

LUDWIK MERESTA, EDWARD KOTYRBA, TADEUSZ MERESTA

Próba wczesnego wykrywania czerniaków u koni przy pomocy antygenowej prowokacji leukergii

Instytut Weterynarii, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Czerniaki zwierząt najczęściej występują u koni i to przede wszystkim u koni siwych (7, 14). Houszka i Kaszubkiewicz (8) na podstawie wieloletniego badania materiału sekcyjnego stwierdzili, że największy odsetek nowotworów u koni stanowiły czerniaki (50% nowotworów skóry) i że są one bardzo typowe dla tego gatunku zwierząt. Występują głównie w okolicy odbytu, sromu, wymienia, moszny, puzdra pod postacią guzowatości dających przerzuty do wątroby, śledziony i płuc. Nieliczne doniesienia krajowe (9, 13) wskazują, że mogą one występować i u innych gatunków zwierząt domowych.

Jednym z głównych kierunków badań nad nowotworami jest opracowanie metod wczesnego ich rozpoznawania (2). Obok badań histopatologicznych, niekiedy próby fizykochemiczne lub serologiczne pozwalają rozstrzygnąć wątpliwości diagnostyczne. Metody te nie pozwalają jednakże na wczesne rozpoznanie choroby. Doniesienia Dmowskiego i wsp. (3), Gamskiego (5, 6) i Zielińskiego i wsp. (15), wykazały, że określanie poziomu leukergii u ludzi po prowokacji antygenem uzyskanym z tkanki nowotworowej nadaje się do wczesnego wykrywania nowotworów. Zjawisko to łączy się z istnieniem tzw. autoalergii narządowej (6). Jak można sądzić z dostępnego piśmiennictwa podobnych badań u zwierząt gospodarskich nie przeprowadzano.

Celem pracy było: 1. zbadanie występowania leukergii po podaniu antygeny z komórek czerniaka, 2. ustalenie częstotliwości pojawiania się prowokacji antygenowej leukergii u koni różnych maści. 3. przesłedzenie wpływu kilkakrotnego podawania antygeny czerniakowego na poziom leukergii i 4. zbadanie zachowania się leukergii u koni z klinicznymi objawami czerniaka.

Materiał i metody

Antygen. Jako antygeny do próby prowokacji leukergii używano wyciągu z komórek czerniaka konia, przygotowanego wg techniki opisanej przez Gamskiego (5) i Zielińskiego i wsp. (15). Preparat ten oznaczono symbolem K2. Zawartość białka w tym wyciągu określona metodą Kjeldahla wynosiła 0,87 mg/ml. Do prób kontrolnych używano wyciągu oznaczonego symbolem K1, sporządzonym w sposób podobny jak K2, z tkanki mięsnej zdrowego rocznego konia pochodzącego z uboju. Poziom białka w preparacie K1 wynosił 0,23 mg/ml. Ponadto do prób kontrolnych używano jałowego płynu fizjologicznego z dodatkiem 0,5% fenolu. Antygen K2, K1 jak i płyn fizjologiczny podawano poprzez 3 śródskórne wkłucia, wprowadzając po 0,2 ml preparatu w odstępach 3—4 cm w linii ciągłej, na środkowo-bocznej części szyi.

Zwierzęta. Badania przeprowadzono na 149 koniach (ogierach i wałachach), rasy arabskiej lub anglo-arabskiej różnych maści, w wieku od 3 do 21 lat. Z badań wyłączone klacze dla wyeliminowania ewentualności wpływu leukergii fizjologicznej (ciąża) (1). Stan odżywienia, utrzymania i pielęgnacji badanych koni był bardzo dobry. W okresie przeprowadzanych doświadczeń konie nie wykazywały widocznych odchyłań klinicznych od prawidłowego stanu zdrowia. Konie podzielono na 3 zasadnicze grupy.

Grupa pierwsza (tab. 1) liczyła 114 koni różnych maści i wieku, którym podawano preparat K2. Spośród 42 koni, u których prowokacja antygenowa leukergii była dodatnia w 2 tygodnie po pierwszym badaniu podano ponownie antygen K2 i oznaczono poziom leukergii. W trzy miesiące później koniom tym (w liczbie 39) podano ponownie preparat K2 i badano zachowanie się poziomu leukergii.

Grupa druga składała się z 7 koni (4 siwe, 1 gniady, 1 kary, 1 kasztan) z klinicznymi objawami czerniaka. Zwierzętom tym podawano dwukrotnie antygen K2 w odstępach 8 tygodni i obserwowano zachowanie się poziomu leukergii.

Grupa trzecia kontrolna liczyła 28 koni (maści gniadej, karej i kasztanowatej) w wieku 4—17 lat. Czternastu koniom wstrzykiwano preparat K1, pozostałym 14 płyn fizjologiczny.

Krew do badania leukergii pobierano z żyły jarzomowej przed podawaniem preparatów, a następnie w 72 godzinach po ich iniekcji. Poziom leukergii obliczano wg techniki podanej w pracach poprzednich (10, 11). Jako dodatni wynik prowokacji antygenowej leukergii przyjęto, podobnie jak w pracy poprzedniej (11), wzrost leukergii od 5% do ~ od poziomu wyjściowego. Dla każdej grupy zwierząt wyliczono statystycznie średni poziom leukergii z każdego badania.

Tab. 1. Zachowanie się poziomu leukergii u koni po wprowadzeniu antygeny czerniaka (K2)

Badanie	Liczba badanych zwierząt	Odsetek zwierząt u których wystąpiła prowokacja antygenowa leukergii %	Średni wzrost poziomu leukergii %
1	siwe 22	100,0	24,3
	innych maści 92	44,0	18,4
2	siwe 20	75,0	14,0
	innych maści 22	68,0	13,5
3	siwe 14	57,0	6,0
	innych maści	44,0	7,0

Wyniki i omówienie

Wyniki badań przeprowadzonych na pierwszej grupie zwierząt przedstawiono w tab. 1. Wskazują one, że na 114 koni po pierwszym podaniu antygeny K2 wystąpił wzrost poziomu leukergii u 63 koni, co stanowi 55,2% ogółu badanych. U koni siwych obserwowano wzrost poziomu leukergii u 100% badanych, natomiast u koni innych maści u 44,5%. Konie siwe zareagowały wzrostem poziomu leukergii aż o 24,3% konie innych maści o 18,4%. Po powtórnym wstrzyknięciu preparatu K2 42 koniom,

poziom leukergii wzrósł u 30 koni, co stanowiło 71,0% badanych. Konie siwe zareagowały po antygenie w 75%, zaś konie innych maści w 68%. Wzrost poziomu leukergii u koni siwych wynosił 14,0%, zaś u koni innych maści 13,5%. Po trzecim podaniu antygeny czerniakowego K2 (39 koniom) wzrost poziomu leukergii obserwowano tylko u 19 koni, a więc już tylko u 48% badanych zwierząt. Wzrost poziomu leukergii stwierdzono u 57% koni siwych o 6,0% od poziomu wyjściowego. U koni innych maści wykazano u 44% badanych wzrost o 7,0% od poziomu wyjściowego. Przedstawione dane wykazują, że po trzeciej iniekcji antygeny K2 około 13% koni uprzednio reagujących wzrostem poziomu leukergii nie reagowało na podany po raz trzeci preparat.

Spośród 39 koni trzykrotnie badanych 18 poddano badaniom sekcyjnym w czasie od 3 tygodni do 18 miesięcy po ostatnim teście leukergicznym. U wszystkich tych koni stwierdzono ogniska czerniakowe rozsiane w tkance okołoodbytowej lub mięśniach grzbietu. Przyczyniwo u tych koni nie obserwowano żadnych objawów klinicznych nasuwających podejrzenie czerniaka. Konie te we wszystkich trzech badaniach wykazywały każdorazowo wzrost poziomu leukergii po podaniu preparatu K2. Poziom leukergii tych koni przedstawiono na ryc. 1.

Poziom leukergii po antygenie K2 u koni z klinicznymi objawami czerniaka przedstawiono na ryc. 2. U koni tych nie stwierdzono wzrostu poziomu leukergii po podaniu antygeny K2, jednakże utrzymywał się u nich stały wysoki poziom leukergii od 19,8% do 55,8%. W grupie tej w drugim badaniu 2 konie zareagowały nieznacznym wzrostem leukergii po podaniu antygeny K2.

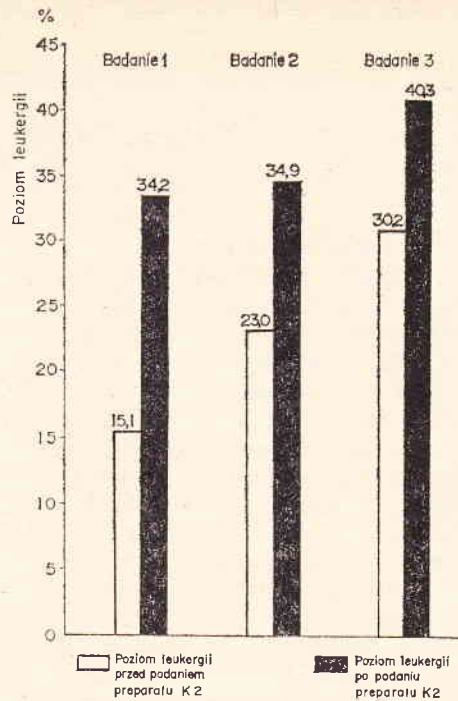
W trzeciej grupie kontrolnej na ogół nie stwierdzono istotnego wzrostu poziomu leukergii po wstrzyknięciu płynu fizjologicznego lub preparatu K1. Tylko jeden koń (gniady lat 4) zareagował wzrostem poziomu leukergii po preparacie K1 o 4,8%.

Wnioski

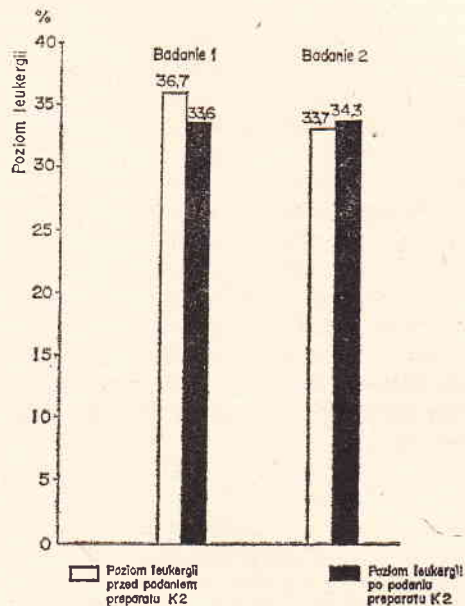
1. Wzrost poziomu leukergii po podaniu antygeny uzyskanego z tkanki czerniaka wahał się u koni siwych w kolejnych badaniach od 57% do 100% obserwowanych zwierząt, zaś u koni innych od 44% do 68%.

2. Badanie pośmiertne 18 koni wykazało, że reagujące przy trzykrotnie powtarzanych testach wzrostem poziomu leukergii na wprowadzony antygen czerniakowy, zaatakowane były procesem chorobowym rozwijającego się czerniaka.

3. Stosowane dawki preparatu K2 u koni z klinicznymi objawami czerniaka nie powodowały wzrostu poziomu leukergii.



Ryc. 1. Poziom leukergii u koni poddanych badaniom sekcyjnym



Ryc. 2. Poziom leukergii u koni z klinicznymi objawami czerniaka

4. Przeprowadzone próby pozwalają na kontynuowanie dalszych badań zmierzających do przyżyciowego wykrywania nowotworów u zwierząt przy pomocy odczynu prowokacji antygenowej leukergii.

Piśmiennictwo

1. Cakala S.: Annales UMCS Sectio DD 7, 47, 1953.
2. Del Regato J. A., Ackerman L. V.: Nowotwory. PZWL, 1967.
3. Dmowski G., Galiński T., Matysiak J., Skąpska-Modrzejewska W.: Pol. Tyg. lek. 6, 249, 1959.
4. Donigiewicz K.: Medycyna Wet. 10, 620, 1955.
5. Gamski M.: Pol. Tyg. lek. 9, 566, 1954.
6. Gamski M.: Nowotwory 3, 231, 1958.
7. Gebhardt W., Niebauer G. W.: Arch. Dermatol. Res. 259, 29, 1977.
8. Houszka M., Kaszubkiewicz Cz.: Medycyna Wet. 25, 6, 1969.
9. Madej J. A., Scheuring W.: Medycyna Wet. 29, 311, 1974.
10. Meresta L.: Pol. Arch. wet. 12, 209, 1969.
11. Meresta L.: Bul. vet. Inst. Puławy 20, 65, 1976.
12. Stojalowski K.: Anatomia patologiczna. PZWL, 1962.
13. Szafiarska-Stojko E., Caban M.: Medycyna Wet. 29, 750, 1974.
14. Tymniak M.: Medycyna Wet. 13, 95, 1958.
15. Zieliński T., Eusznienko N.: Pol. Tyg. lek. 9, 961, 1956.

Adres autora: dr Ludwik Meresta, ul. Karpińskiego 5 m. 60, 24-100 Puławy.

Meresta L., Kotyrba Э., Meresta T. — **Попытка раннего обнаруживания меланом у лошадей при помощи антигенной провокации лейкоергии.**

Провели попытки антигенной провокации лейкоергии для обнаруживания предклинических сос-

тоянный меланомы у лошадей. Исследования провели на 149 арабских и англо-арабских лошадях различной масти возрастом 3—21 г. Полученные результаты указывают на возможность обнаруживания скрытых очагов меланомы у лошадей. Больные животные (без клинических симптомов меланомы) после интрадермального ввода тканевой вытяжки из меланомы реагируют ростом уровня лейкоергии. У этих особей послелетальным исследованием отмечались рассеянные опухолевые очаги меланомы.

Meresta L., Kotyrba E., Meresta T. — **Early discovery of horse melanoma using antigenic provocation of leukergy.**

The test was performed on 149 horses of Arabic and Anglo-Arabic breed at 3—21 years of age. The findings pointed to the possibility to discover asymptomatic cases of melanoma in horses. The diseased animals without clinical signs following subcutaneous injection of the extracts from melanoma responded with an increase of leukergy. In these animals post mortem scattered foci of melanoma were found.

FIZJOLOGIA I PATOLOGIA ROZRODU ORAZ SZTUCZNE UNASIENIANIE

JACEK JUDEK

Diagnostyka i przyczyny obumierania zarodków u bydła

Zakład Fizjopatologii Rozrodu i Inseminacji Instytutu Weterynarii, Oddział w Bydgoszczy,
ul. Powstańców Wlkp. 10, 85-224 Bydgoszcz

Na podstawie licznych doniesień można wnioskować, że obumieranie zarodków jest jedną z poważniejszych przyczyn obniżonej płodności u bydła. Problem ten jednak nie jest ciągle należycie doceniany przez wielu badaczy i praktyków. Być może przyczyną tego stanu rzeczy jest fakt, że stosowane obecnie metody diagnostyki tego zaburzenia nie pozwalają dokładnie określić częstotliwości jego występowania. Szczególne trudności sprawia zwłaszcza rozpoznawanie wczesnej śmierci zarodkowej.

Przez wiele lat uważano, że opóźnienie pojawienia się kolejnej rui jest dowodem obumarzenia zarodka. Pośrednim potwierdzeniem tego poglądu był doświadczalnie stwierdzony fakt, iż sam akt kopulacji nie wpływa na długość okresów międzyrujowych (12), natomiast krycie krów płodnymi buhajami lub inseminowanie ich takim nasieniem, powoduje u znacznego odsetka zwierząt wydłużenie okresów międzyrujowych w porównaniu do długości cykli tych samych zwierząt przed inseminacją (5). Dalsze badania wykazały jednak, że wyciąganie wniosków dotyczących obumierania zarodków w oparciu jedynie o kryterium długości okresów międzyrujowych jest pochopne i często błędne. Występuje bowiem zbyt wiele czynników innej natury mogących wpłynąć na długość cyklu. Co więcej, badania o-

statnich lat ujawniły, iż zamarcie zarodka przed 15 dniem nie powoduje wydłużenia aktywności lutealnej ciała żółtego, a co za tym idzie nie opóźnia terminu pojawienia się następnej rui (14).

Jedną z pierwszych prób kompleksowego ukazania rozmiarów problemu obumierania zarodków podjął Laing (11). Autor ten posługując się prostymi metodami diagnostycznymi — ścisłą obserwacją zwierząt, badaniem klinicznym narządów rozrodczych przyżyciowo oraz badaniem *post mortem* ok. 60—72 godz. po rui — stwierdził, że znaczna część zarodków zamiera w drugiej połowie cyklu, powodując opóźnienie pojawienia się kolejnej rui, oraz pośrednio udowodnił, że znaczna część zarodków zamiera w pierwszych dniach po zapłodnieniu nie zakłócając długości cyklu. Wyniki prac Lainga były bardzo cenne, lecz niedoskonałości metody zmusiły do dalszych poszukiwań innych rozwiązań tego problemu.

Badania endokrynologiczne cyklu reprodukcyjnego samic wykazały ścisłą zależność faz cyklu od poziomu określonych hormonów gonadotropowych i gonadowych. Wprowadzenie bardzo czułych i szybkich radiokompetycyjnych metod oznaczania poziomów hormonów otworzyło nowy rozdział również w dziedzinie badania zamieralności zarodków. Liczne eksperymenty wykazały, że najbardziej przydatnym