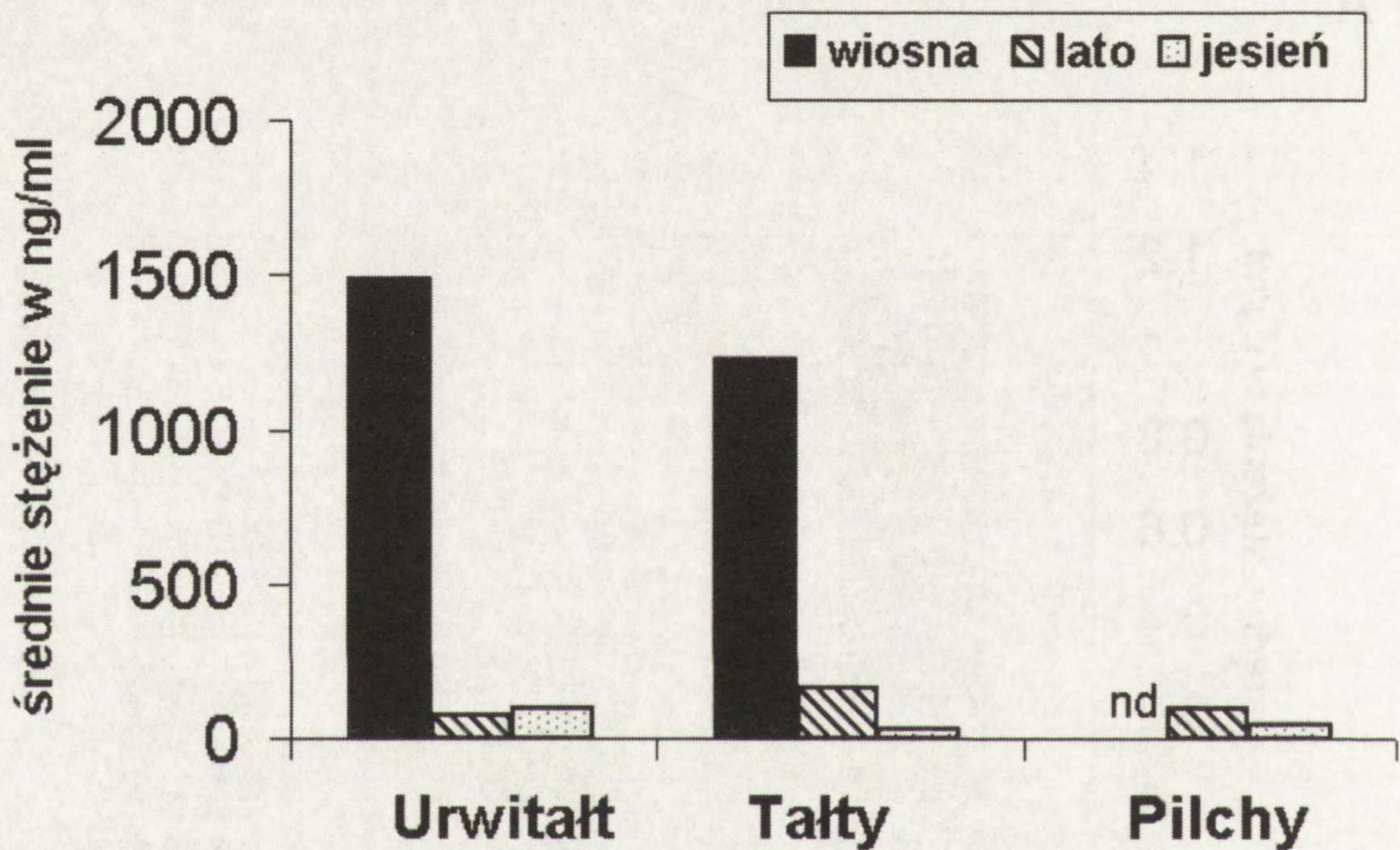


Rys. 2. Porównanie średniego stężenia kortykosteronu we krwi nornicy rudej i myszy leśnej.

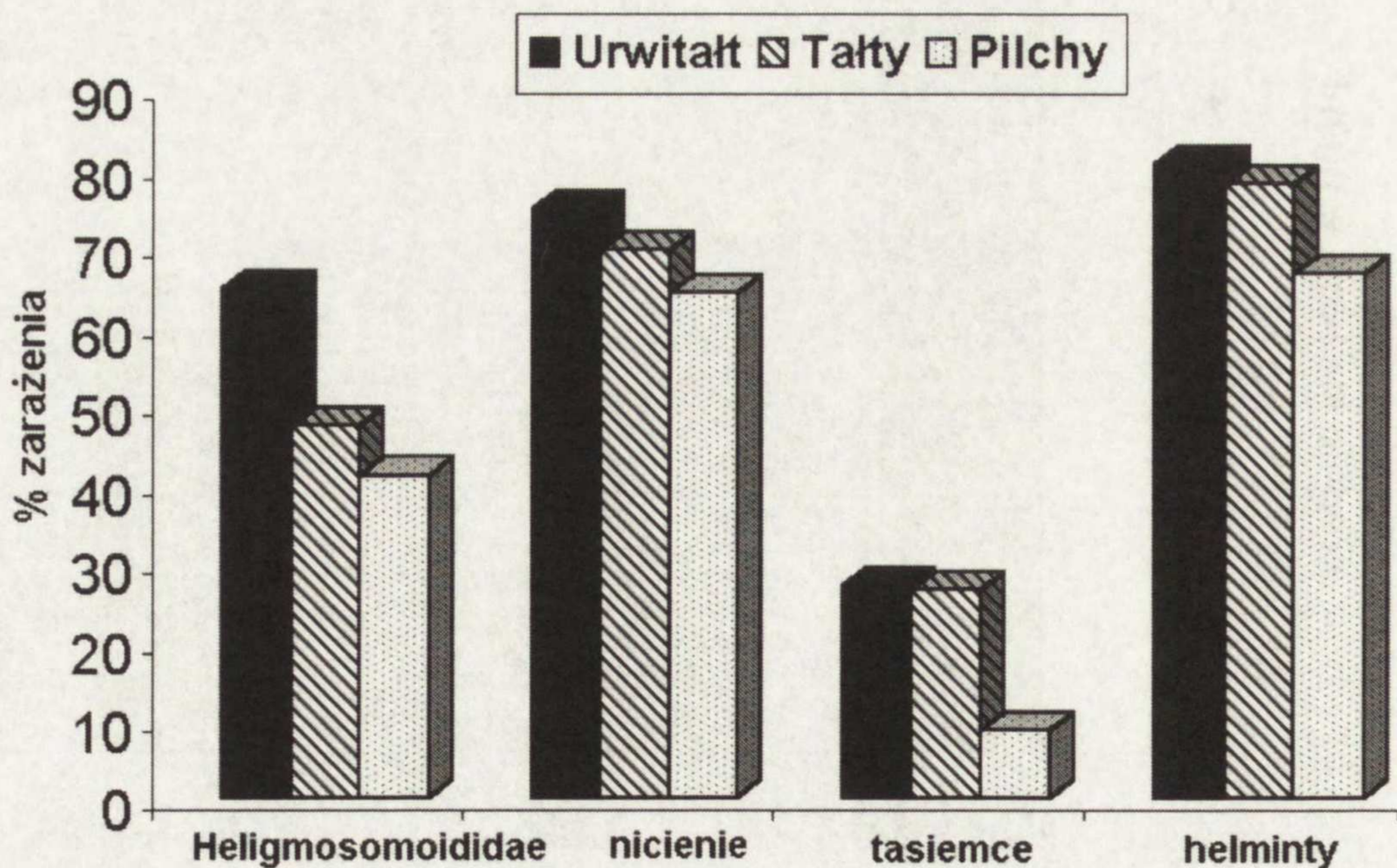
A.**B.**

Rys. 3. Wpływ sezonu badań na średni poziom testosteronu we krwi nornicy rudej (A) i myszy wielkookiej leśnej (B).

u badanych gryzoni. Poziom testosteronu u nornicy rudej (Rys. 3A) w sposób istotny zależał od miejsca odłowu ($F_{2,187}=6,36$ $0,005 > P > 0,001$), jak również od sezonu badań ($F_{2,187}=48,68$ $P < 0,001$). Również u myszy wielkookiej leśnej (Rys. 3B) poziom tego hormonu najwyższy był wiosną. Sytuacja taka związana jest zapewne z intensywnym rozrodem wiosną.



Rys. 4. Wpływ sezonu i miejsca odłowu na średni poziom kortykosteronu we krwi nornicy rudej.



Rys. 5. Wpływ miejsca odłowu na ekstensywność zarażenia różnymi grupami pasożytów u nornicy rudej.

Różnice w ekstensywności inwazji pasożytniczych u nornicy rudej pomiędzy powierzchniami badawczymi mogą powodować różnice w poziomie stresu, co przekłada się na zmiany w poziomie kortykosteronu. Najwyższe stężenie tego hormonu wykazano u nornic z dwóch pierwszych powierzchni badawczych (we wszystkich trzech sezonach) (Rys. 4), co jest pozytywnie skorelowane z ekstensywno-

ścią zarażenia robakami jelitowymi (niciansie z rodziny Heligmosomoididae, niciansie ogólnie, tasiemce, helminty ogólnie) nornicy rudej z tych powierzchni (Rys. 5). U myszy leśnej wykazano wyraźny wpływ sezonu na poziom kortykosteronu ($F_{2,199} = 8,26$ $P[mn]0,001$). Najwyższe stężenie tego hormonu we krwi wykazano latem (37,7 ng/ml), nieco niższe wiosną (22,6 ng/ml), a jesienią najniższe (19,7 ng/ml). Jest to zapewne związane z porą rozrodu, gdyż zaobserwowano wzrost poziomu kortykosteronu w okresie ciąży (Dufty 2002).

Zarówno ekstensywność jak i intensywność inwazji robaków jelitowych (helminty ogólnie) u myszy odławianych z okolic Urwitałtu były znacznie wyższe (71,7% i 123,8 robaków na zwierzę) niż u zwierząt z okolic Pisu (41,7% i 53,4 robaków na zwierzę). Porównując średnie stężenie kortykosteronu u myszy z tych dwóch powierzchni widać wyraźne różnice: dla powierzchni pierwszej wynosi ono 24,9 ng/ml a dla powierzchni trzeciej – 12,6 ng/ml.

Analiza ilościowa wpływu stężenia kortykosteronu na intensywność inwazji robaków jelitowych u nornicy rudej ($n=241$) (test korelacji rang Spearmana) wskazuje na tendencje do pozytywnej korelacji tych dwóch parametrów. Podobną tendencję wykazano również dla stężenia testosteronu i liczby niciansi u badanych zwierząt ($r_S=0,106$ $P=0,1$), co jest zgodne z danymi literaturowymi, które donoszą o immunomodulującym wpływie tego hormonu (Barnard i Behnke 2001).

Dane z literatury coraz częściej wskazują na wpływ czynników ekologicznych, immunologicznych i demograficznych na inwazje pasożytnicze. Na podstawie przeprowadzonych badań widać wpływ hormonów sterydowych związanych ze stresem i rozrodem na funkcje układu immunologicznego.

Badania finansowane były z grantu promotorskiego KBN nr 3 PO4C 102 25.

LITERATURA

- Alexander J., Stimson W.H. 1988. Sex hormones and course of parasitic infection. *Parasitology Today* 4: 189-193
- Barnard C.J., Behnke J.M. 2001. From psychoneuroimmunology to ecological immunology: life history strategies and immunity trades-offs. In: *Psychoneuroimmunology* (3ed.) Academic Press, 2: 35-47.
- Barnard C.J., Behnke J.M., Sewell J. 1996a. Social status and resistance to disease in house mice (*Mus musculus*): status-related modulation of hormonal responses in relation to immunity costs in different social and physical environments. *Ethology* 102: 63-84.
- Barnard C.J., Behnke J.M., Sewell J. 1996b. Environmental enrichment, immunocompetence and resistance to *Babesia microti* in male laboratory mice. *Physiology and Behaviour* 60: 1223-1231.
- Barnard C.J., Behnke J.M., Gage A.R., Brown H., Smithurst P.R. 1997a. Modulation of behaviour and testosterone concentration in immunodepressed male laboratory mice (*Mus musculus*). *Physiology and Behaviour* 61: 907-917.
- Barnard C.J., Behnke J.M., Gage A.R., Brown H., Smithurst P.R. 1997b. Immunity costs and behavioural modulation in male laboratory mice (*Mus musculus*) exposed to the odour of females. *Physiology & Behaviour* 62: 857-866.

- Barnard C.J., Behnke J.M., Gage A.R., Brown H., Smithurst P.R. 1998. Maternal effects on the development of social rank and immunity trade-offs in male laboratory mice (*Mus musculus*). *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* 265: 2087-2093.
- Barnard C.J., Behnke J.M., Bajer A., Bray D., Race T., Frake K., Osmond J., Dinmore J., Sinski E. 2002. Local variation in endoparasite intensities of bank voles (*Clethrionomys glareolus*) from ecologically similar sites: morphometric and endocrine correlates. *Journal of Helminthology* 76: 103-112.
- Baxter J.D., Rousseau G.G. 1979. Glukocortycoids hormone action: an overview. *Monographs on Endocrinology* 12: 1-24.
- Behnke J.M., Barnard C.J., Bajer A., Bray D., Dinmore J., Frake K., Osmond J., Race T., Sinski E. 2001. Variation in the helminth community structure in bank vole (*Clethrionomys glareolus*) from three comparable localities in the Mazury Lake District region of Poland. *Parasitology* 123: 401-414.
- Dufty M. 2002. Hormones, developmental plasticity and adaptation. *Trends in Ecology and Evolution* 17: 190-196.
- Patney T.N., Andrews R.H. 1998. Multiparasite communities in animals and humans: frequency, structure and pathogenic significance. *International Journal for Parasitology* 28: 377-393.
- Schmidt-Nielsen 1997. Fizjologia człowieka. Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa.
- Smith F. 1996. Social odours, hormone modulation and resistance to disease in male laboratory mice. *Animal Behaviour* 52: 141-153.
- Stachon M., Furstenberg E., Gromadzka-Ostrowska J., Romanowicz K. 2001. The influence of different dietary fat sources on tissue corticosterone concentration in rats. *Journal of Animal and Feed Sciences* 10: 341-354.
- Stupnicki R. 1985. Metody radioimmunologiczne i radiokompetycyjne stosowane w klinice. Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich, Warszawa.

Zaakceptowano do druku 7 czerwca 2004