

## Pathophysiology of gastrointestinal tract development – intrauterine growth retardation (IUGR) syndrome and its consequences for the immune system development in pigs

Ferenc K., Olszówka A., Kiliańczyk R., Zabielski R.,  
Department of Physiology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Warsaw University of Life Sciences – SGGW

This article aims at the presentation of gastrointestinal tract (GI), development failures and their consequences in farm animals. Intrauterine growth retardation (IUGR) syndrome in piglets is among major problems in swine production. IUGR frequency is around 8% and it is responsible for the early post-natal mortality of piglets and the poor quality of the carcass. Numerous studies have demonstrated that IUGR piglets present many abnormalities, related both to the anatomic structures and to the molecular level of GI functions. Intestinal mucosal barrier has been shown to be thin with massive damage of villi and delayed disappearance of fetal enterocytes. There is also an increased number of adherent bacteria and differences in the intestinal microbiota in piglets with IUGR when compared to normal animals. Recent studies have shown that gut-associated lymphoid tissue (GALT), development is also inhibited in piglets with IUGR. This developmental syndrome of the gut is characterized by the decreased number of intraepithelial lymphocytes that express low level of MHC II proteins. High energy diet in piglets with IUGR syndrome has trophic effect on mucosa thickness but has negative influence on GALT function. Taking into account the similarities within the gastrointestinal tract structures and functions, pigs can potentially serve as a promising model for studying the IUGR syndrome in infants in the context of GI immunology failures/deficits.

**Keywords:** intrauterine growth retardation, gut-associated lymphoid tissue, piglets.

Zespół wewnątrzmacicznego zahamowania wzrostu (intrauterine growth retardation – IUGR) określany jest jako zaburzenie wzrostu i rozwoju płodu lub jego narządów w drugim i trzecim tryestrze ciąży. Zespół ten u prosiąt jest jednym z ważniejszych problemów w produkcji trzody chlewnej. Ograniczenie wzrostu płodu zmniejsza przeżywalność noworodków, ma trwały wpływ na zahamowanie wzrostu we wczesnym okresie poporodowym, negatywnie wpływa na stan zdrowia prosiąt, a ponadto źle wpływa na efektywność wykorzystania paszy, mięsność tusz i jakość mięsa tuczników (1). Przyczynami tego zespołu są zarówno czynniki genetyczne, jak i środowiskowe. Wśród czynników środowiskowych najważniejsza wydaje się niezbilansowana dieta matki (2).

Częstotliwość występowania zespołu wewnątrzmacicznego zahamowania wzrostu

## Patofizjologia przewodu pokarmowego w zespole wewnątrzmacicznego zahamowania wzrostu u świń – konsekwencje dla odporności

Karolina Ferenc, Aleksandra Olszówka, Robert Kiliańczyk, Romuald Zabielski

z Katedry Nauk Fizjologicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie

u świń jest wysoka i wynosi 6–10% urodzonych prosiąt. Jest to spowodowane naturalnie występującymi ciążami wielopłodowymi, a nasilone jest przez intensywną gospodarkę, która wymusza dobór świń o wysokiej plenności. Wykazano, że przed 35 dniem życia ciąży, zarodki świń są równomiernie rozłożone w rogu macicy, później jednak pojemność macicy staje się czynnikiem ograniczającym wzrost płodu. W konsekwencji płody rozwijające się w rogach macicy na ogół są większe niż znajdujące się pośrodku. Szczególnie istotne dla wzrostu płodu jest jego położenie w macicy w przypadku późnej ciąży, kiedy liczba płodów przekracza 5 na róg. Po urodzeniu prosięta mogą ważyć nawet jedną trzecią masy, jaką osiągają największe prosięta z miotu (1). Tak więc wzrost prosiąt zostaje zahamowany na późniejszym etapie ciąży, co oznacza, że u prosiąt z zespołem wewnątrzmacicznego zahamowania wzrostu występuje najczęściej tzw. typ asymetryczny, tj. następuje ograniczenie wzrostu większości narządów, ale nie głowy i mózgu.

Dotąd szereg badań wykazało, że u prosiąt z zespołem wewnątrzmacicznego zahamowania wzrostu występują liczne zaburzenia zarówno na poziomie anatomicznym, jak i molekularnym przewodu pokarmowego, które mają również wpływ na ich odporność. Ostatnie prace wykazują też, że tkanka limfatyczna związana z przewodem pokarmowym (gut-associated lymphoid tissue – GALT) jest znacząco upośledzona w porównaniu do noworodków o prawidłowej masie urodzeniowej (3, 4). Tłumaczy to zwiększenie predyspozycji prosiąt z zespołem wewnątrzmacicznego zahamowania wzrostu do zapaleń jelit i biegunek, które wraz z przygnieceniami są głównymi przyczynami ich śmierci w pierwszych dniach życia (1). W dalszych tygodniach życia jedną z głównych przyczyn wysokiej śmiertelności jest martwicze zapalenie jelit (5).

### Bariera mechaniczna jelita cienkiego

Ocena histologiczna jelita cienkiego, w której można dokonać między innymi pomiaru wysokości kosmków, głębokości krypt i oceny uszkodzeń błony śluzowej jelita,

jest jednym z ważniejszych wskaźników odzwierciedlających kondycję jelita prosięcia. W licznych pracach przedstawiono, że u prosiąt z zespołem wewnątrzmacicznego zahamowania wzrostu, jak i u innych gatunków zwierząt dochodzi do znacznego skrócenia kosmków jelitowych, obniżenia ich gęstości, zmniejszenia głębokości krypt, a struktura kosmków ulega licznym uszkodzeniom (6). Czynniki te zaburzają funkcjonowanie mechanicznej bariery jelita, co sprzyja rozwojowi stanów zapalnych i zakażeń.

Ponadto u noworodków zauważono spowolnioną wymianę enterocytów płodowych na enterocyty dorosłe w porównaniu z prosiętami z tego samego miotu o prawidłowej masie urodzeniowej (7). Enterocyty płodowe, poprzez występowanie w nich systemu kanalików i cystern w części wierzchołkowej komórki oraz wakuol olbrzymich (transportowych i trawiennych) wypełniających większą część komórki, umożliwiają wchłanianie makromolekuł, głównie immunoglobulin sialry (8). Dopóki enterocyty typu płodowego są obecne w nabłonku, dopóty fizjologiczne bariery jelitowe pozostają otwarte. Czasowe otwarcie barier nabłonka jelitowego jest niezbędne do uzyskania odporności biernej, która w przypadku prosiąt jest szczególnie ważna ze względu na budowę łożyska, przez które transport immunoglobulin w czasie ciąży jest niemożliwy. Z drugiej strony przedłużająca się obecność enterocytów płodowych ułatwia penetrację nabłonka jelitowego bakteriom patogennym i warunkowo chorobotwórczym. Podobnie, ułatwione jest przenikanie przez nabłonek wszelkich niepożądanych substancji, ksenobiotyków.

### Mikroekosystem jelita

Uzyskanie optymalnego składu mikroekosystemu jelitowego jest ważnym czynnikiem wpływającym m.in. na usprawnienie procesów trawiennych i wytwarzanie istotnych dla gospodarza składników odżywczych przez drobnoustroje w jelicie grubym, np. lotnych kwasów tłuszczowych, witamin z grupy B i witaminy K. Prawidłowa

flora bakteryjna wpływa także na ograniczenie możliwości kolonizacji jelita przez bakterie chorobotwórcze.

U prosiąt z zespołem wewnątrzmacicznego zahamowania wzrostu stwierdzono zwiększoną ilość bakterii przylegających do błony śluzowej jelita w porównaniu do prosiąt o prawidłowej masie urodzeniowej. Wyniki te zostały również potwierdzone wzrostem ekspresji genów białek odpowiedzialnych za adhezję bakterii (9). Ponadto na zwiększoną kolonizację w jelicie mogą wpływać takie czynniki, jak obniżona motoryka jelita oraz upośledzone wchłanianie składników odżywczych (6, 10).

Postulowano, że mechanizmem obronnym przed nadmierną kolonizacją bakterii u prosiąt z zespołem wewnątrzmacicznego zahamowania wzrostu może być wzrost ekspresji genów odpowiedzialnych za wydzielanie mucyny w produkujących śluz komórkach kubkowych (9). Jednak inne badania wykazały zmniejszenie liczby komórek kubkowych w nabłonku jelitowym noworodków z zespołem wewnątrzmacicznego zahamowania wzrostu w porównaniu z noworodkami o prawidłowej masie urodzeniowej (3).

Dotąd nie wyjaśniono mechanizmów kształtowania się odmiennej flory bakteryjnej jelita u prosiąt z zespołem wewnątrzmacicznego zahamowania wzrostu. Podobnie na modelu szczurzym wykazano, że zespół ten znacząco zmienia skład flory bakteryjnej. Co więcej, zauważono, że te różnice utrzymują się przez całe życie (11). Pośrednim dowodem na zmianę składu flory bakteryjnej u prosiąt z zespołem wewnątrzmacicznego zahamowania wzrostu może być wyraźny wzrost białek szoku cieplnego (HSP) w porównaniu z prosiętami urodzonymi z prawidłową masą ciała (12). W jednym z badań wykazano korelację HSP z rozwojem szczególnych gatunków bakterii jelitowych, np. *Lactobacillus* spp. w jelicie krętym i *Clostridia* w okrężnicy (13).

### Tkanka limfatyczna przewodu pokarmowego

Tkanka limfatyczna przewodu pokarmowego jest bardzo ważną częścią ogólnego układu immunologicznego, na który składa się wiele mechanizmów zapewniających możliwość skutecznej obrony przed patogenami i jednocześnie tolerancję na nieszkodliwe antygeny, jakimi są naturalna flora bakteryjna jelita oraz białka pokarmowe.

U prosiąt z zespołem wewnątrzmacicznego zahamowania wzrostu wykazano możliwość obniżenia poziomu odporności swoistej w jelicie m.in. przez obniżenie poziomu cytokin prozapalnych TNF $\alpha$  i INF $\gamma$ , które odpowiedzialne są za mobilizację

limfocytów Th1. Dodatkowo wykazano wpływ zmniejszonej ekspresji mRNA genu IL2 i INF $\gamma$  na bezpośrednie obniżenie statusu immunologicznego związanego z obniżoną ekspresją białka MHC-II, którego głównym zadaniem jest prezentowanie antygenów. Również wykazano zmniejszenie ilości limfocytów śród nabłonkowych sugeruje słabszą odpowiedź na stymulację antygenową po urodzeniu (3).

Co ciekawe, nie wykazano różnicy w ilości przeciwciał klasy IgA u prosiąt z zespołem wewnątrzmacicznego zahamowania wzrostu w porównaniu z prosiętami o prawidłowej masie urodzeniowej (3), chociaż w innych badaniach spadek ekspresji genu *TNFSF13* jako czynnika aktywującego limfocyty B był wskazywany jako dowód na zwiększenie odporności u tych prosiąt właśnie przez wzrost ilości IgA (9).

Ponadto wykazano zwiększoną ekspresję receptora Toll-podobnego 3 (TLR3), który może być stymulowany liposacharydami, i zwiększoną ekspresję ICAM2, którego poziom wzrasta w odpowiedzi na nieswoiste zapalenie jelita w chorobie Leśniowskiego-Crohna. Ponadto obserwowano wzrost CPN2 i DPP7, które uczestniczą we wrażliwości na zapalenie przez szlak prostaglandyn. Czynniki te mogą wpływać na predyspozycję do zapaleń jelit u prosiąt z zespołem wewnątrzmacicznego zahamowania wzrostu (9).

### Żywnienie a odporność w zespole wewnątrzmacicznego zahamowania wzrostu

W kontekście produkcji zwierzęcej, dla ograniczenia wystąpienia zespołu IUGR podejmuje się działania na etapie ciąży poprzez jak najlepsze zbilansowanie diety matki, gdyż zarówno dieta o zbyt niskiej zawartości białka, jak i dieta wysokobiałkowa znacząco zwiększają procent urodzonych prosiąt z tym zespołem (14).

Dotąd nie opracowano skutecznych metod żywienia prosiąt z tym zespołem, chociaż rozpatrując wielkość strat w produkcji trzody chlewnej, problem wart jest poszukiwania skutecznych rozwiązań. W żywieniu prosiąt z zespołem wewnątrzmacicznego zahamowania wzrostu składniki diety wpływające na wzrost i rozwój błony śluzowej jelita pozwoliłyby znacząco wzmocnić mechanizmy nieswoistej obrony jelita, jak integralność nabłonka, funkcje enterocytów i komórek kubkowych. Jak wykazano, dieta wysokoenergetyczna, mimo że troficznie wpływa na błonę śluzową przewodu pokarmowego, powodując wydłużenie kosmków jelitowych i zwiększenie głębokości krypt u prosiąt IUGR, to jednocześnie wywiera niekorzystny wpływ na GALT i ogólny układ odpornościowy (6).

Dieta wysokoenergetyczna u prosiąt z zespołem wewnątrzmacicznego zahamowania wzrostu, w porównaniu z prosiętami na zbilansowanej diecie o prawidłowej masie ciała, wpłynęła na zmniejszenie ekspresji genów receptorów Toll-podobnych (TRL-4, TRL-9) i związanego z nimi w szlaku NF- $\kappa$ B, którego obniżenie ekspresji może regulować mechanizm wpływający na długoterminowe reakcje zapalne. Dieta wysokoenergetyczna wpłynęła także niekorzystnie na profil komórek układu odpornościowego we krwi obwodowej (4).

### Świnia jako model dla człowieka

Badania nad układem odpornościowym związanym z błonami śluzowymi przewodu pokarmowego u prosiąt z zespołem IUGR, mimo iż mogą dostarczyć cennych wskazówek dla hodowcy i pomóc w opracowaniu specjalnego trybu postępowania z tymi prosiętami, mają na celu także lepsze zrozumienie mechanizmów u noworodków ludzkich. Ze względu na podobieństwo w budowie przewodu pokarmowego i podobne zapotrzebowanie na składniki pokarmowe, świnia została uznana za najcenniejszy model doświadczalny w kontekście badań nad strukturą i funkcjonowaniem przewodu pokarmowego u człowieka (6). Zespół wewnątrzmacicznego zahamowania wzrostu u ludzi występuje u 6–10% noworodków (15), dlatego istnieje ogromna zasadność podejmowania tego typu badań.

Opis zmiany struktury jelita oraz zmiany możliwości wykorzystania pewnych składników pokarmowych w zespole wewnątrzmacicznego zahamowania wzrostu została już stosunkowo dobrze opisana. Jednak badania nad układem odpornościowym przewodu pokarmowego w tym zespole są nowym kierunkiem, dlatego istnieje tylko nieliczne publikacje na ten temat, a wyniki w nich otrzymane na pewno wymagają potwierdzenia i kontynuacji.

### Piśmiennictwo

1. Wu G., Bazer F.W., Wallace J.M., Spencer T.E.: Intrauterine growth retardation: Implications for the animal sciences. *J. Anim. Sci.* 2006, **84**, 2316–2337.
2. Kiliańczyk R., Ferenc K., Zabielski R.: Przyczyny i skutki wewnątrzmacicznego ograniczenia wzrostu dla dalszego rozwoju organizmu. *Życie Wet.* 2013, **88**, 771–774.
3. Dong L., Zhong X., Ahmad H., Li W., Wang Y., Zhang L., Wang T.: Intrauterine Growth Restriction Impairs Small Intestinal Mucosal Immunity in Neonatal Piglets. *J. Histochem. Cytochem.* 2014, **62**, 510–518.
4. Han F., Hu L., Xuan Y., Ding X., Luo Y., Bai S., He S., Zhang K., Che L.: Effects of high nutrient intake on the growth performance, intestinal morphology and immune function of neonatal intra-uterine growth-retarded pigs. *Br. J. Nutr.* 2013, **110**, 1819–1827.
5. Bozzetti V., Tagliabue P.E., Visser G.H., van Bel F., Gazzolo D.: Feeding issues in IUGR preterm infants. *Early Hum Dev* 2013, **89** Suppl 2:S21–23.
6. Ferenc K., Pietrzak P., Godlewski M.M., Piwowarski J., Kiliańczyk R., Guilloteau P., Zabielski R.: Intrauterine growth retarded piglet as a model for humans – Studies

- on the perinatal development of the gut structure and function. *Reprod. Biol.* 2014, **14**, 51–60.
7. Skrzypek T., Valverde Piedra J.L., Skrzypek H., Kazimierczak W., Biernat M., Zabielski R.: Gradual disappearance of vacuolated enterocytes in the small intestine of neonatal piglets. *J. Physiol. Pharmacol.* 2007, **58**, 87–95.
  8. Skrzypczak W., Stefaniak T., Zabielski R.: *Fizjologia noworodka z elementami patofizjologii*. PWRiL, 2011, 53–60.
  9. D'Inca R., Kloareg M., Gras-Le Guen C., Le Huërou-Luron I.: Intrauterine growth restriction modifies the developmental pattern of intestinal structure, transcriptomic profile, and bacterial colonization in neonatal pigs. *J. Nutr.* 2010, **140**, 925–931.
  10. Jankowska A., Wrzesinski M., Laubitz D., Kazimierczak W., Skrzypek H., Bardowski J.: Intestinal MMC-related Electric fields and pancreatic juice control the adhesion of Gram-positive and Gram-negative bacteria to the gut epithelium – in vitro study. *J. Physiol. Pharmacol.* 2008, **59**, 795–810.
  11. Fanca-Berthon P., Hoebler C., Mouzet E., David A., Michel C.: Intrauterine growth restriction not only modifies the cecocolonic microbiota in neonatal rats but also affects its activity in young adult rats. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2010, **51**, 402–413.
  12. Zhong G., Wang T., Zhang X., Li W.: Heat shock protein 70 is upregulated in the intestine of intrauterine growth retardation piglets. *Cell Stress Chaperones*. 2010, **15**, 335–342.
  13. Liu H.Y., Dicksved J., Lundh T., Lindberg J.E.: Expression of heat shock proteins 27 and 72 correlates with specific commensal microbes in different regions of porcine gastrointestinal tract. *Americ. J. Phys.* 2010, **51**, 402–413.
  14. Mickiewicz M., Zabielski R., Grenier B., Le Normand L., Savary G., Holst J.J.: Structural and functional development of small intestine in intrauterine growth retarded porcine offspring born to gilts fed diets with differing protein ratios throughout pregnancy. *J. Physiol. Pharmacol.* 2012, **63**, 225–239.
  15. WHO, Department of Child and Adolescent Health and Development. Interventions for physical growth and psychological development; 1999.

---

Karolina Ferenc,  
e-mail: karolina.ferenc@hotmail.com