

Wpływ immunomodulatorów na mastocyty, eozynofile i makrofagi w przebiegu doświadczalnej włośnicy u myszy

JOLANTA PIEKARSKA

Katedra Chorób Wewnętrznych i Pasożytniczych z Kliniką Chorób Koni, Psów i Kotów
Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, Pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław

Piekarska J.

Influence of the select immunotropic compounds on mast cells, eosinophiles and macrophages in the course of the experimental trichinellosis in mice

Summary

The influence of TFX, PHA-P, LPS and dexamethasone on the level of mast cells, eosinophiles and macrophages in the intestines and striated muscles of mice infected with *Trichinella spiralis* has been studied. The observations were made at 7, 14, 21, 28, 35, 42 and 60 days post infection (dpi). Evaluation of the action of immunotropic compounds was based on the immunohistochemical tests and select methods of differentiation. The subject matter of the examinations were mast cells, eosinophiles and macrophages occurring in the inflammatory cell infiltrates in both phases of trichinellosis.

It seems that the administered preparations changed the response of the host in both phases of the infection. The influence of TFX and PHA-P on immunopathological changes that developed in the course of trichinellosis was very similar. A higher increase in the number of all tested cells in the intestinal phase than that in the control and a higher level of macrophages in the muscular phase was determined in both groups of animals. Dexamethasone reduced the number of the tested cells in both organs. The changes in the mice treated with LPS were very similar to that in the control.

Keywords: *Trichinella spiralis*, mast cells, eosinophiles, macrophages

Badanie procesów immunologicznych we włośnicy łączy się ściśle z poznaniem mechanizmów obronnych działających w miejscu przebywania pasożytów. Związane są one zarówno z włośnicami dorosłymi i doprowadzają do nagłego usuwania ich z jelit, jak również towarzyszą pasożytom w mięśniach przyczyniając się do uszkodzenia torebek oraz larw. Wcześniejsze badania komórek nacieku zapalnego rozwijającego się zarówno w jelitach, jak i w mięśniach dotyczyły limfocytów T (CD4⁺ i CD8⁺) oraz B (28). Okazało się, że użyte do badań preparaty immunotropowe, takie jak: TFX, PHA-P, LPS i deksametazon modyfikowały odpowiedź ze strony tych komórek.

Aby lepiej poznać procesy immunopatologiczne rozwijające się w przebiegu włośnicy zarówno w fazie jelitowej, jak i w mięśniowej oraz ich wpływ na pasożyta podjęto obecne badania, w których śledzono zachowanie się innych komórek nacieku zapalnego, a mianowicie: mastocytów, eozynofili i makrofagów.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 240 myszach wsobnego szczepu CFW w wieku około 3 miesięcy i wadze 20 g, któ-

re zarażano *per os* 200 larwami *Trichinella spiralis*. Zwierzęta podzielono na 5 grup badawczych, w których grupa I stanowiła kontrolę (zwierzęta zarażone larwami *T. spiralis*). Grupa II otrzymała tymostymulinę (TFX, firmy Jelfa SA, Jelenia Góra) – w dawce 15 mg/kg masy ciała, podskórną przez 17 dni (od 3. dnia przed do 13. dnia po zarażeniu (dpz)). Zwierzęta z grupy III otrzymały fitohemaglutyninę P (firmy Difco) w dawce 10 mg/kg, jednorazowo, dożylnie, 24 godz. przed zarażeniem. Mysiom z grupy IV wstrzyknięto LPS (firmy Difco) w dawce 25 µg/mysz, jednorazowo, dożylnie, 24 godz. przed zarażeniem. Grupa V otrzymała dootrzewnowo deksametazon (Dexaven, firmy Jelfa SA, Jelenia Góra) w dawce 25 mg/kg, między 1.-5. i 18.-22. dniem po zarażeniu (dpz).

Po 4 zwierzęta z każdej grupy zabijano przez dekapitację w 7., 14., 21., 28., 35., 42. i 60. dniu inwazji. Pobrane podczas sekcji wycinki jelita czczego i mięśnia żwacza zamrażano w ciekłym azocie, a następnie sporządzano preparaty kriostatowe, w których po odpowiednim utrwaleniu badano:

– mastocyty – według metody Enerböcka (4, 5). Tą metodą identyfikowano zarówno mastocyty dojrzałe (czerwone), jak i niedojrzałe (niebieskie);

– eozynofile – rutynową metodą Papenheima zmodyfikowaną przez Karmańską i wsp. (17);

Tab. 1. Liczba mastocytów w blaszce właściwej błony śluzowej jelita czczego (n = 4; $\bar{x} \pm s$)

dpz	I grupa (K)	II grupa (TFX)	III grupa (PHA-P)	IV grupa (LPS)	V grupa deksametazon
7	34,2 ± 5,3	59,1 ± 9,2 **	52,3 ± 3,7 **	36,1 ± 4,2	14,3 ± 1,7 **
14	240,1 ± 40,8	321,8 ± 37,8 *	278,3 ± 56,2	204,8 ± 48,7	105,8 ± 10,4 **
21	146,0 ± 9,3	129,9 ± 12,6	259,3 ± 14,7 **	160,0 ± 28,8	63,1 ± 1,6 **
28	64,2 ± 3,6	64,5 ± 6,7	62,1 ± 9,0	93,8 ± 29,3	83,4 ± 3,3 **
35	54,7 ± 2,5	41,2 ± 18,4	62,4 ± 26,4	44,8 ± 9,9	70,3 ± 5,3 **
42	36,1 ± 5,3	26,9 ± 7,7	39,4 ± 9,4	55,0 ± 8,6 **	29,2 ± 2,0
60	33,8 ± 10,3	29,3 ± 8,6	37,1 ± 17,3	52,2 ± 6,2 *	19,3 ± 2,6*

Objaśnienia: * – różnica istotna statystycznie na poziomie $\alpha = 0,05$, ** – różnica istotna statystycznie na poziomie $\alpha = 0,01$, dpz – dni po zarażeniu

Tab. 2. Liczba eozynofili w blaszce właściwej błony śluzowej jelita czczego (n = 4; $\bar{x} \pm s$)

dpz	I grupa (K)	II grupa (TFX)	III grupa (PHA-P)	IV grupa (LPS)	V grupa deksametazon
7	127,3 ± 22,4	201,9 ± 31,1 **	197,1 ± 59,3	128,1 ± 33,0	97,5 ± 15,4
14	257,8 ± 34,2	339,9 ± 23,6 **	300,9 ± 41,5	229,4 ± 41,1	111,8 ± 39,7 **
21	275,4 ± 14,4	291,7 ± 38,4	279,9 ± 22,3	94,5 ± 9,9 **	36,8 ± 13,9 **
28	119,4 ± 31,9	213,0 ± 95,8	178,9 ± 53,1	91,4 ± 35,3	63,8 ± 46,6
35	100,5 ± 37,6	134,6 ± 14,7	144,7 ± 47,9	76,6 ± 45,9	43,9 ± 18,1 *
42	86,9 ± 14,0	126,1 ± 12,9 **	117,5 ± 32,4	47,4 ± 8,3 **	63,2 ± 10,2 *
60	77,0 ± 13,7	91,3 ± 9,3	88,2 ± 7,9	39,9 ± 1,9 **	43,9 ± 5,6 **

Objaśnienia: jak w tab. 1.

Tab. 3. Liczba makrofagów w blaszce właściwej błony śluzowej jelita czczego (n = 4; $\bar{x} \pm s$)

dpz	I grupa (K)	II grupa (TFX)	III grupa (PHA-P)	IV grupa (LPS)	V grupa deksametazon
7	70,9 ± 11,0	78,2 ± 4,8	91,3 ± 12,4 *	75,8 ± 7,8	72,3 ± 3,2
14	65,0 ± 11,0	70,5 ± 10,4	80,7 ± 13,0	52,4 ± 2,2	47,4 ± 12,7
21	46,3 ± 19,8	53,5 ± 11,6	72,9 ± 11,0	36,7 ± 5,7	46,5 ± 11,8
28	39,1 ± 5,1	49,0 ± 9,0	63,2 ± 23,0	25,8 ± 12,4	35,1 ± 13,2
35	46,4 ± 20,9	41,2 ± 16,5	28,7 ± 11,4	30,3 ± 6,1	40,5 ± 14,6
42	47,0 ± 27,4	41,9 ± 7,7	36,1 ± 3,5	21,8 ± 1,7	23,5 ± 2,9
60	30,6 ± 6,0	37,6 ± 5,3	30,6 ± 4,5	25,1 ± 5,7	28,4 ± 8,4

Objaśnienia: jak w tab. 1.

– makrofagi – metodą immunoenzymatyczną wykorzystując nieznakowane przeciwciała Anti-Macrophage (Mac-1) CD11b/CD18 firmy Boehringer-Mannheim.

Wszystkie komórki oglądano w powiększeniu 400 × i liczone w 10 polach widzenia preparatu o grubości 4 μm. Uzyskane średnie przeliczano na 1 mm² preparatu.

W każdej z grup zwierząt w 7., 10., 14. i 21. dniu po zarażeniu liczone pasożyty jelitowe, a w 60. – larwy mięśniowe.

Otrzymane wyniki badań poddano analizie statystycznej przy użyciu testu t-Studenta.

Wyniki i omówienie

W blaszce właściwej błony śluzowej jelit myszy otrzymujących TFX i PHA-P obserwowano silniejsze niż w kontroli pobudzenie mastocytów. Szczyt mobilizacji tych komórek w obu grupach badawczych notowano wprawdzie w tym samym czasie co u zwierząt kontrolnych (14 dpz), jednak był on znacznie wyższy niż u tych ostatnich. TFX i PHA-P jednak nie miały wpływu na poziom komórek tucznych w mięśniach. LPS nie wpływało na zachowanie się mastocytów, a deksametazon obniżał poziom tych komórek w obu narządach (tab. 1 i 4).

Liczba eozynofili zarówno w blaszce właściwej błony śluzowej jelit, jak i w mięśniach wzrastała po podaniu TFX. W jelitach ulegały one wcześniejszej mobilizacji, a najwyższą wartość zanotowano w 14 dpz. Natomiast w mięśniach wyższy niż w grupie kontrolnej poziom eozynofili obserwowano w okresie między szczytem w 28 dpz, a ostatnim 60 dpz. PHA-P również pobudzał przez cały okres obserwacji eozynofile jelitowe, jednak w mięśniach nie wywierał żadnego wpływu na te komórki. Deksametazon obniżał poziom eozynofili w obu narządach. Supresyjne działanie w stosunku do eozynofili wykazał również LPS, a interesujący okazał się fakt, że liczba tych komórek w jelitach gwałtownie spadała w 21 dpz, wtedy gdy w grupie zwierząt kontrolnych osiągały one wartości największe. Natomiast w mięśniowych naciekach zapalnych, chociaż w początkowym okresie zarażenia obserwowano działanie stymulujące w odniesieniu do eozynofili, to od 28. dnia inwazji aż do końca obserwacji było ich znacznie mniej niż w mięśniach myszy kontrolnych (tab. 2 i 5).

Zarówno TFX, jak i PHA-P w wyraźny sposób przyczyniły się do wzrostu poziomu makrofagów zarówno w blaszce właściwej błony śluzowej jelita czczego, jak i w mięśniach. Natomiast najsilniej w obu narządach obniżał liczbę tych komórek LPS. Podobnie deksametazon tłumił odpowiedź makrofagów w obu narządach, chociaż w drugim miesiącu obserwacji (a więc kiedy działanie jego ustało) nastąpił pewien wzrost poziomu tych komórek w naciekach zapalnych w mięśniach (tab. 3 i 6).

W obecnej pracy ocenę działania wybranych związków immunotropowych oparto na badaniach immunohistochemicznych. Przedmiotem obserwacji były mastocyty, eozynofile oraz makrofagi wchodzących w skład nacieków zapalnych w obu fazach włośnicy.

Rozważając udział poszczególnych populacji w kolejnych fazach inwazji *T. spiralis*, zwraca uwagę przede wszystkim wybitny wzrost liczby komórek tucznych

w blaszce właściwej błony śluzowej jelita cienkiego. Już w latach 70. wysunięto koncepcję udziału mastocytów w reakcji obronnej przeciw pasożytom, donosząc o wielokrotnym wzroście ich liczby w blaszce właściwej błony śluzowej jelit cienkich w okresie poprzedzającym lub w czasie usuwania dorosłych nicieni (13). Liczne cytokiny produkowane przez mastocyty wpływają modyfikująco na aktywność różnych komórek immunokompetentnych w przewodzie pokarmowym (12). W przebiegu zarażenia *T. spiralis* obserwowano szczyt pobudzenia mastocytów jelitowych około 16 dpz, a dynamika usuwania dorosłych włośni była zgodna z dynamiką mobilizacji tych komórek (16). Wzrost ich liczby w błonie śluzowej jelita cienkiego w przebiegu inwazji łączy się zwykle z krótszym przebywaniem postaci dorosłych w świetle jelita (29). Nacieki mastocytów do błony śluzowej jelita zależy od pobudzenia limfocytów T (25). Zarówno IL-3, jak i IL-4 wydzielane przez te limfocyty wzmagają proliferację mastocytów śluzówkowych. Także IL-9, nazywana czynnikiem wzrostowym mastocytów, wzmagają odpowiedź tych komórek w błonie śluzowej, co objawia się nagłym usuwaniem dorosłych form *T. spiralis* z jelit (6). Stem Cell Factor (SCF) – czynnik wzrostu i proliferacji komórek szpiku, a w szczególności komórek tucznych u myszy zarażonych *T. spiralis* odgrywa szczególną rolę w indukowaniu odczynu obronnego żywiciela (8). Blokowanie aktywności SCF u myszy w przebiegu zarażenia *T. spiralis* powodowało obniżenie poziomu mastocytów w jelitach oraz przedłużenie fazy jelitowej w związku z zahamowaniem procesu „expulsion”. Potwierdzono także rolę SCF jako czynnika niezbędnego w reakcji obronnej, regulującego przyleganie mastocytów do fibroblastów (10). Ostatnie prace wskazują, że u myszy zarażonych *T. spiralis* usuwanie dorosłych pasożytów z jelit zależy od jelitowej mastocytozy, która z kolei wymaga aktywacji cząsteczki białka transkrypcyjnego Stat6 przez odpowiednie cytokiny IL-4, IL-13 (35). Inaczej zachowują się komórki tuczne w fazie mięśniowej. Udział ich w komórkowych naciękach zapalnych jest niewielki, a nieduży wzrost ich liczby notowano dopiero w drugim miesiącu inwazji eksperymentalnie zarażonych myszy (18).

Eozynofilia jest ważnym wskaźnikiem inwazji pasożytniczej i była przedmiotem licznych badań (7, 26, 30). Wynikało z nich, że dojrzałe eozynofile wykazują bezpośrednie działanie cytotoksyczne poprzez uwalnianie anionu O₂, który w obecności przeciwciał IgG2a oraz mastocytów powoduje uszkodzenie pasożytów. Rolę eozynofili badano także na modelu włośnicy (9). Podając surowicę anti-eozynofilową myszom zarażo-

Tab. 4. Liczba mastocytów w mięśniach żwacza (n = 4; $\bar{x} \pm s$)

dpz	I grupa (K)	II grupa (TFX)	III grupa (PHA-P)	IV grupa (LPS)	V grupa deksametazon
7	8,0 ± 1,4	7,4 ± 1,0	6,8 ± 1,7	7,1 ± 1,0	4,0 ± 0,4 **
14	7,8 ± 1,7	8,7 ± 0,6	7,9 ± 1,5	8,5 ± 0,9	5,8 ± 0,2
21	9,4 ± 1,3	8,8 ± 1,2	10,0 ± 0,6	10,2 ± 1,8	5,3 ± 0,5 **
28	8,8 ± 1,6	9,8 ± 0,7	9,0 ± 1,6	9,4 ± 3,9	6,8 ± 0,9
35	10,3 ± 1,7	10,3 ± 1,4	10,9 ± 3,6	9,7 ± 1,3	7,1 ± 0,6 **
42	11,7 ± 2,8	10,6 ± 2,8	12,8 ± 1,7	10,3 ± 1,6	6,3 ± 0,4 **
60	11,8 ± 1,6	12,5 ± 6,3	13,9 ± 6,7	11,3 ± 1,8	8,7 ± 1,8 *

Objaśnienia: jak w tab. 1.

Tab. 5. Liczba eozynofili w mięśniach żwacza (n = 4; $\bar{x} \pm s$)

dpz	I grupa (K)	II grupa (TFX)	III grupa (PHA-P)	IV grupa (LPS)	V grupa deksametazon
7	4,2 ± 2,3	5,1 ± 3,1	2,8 ± 1,8	3,5 ± 2,6	1,4 ± 0,3
14	14,1 ± 1,6	18,9 ± 9,8	11,2 ± 7,4	19,6 ± 3,6 *	27,9 ± 20,7
21	222,7 ± 15,9	181,5 ± 28,5 *	215,2 ± 55,3	268,2 ± 56,8	58,9 ± 33,9 **
28	306,0 ± 53,7	340,2 ± 54,2	324,5 ± 177,3	224,7 ± 20,1 *	71,3 ± 39,3 **
35	257,7 ± 35,6	319,9 ± 76,2	271,4 ± 50,9	240,2 ± 59,3	202,0 ± 76,3
42	216,8 ± 74,8	246,8 ± 72,9	216,6 ± 7,3	95,6 ± 40,0 *	136,2 ± 46,8
60	169,4 ± 33,6	253,0 ± 40,6 **	193,7 ± 49,4	149,5 ± 45,6	186,3 ± 33,8

Objaśnienia: jak w tab. 1.

Tab. 6. Liczba makrofagów w mięśniach żwacza (n = 4; $\bar{x} \pm s$)

dpz	I grupa (K)	II grupa (TFX)	III grupa (PHA-P)	IV grupa (LPS)	V grupa deksametazon
7	1,3 ± 0,3	1,1 ± 0,5	1,7 ± 2,0	1,2 ± 0,5	0,7 ± 0,5
14	8,7 ± 3,2	6,8 ± 4,6	6,8 ± 2,2	7,3 ± 4,0	9,9 ± 4,4
21	29,9 ± 8,4	54,4 ± 10,3 **	36,3 ± 6,4	29,6 ± 10,7	24,9 ± 2,2
28	22,9 ± 1,5	32,1 ± 9,0	39,2 ± 13,8	19,6 ± 8,8	24,9 ± 9,2
35	17,2 ± 2,2	30,2 ± 3,9 **	34,5 ± 9,2 **	13,5 ± 3,5	24,9 ± 1,1 **
42	14,1 ± 1,9	20,3 ± 1,7 **	31,3 ± 6,4 **	9,6 ± 3,2	19,7 ± 1,7 **
60	13,9 ± 3,1	24,8 ± 5,2 **	23,5 ± 3,7 **	12,0 ± 2,1	21,9 ± 7,6 **

Objaśnienia: jak w tab. 1.

nym *T. spiralis* obserwowano dwukrotny wzrost liczby larw mięśniowych w porównaniu z grupą kontrolną. Hipotezę zakładającą, że eozynofile stanowią mechanizm obronny w mięśniowej fazie włośnicy popierały wyniki badań *in vitro*, w których udowodniono, że zabijają one nowo urodzone larwy (1, 19). Z dalszych badań wynikało, że we krwi myszy zarażonych *T. spiralis* poziom eozynofili zaczynał wzrastać już od 2. dnia inwazji, osiągając szczyt w 15 dpz, oraz że podobnie zachowywały się te komórki w płynie otrzewnowym (14). Najwyższy poziom eozynofili w błonie śluzowej jelit myszy zarażonych *T. spiralis* obserwowano w 16 dpz, natomiast w mięśniach prądkowanych szczyt pobudzenia przypadał na okres między 20. a 30.

dniem inwazji. Eozynofile wykazywały także cytotoksyczne działanie w stosunku do *Trichinella spiralis* poprzez wytwarzanie nadtlenków (H_2O_2 , O_2 , OH) lub też halogenizację w obecności eozynoperoksydazy i jonów chloru (2). Jednak wykazano, że w przebiegu inwazji *T. spiralis* mimo wyeliminowania IL-5 odpowiedzialnej za dojrzewanie, migrację i przedłużenie czasu przeżycia eozynofili, tempo usuwania dorosłych włośni nie zmieniło się, co sugerowało, że eozynofilia nie odgrywa znaczącej roli podczas adaptacji larw inwazyjnych i w procesie „expulsion” (11, 20, 37). Podobne spostrzeżenia opisano, gdy myszom zarażonym *T. spiralis* podawano ketotifen, który zmienił dynamikę odpowiedzi eozynofili, mastocytów i IL-5 w błonie śluzowej jelita, ale tylko w niewielkim stopniu wpłynął na przebieg fazy jelitowej (3). Natomiast odmienne stanowisko zajęli w tej kwestii autorzy, którzy badali wpływ eozynofili na przebieg inwazji *T. spiralis* u myszy z defektem genu odpowiedzialnego za wytwarzanie IL-5 (36). Okazało się, że brak IL-5 znacznie obniża liczbę eozynofili w blaszce właściwej błony śluzowej jelit cienkich zarażonych myszy, co wpływa na opóźnienie procesu „expulsion” i znacznie większą liczbę dorosłych postaci *T. spiralis* w jelitach w porównaniu z myszami z normalną ekspresją genu odpowiedzialnego za wytwarzanie IL-5. Według opinii innych badaczy, eozynofile są zróżnicowanymi komórkami, podlegającymi apoptozie (33), a znaczny wzrost poziomu IL-3, IL-5 i GM-CSF w chorobach, którym towarzyszą eozynofile sugeruje, iż apoptoza tych komórek jest opóźniona (31). Dlatego zostało wysunięte przypuszczenie, że eozynofilia jest spowodowana nie tylko chemotaktyczną aktywnością cytokin i chemokin, ale także zahamowaniem procesu apoptozy (32). Być może zatem, że rolę eozynofili w odpowiedzi gospodarza na inwazję pasożytniczą wyjaśnią dopiero badania procesu apoptozy.

Rolę makrofagów w przebiegu włośnicy badano u myszy traktowanych surowicą antylimfocytarną, która powodowała spadek limfocytów i granulocytów oraz wzrost liczby histiocytów w komórkowych naciekach zapalnych (24). W tym samym czasie nastąpiło pobudzenie całego układu USŚ (RES), któremu towarzyszyła przedłużona faza jelitowa i bardziej intensywna inwazja mięśniowa. Podawanie zarażonym myszom surowicy antymakrofagowej wykazało brak bezpośredniego udziału tych komórek w usuwaniu dorosłych pasożytów z jelit oraz w procesie osiedlenia się larw w mięśniach, a nawet obserwowano więcej larw u myszy, które otrzymywały surowicę antymakrofagową (21-23). Zastosowanie techniki immunoenzymatycznej i wykorzystanie przeciwciał monoklonalnych pozwoliło lepiej poznać zachowanie makrofagów w przebiegu doświadczalnej włośnicy u myszy (15). Najwyższą i najszybszą

mobilizację tych komórek obserwowano w 7 dpz w blaszce właściwej błony śluzowej jelit. Najwyższy poziom makrofagów w mięśniowych naciekach zapalnych notowano w 21 dpz, a wewnątrz torebek larw w 28. dniu inwazji, przy czym zwrócono uwagę, że w okresie między 35 a 42 dpz komórki te przylegały do wewnętrznej ściany torebki larwalnej tworząc charakterystyczną „wyściółkę”. W ostatnich badaniach procesu fagocytozy makrofagów otrzewnowych w przebiegu włośnicy u myszy stwierdzono, że inwazja *T. pseudospiralis* czy *T. spiralis* powoduje obniżenie procentowej ilości fagocytujących makrofagów oraz ich zdolności fagocytarnych (34). Jest to, być może, efekt działania prostaglandyn, które odgrywają ważną rolę w indukowaniu odpowiedzi zapalnej, bowiem gdy podawano zwierzętom inhibitory syntezy prostaglandyn, obserwowano zahamowanie tego zjawiska i pobudzenie procesu fagocytozy. Równocześnie zwrócono uwagę na rolę makrofagów w inicjowaniu odpowiedzi ze strony komórek Th1 podczas inwazji *T. spiralis* (27). Wykazano, że mysie makrofagi aktywowane przez antygeny larwalne mogą wydzielać IL-12, która indukuje aktywność i proliferację limfocytów Th1.

Podsumowanie wyników

Wpływ TFX i PHA-P na zmiany immunopatologiczne rozwijające się w przebiegu włośnicy był bardzo podobny. W obu grupach zwierząt obserwowano większy niż w kontroli wzrost liczby mastocytów, eozynofili i makrofagów w fazie jelitowej oraz wyższy poziom makrofagów w fazie mięśniowej.

Deksametazon działał odwrotnie niż TFX i PHA-P. W błonie śluzowej jelit zwierząt stwierdzono spadek liczby mastocytów, eozynofili. W fazie mięśniowej obserwowano bardzo skąpe nacieki zapalne, w których liczba eozynofili była niższa niż w kontroli przez cały okres obserwacji, zaś makrofagów do 21 dpz.

Obraz zmian u myszy traktowanych LPS był najbardziej zbliżony do tego, jaki obserwowano w grupie myszy kontrolnych. Mniejszą niż w kontroli mobili-

Tab. 7. Liczba postaci dojrzałych *Trichinella spiralis* w jelitach (n = 4; $\bar{x} \pm s$)

dpz	I grupa (K)	II grupa (TFX)	III grupa (PHA-P)	IV grupa (LPS)	V grupa deksametazon
7	65,0 ± 7,0	48,0 ± 4,0 **	54,0 ± 17,0	58,0 ± 15,0	61,0 ± 17,0
10	15,0 ± 6,0	9,0 ± 6,0 *	10,0 ± 11,0	13,0 ± 11,0	19,0 ± 10,0
14	1,0 ± 2,0	2,0 ± 1,0	2,0 ± 2,0	0,0 ± 0,0	1,0 ± 2,0
21	0,0 ± 0,0	1,0 ± 1,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	1,0 ± 1,0

Objaśnienia: jak w tab. 1.

Tab. 8. Liczba larw *Trichinella spiralis* w mięśniach (n = 10; $\bar{x} \pm s$)

dpz	I grupa (K)	II grupa (TFX)	III grupa (PHA-P)	IV grupa (LPS)	V grupa deksametazon
60	22 350 ± 4510,0 **	16 272 ± 1795,0 **	17 552 ± 2194,0	22 900 ± 4365,0	23 270 ± 5921,0

Objaśnienia: jak w tab. 1.

zając mastocytów i eozynofili notowano w fazie jelitowej, zaś samych eozynofili – w fazie mięśniowej.

Proces usuwania włóśni dorosłych z jelit był w grupach myszy otrzymujących TFX lub PHA-P szybszy niż w kontroli, u zwierząt traktowanych deksametazonem wolniejszy, zaś u tych, którym podawano LPS podobny do tego, jaki obserwowano w grupie zwierząt kontrolnych (tab. 7). Mniejszą liczbę larw stwierdzono w mięśniach myszy traktowanych TFX i PHA-P, większą u myszy, które otrzymywały deksametazon, zaś niemal identyczną jak w grupie zwierząt kontrolnych wykazano u zwierząt, którym podawano LPS (tab. 8).

Piśmiennictwo

1. Bass D. A., Szejda P.: Eosinophil versus neutrophils in host defense. Killing of newborn larvae of *Trichinella spiralis* by human granulocytes in vitro. *J. Clin. Invest.* 1979, 64, 1415-1422.
2. Buys J., Wever R., Ruitenber E. J.: Myeloperoxidase is more efficient than eosinophil peroxidase in the in vitro killing of newborn larvae of *Trichinella spiralis*. *Immunology* 1984, 51, 601-607.
3. Doligalska M.: Immune response to *Trichinella spiralis* larvae after treatment with the anti-allergic compound ketotifen. *Parasitol. Res.* 2000, 86, 232-238.
4. Enerbäck L.: Mast cells in rat gastrointestinal mucosa. I. Effect of fixation. *Acta Path. Microbiol. Scand.* 1966 a, 66, 289-302.
5. Enerbäck L.: Mast cells in rat gastrointestinal mucosa. II. Dyebinding and metachromatic properties. *Acta Path. Microbiol. Scand.* 1966 b, 66, 303-312.
6. Faulkner H., Humphreys N., Renauld J. C., Van Snick J., Grensis R.: Interleukin-9 involved in host protective immunity to intestinal nematode infection. *Eur. J. Immunol.* 1997, 27, 2536-2540.
7. Goetzl E. J., Austen F.: Cellular characteristic of the eosinophil compatible with a dual role in mast defense in parasitic infection. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1977, 26, 142-150.
8. Grensis R. K., Donaldson L. E., Huntley J. F.: The role of Steam Cell Factor (C-kit Ligand) in immunity to *Trichinella spiralis* in mice. [w:] *Trichinellosis*. (eds.) Campbell W. C., Pozio E., Bruschi F. Instituto Superiore di Sanita Press. Italy, Roma 1994, 235-237.
9. Grove D. J., Mahmoud A. A. F., Warren K. S.: Eosinophils and resistance to *Trichinella spiralis*. *J. Exp. Med.* 1977, 145, 755-759.
10. Hamawy M. M., Mergenhagen S. E., Siraganian R. P.: Adhesion molecules as regulators of mast-cell and basophil function. *Immunol. Today.* 1994, 15, 65-66.
11. Herdon F. J., Kayes S. G.: Depletion of eosinophils by anti-IL-5 monoclonal antibody treatment of mice infected with *Trichinella spiralis* does not alter parasite burden or immunological resistance to reinfection. *J. Immunol.* 1992, 149, 3642-3647.
12. Janiak M. K.: Układ odpornościowy przewodu pokarmowego. *Med. Wet.* 1996, 52 (10), 611-614.
13. Jarrett E. E., Bazin H.: Elevation of total serum IgE in rats following helminth parasite infection. *Nature* 1974, 251, 613-614.
14. Karmańska K.: The eosinophils in experimental trichinellosis in mice. [w:] *Trichinellosis – Fifth International Conference on Trichinellosis*. (eds.) Kim C. W., Ruitenber E. J., Teppema J. S. Red books Ltd, England 1981, 101-103.
15. Karmańska K., Houszka M., Widyma A., Stefaniak E.: Macrophages during infection with *Trichinella spiralis* in mice. *Wiad. Parazytol.* 1997, 43, 3, 245-249.
16. Karmańska K., Kozar Z., Seniuta R., Czajkowska J.: Behavior of mast cells in experimental trichinellosis in mice. *Wiad. Parazytol.* 1971, 17, 593-607.
17. Karmańska K., Michalska Z., Mielczarek J., Ślaska B.: An attempt at modifying immunopathological changes in the muscles of mice by infection with *Trichinella spiralis* larvae of identical age. *Acta Parasitol. Pol.* 1990, 35, 2, 167-172.
18. Karmańska K., Michalska Z., Mielczarek J., Ślaska B.: Dynamika zmian immunopatologicznych w mięśniowej fazie włósnicy. *Wiad. Parazytol.* 1987, 33, 4-5, 509-515.
19. Kazura J. W., Grove D. J.: Stage-specific antibody-dependent eosinophil-mediated destruction of *Trichinella spiralis*. *Nature* 1978, 274, 588-589.
20. Korenaga M., Tada I.: The role of IL-5 in the immune responses to nematodes in rodents. *Parasitol. Today* 1994, 10, 234-235.
21. Kozar M.: Effect of stimulation or inhibition of RES in mice on the course of Trichinellosis. *Wiad. Parazytol.* 1969, 15, 5-6, 624-625.
22. Kozar M.: Investigations on the induction and inhibition of immunity in mice infected with *Trichinella spiralis*. *Acta Parasitol. Pol.* 1973, 21, 115-171.
23. Kozar Z., Karmańska K., Kotz J., Seniuta R.: Influence of antimacrophage serum (AMS) on the course of trichinellosis in mice. *Histological, histochemical and immunohistological changes observed in the small intestine, lymphatic organs and striated muscle.* *Wiad. Parazytol.* 1971 b, 17, 573-591.
24. Kozar Z., Karmańska K., Kotz J., Seniuta R.: The influence of antilymphocytic serum (ALS) on the course of trichinellosis in mice. III. *Histological, histochemical and immunohistological changes observed in striated muscle.* *Wiad. Parazytol.* 1971 a, 17, 559-572.
25. Madden K. B., Urban J. F., Ziltener H. J., Schrader J. W., Finkelman F. D., Katona I. M.: Antibodies to IL-3 and IL-4 suppress helminth-induced intestinal mastocytosis. *J. Immunol.* 1991, 147, 1387-1391.
26. Mahmoud A. A. F., Warren K. S., Peters P. A.: A role for eosinophil in acquired resistance to *Schistosoma mansoni* infection as determined by an eosinophil serum. *J. Exp. Med.* 1975, 142, 805-813.
27. Mohda J., Piedrafita D., Roberts M., Kusek J. R., Kennedy M. W.: Secretion of IL-12 by murine macrophages activated by immunoglobulin receptor-mediated internalization of the surface coat of *Trichinella spiralis* larvae. *Parasite Immunol.* 2000, 22, 115-120.
28. Piekarska J.: Wpływ wybranych związków immunotropowych na limfocyty T (CD4⁺, CD8⁺) i B w przebiegu doświadczalnej włósnicy u myszy. *Med. Wet.* 2003, 59 (4), 339-343.
29. Race G. J., Larsh J. E., Martin J. H., Weartherly N. F.: Light and electron microscopy of the intestinal tissue of mice parasitized by *Trichinella spiralis*. [w:] *Trichinellosis*. (ed.) Charles W. Kim, Intext, New York 1974, 75-100.
30. Schollenberger A., Czwińska A.: Funkcje obronne eozynofili w inwazjach robaków. *Med. Wet.* 2001, 57 (8), 552-558.
31. Simon H. U., Blaser K.: Inhibition of programmed eosinophil death: a key pathogenic event for eosinophilia? *Immunol. Today* 1995, 16, 53-55.
32. Simon H. U., Yousefi S., Schranz C., Schapowal A., Bachert C., Blaser K.: Direct demonstration of delayed eosinophil apoptosis as a mechanism causing tissue eosinophilia. *J. Immunol.* 1997, 158, 3902-3908.
33. Stern M., Meagher L., Savill J., Haslett C.: Apoptosis in human eosinophils. Programmed cell death in the eosinophil leads to phagocytosis by macrophages and is modulated by IL-5. *J. Immunol.* 1992, 148, 3543-3549.
34. Skudliński J.: The process of phagocytosis in the course of *Trichinella* infection in mice. *Helminthologia.* 2000, 37, 3, 127-130.
35. Urban J. F., Schopf L., Morris S. C., Orekhova T., Madden K. B., Betts K. J., Gamble H. R., Byrd C., Donaldson D., Else K., Finkelman F. D.: Stat 6 signaling promotes protective immunity against *Trichinella spiralis* through a mast cell- and T cell-dependent mechanism. *J. Immunol.* 2000, 164, 2046-2052.
36. Vallance B. A., Matthaei K. I., Sanovic S., Young I. G., Collins S. M.: Interleukin-5 deficient mice exhibit impaired host defence against challenge *Trichinella spiralis* infections. *Parasite Immunology.* 2000, 22, 487-492.
37. Yamaguchi Y., Hayashi Y., Sugama Y., Miura Y., Kasahara T., Kitamura S., Torisu M., Mita S., Tominaga A., Takatsu K., Suda T.: Highly purified murine interleukin-5 (IL-5) stimulates eosinophil function and prolongs in vitro survival. IL-5 as a eosinophil chemotactic factor. *J. Exp. Med.* 1988, 167, 1737-1742.

Adres autora: dr Jolanta Piekarska, Pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław; e-mail: Jola@ozi.ar.wroc.pl

MARTINO P. E., STANCHI N. O., BAUTUSTA E., ARIAS D., GATTI M.: Doniesienie o retrospektywnym badaniu zaburzeń rozrodczych u samic nutrii (*Myocastor coypus*). (A note on a retrospective study of reproductive disorders in nutria (*Myocastor coypus*) dams). *Israel J. Vet. Med.* 57, 159-162, 2002 (4)

Przez okres 2 lat badano częstotliwość występowania zaburzeń w rozrodczości pierworódek i wieloródek nutrii. Ogółem przebadano klinicznie, metodami cytologicznymi i bakteriologicznymi 92 samice, głównie grenlandy i szafiry, u których występowała nieplodność, zaburzenia prenatalne i postnatalne. Nieplodność i zaburzenia prenatalne występowały u 2/3 samic, statystycznie istotnie częściej u pierworódek niż u wieloródek. Z 76% wymazów z pochwy izolowano *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus sp.*, *Klebsiella pneumoniae*, β-hemolityczne paciorkowce. Zmiany cytologiczne w pochwie w formie nacieków neutrofilii i martwicy występowały u 97% nutrii. Z tych zmian izolowano *Staph. intermedius*, *Bacteroides intermedius*, *Clostridium perfringens*, *Pasteurella haemolytica*. w trzech przypadkach występował *Rhizopus* i *Aspergillus niger*.
G.