

Они отличаются во II группе (100 мг/кг) ускоренной кумуляцией железа с пониженными через 3 дней концентрациями, а в остальных группах замедленной кумуляцией с увеличенными концентрациями в исследуемых органах: в группе леченых крыс (300 мг/кг) изменения выражены слабее чем у нелеченых.

Kossakowski S., Żuk M. — The effect of sublethal doses of trichlorophon on the distribution of ^{59}Fe in an animal organism

The examinations were carried out on 180 rats, Wistar breed, allotted into 5 groups: I — control animals, II — animals poisoned with trichlorophon in a dose of 100 mg/kg, III — poisoned with 200 mg/kg, IV — poisoned with 300 mg/kg, and V — poisoned with 300 mg/kg and cured with atropine and tobobidin. After 1 hour since poisoning the rats were given ^{59}Fe intragastrically in the amount of 0.5 ml, radioactivity = 8.33 kBq. The radiometric examinations of the stomach, small and large intestines, the liver,

kidneys, lungs, heart, muscles, blood, brain, testes and prostate were made after 3 and 6 hours, and 1, 2, 4 and 8 days since poisoning.

The findings indicated that the distribution of iron in the internal organs of normal rats went in two phases in which the maximal concentration of Fe took place after 3 hours in the stomach, after 6 hours in the small and large intestines, in the heart and testes, and after two days in the lungs, muscles, blood and brain. In the prostate, liver, kidneys, and spleen four phases could be noted: a maximal increase after 3 hours (prostate) or 6 hours (liver, kidneys and spleen), then a diminished level of Fe up to one day, and a reincrease after 2 days and a drop of the level of Fe in 8 days. In the rats poisoned with trichlorophon some disturbances appeared in the regulatory homeopatic mechanism of Fe metabolism. They were characterized in the group II by quicker iron accumulation with diminished concentrations after 8 days, and in the other groups by retarded cumulation with the increased levels in the organs. In the group of animals cured the changes were less pronounced than those in other groups.

ANTONINA Sopińska

Odpowiedź immunologiczna limfocytów karpia na podanie antygeny glikopeptydowego erytrocytów owcy*

Zakład Chorób Ryb Instytutu Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wydziału Weterynaryjnego AR, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

Poznanie i praktyczne zastosowanie metod badania odpowiedzi obronnej limfocytów, stanowi jeden z najważniejszych problemów współczesnej immunologii ryb. Od rozwoju tego kierunku badań zależy w dużym stopniu możliwość ingerencji w procesy immunologiczne i skuteczna kontrola zjawisk patologicznych u tych zwierząt. W wykształconym układzie immunologicznym jedną z głównych funkcji pełnią limfocyty — komórki dające początek komórkom efektorowym odpowiedzi humoralnej (limfocyty B) i odpowiedzi komórkowej (limfocyty T). Określenie testem rozetkowym E poziomu limfocytów T we krwi lub tkankach limfatycznych ludzi i zwierząt jest jedną z podstawowych metod oceny stanu odporności badanego organizmu. Test ten pozwala na wykrycie w błonie cytoplazmatycznej limfocytów T receptorów dla antygeny glikopeptydowego erytrocytów owcy. Limfocyty T mają zdolność wiązania krwinek czerwonych owcy i tworzenia figur określanych jako rozety. Technika ta znalazła szerokie zastosowanie w medycynie ludzkiej, natomiast w badaniach stanu odpornościowego u ryb wymaga jeszcze odpowiednich przystosowań. Dotychczasowe nieliczne badania wykonane u ryb łososiowatych i karpowatych poruszają jedynie częściowo zagadnienia z tego zakresu (2, 3, 7).

Celem pracy było określenie poziomu lim-

focytów T metodą rozetową we krwi karpia nieimmunizowanych i immunizowanych erytrocytami owcy w zależności od uzyskanego w surowicy miana przeciwciał oraz czasu upływającego od immunizacji.

Materiał i metody

Badania wykonano u karpia 2-letnich (K_2) o masie 250—300 g. Ryby przetrzymywano w akwariach z wodą o temperaturze 18°C—20°C. Karpie karmiono granulatem dla ryb 2 razy w tygodniu. Ryby podzielono na dwie grupy 1 — kontrolną, 2 — doświadczalną, po 10 karpia w każdej.

Do immunizacji ryb użyto antygeny, który stanowiły czerwone krwinki barana, konserwowane w płynie Alsevera. Przed użyciem krwinki płukano 3-krotnie w PBS. Do iniekcji użyto stężenia 10^8 krwinek w 1 ml. Antygen podawano karpom domięśniowo w ilości 1 ml. W celu uzyskania wysokiego miana przeciwciał w surowicy karpia immunizowanych po okresie 7 dni iniekcję tę powtórzono. Rybom kontrolnym każdorazowo podano 1 ml PBS.

Test rozetkowy wykonywano u karpia po upływie 2 i 4 tygodni oraz 2 i 4 miesięcy od wykonania powtórnej iniekcji antygeny. Limfocyty izolowano z krwi obwodowej karpia w gradiencie Ficoll-uropolina. Zawiesinę komórek przygotowywano według Rijckersa i Van Muiswinkela (5). Test rozetkowy wykonywano według metody Zaalberga (8) i Biozzi i in. (1). Do testu użyto równych objętości limfocytów karpia o stężeniu 4×10^6 /ml oraz krwinek baranich o stężeniu 24×10^6 /ml w podłożu Hanksa z dodatkiem 10% surowicy cielęcej i antybiotyków (100 j.m. penicyliny i 0,1 mg streptomycyny/ml). Mieszaninę tę inkubowano przez okres 24 godzin w temperaturze 4°C. Następnie po dokładnym wymieszaniu wirowano przy 500 obr./min w ciągu 10 minut w temperaturze pokojowej. Po odlaniu płynu znad osadu w

* Praca finansowana przez Instytut Rybactwa Śródlądowego w Olsztynie

Tab. 1. Procent rozetek we krwi obwodowej karpia doświadczalnych po immunizacji krwinkami barana

Numer	Okres po immunizacji							
	2 tygodnie		4 tygodnie		2 miesiące		4 miesiące	
	miano hemaglutynacyjne	procent rozetek $\bar{x} \pm s$	miano hemaglutynacyjne	procent rozetek $\bar{x} \pm s$	miano hemaglutynacyjne	procent rozetek $\bar{x} \pm s$	miano hemaglutynacyjne	procent rozetek $\bar{x} \pm s$
1	1:1024	14,8 2,3	1:1024	13,2 1,6	1:512	12,4 4,6	1:256	3,2 1,9
2	1:4096	23,8 3,1	1:8192	26,8 2,2	1:4096	10,4 2,6	1:128	3,0 1,4
3	1:2048	22,6 2,4	1:2048	14,4 2,0	1:256	7,0 1,8	1:256	5,0 2,0
4	1:1024	12,6 2,4	1:522	7,8 1,3	1:256	5,4 3,2	1:64	2,0 0,7
5	1:4096	30,0 6,9	1:1024	20,0 4,2	1:1024	9,4 1,6	1:128	7,0 1,5
6	1:1024	13,3 4,2	1:512	9,2 1,3	1:1024	5,6 1,1	1:256	6,8 1,9
7	1:8192	39,0 2,5	1:8192	38,4 4,7	1:512	3,2 1,3	1:32	2,0 1,2
8	1:4096	20,8 4,5	1:4096	27,0 4,2	1:256	4,0 1,0	1:128	2,2 0,4
9	1:1024	16,2 1,9	1:2048	32,6 4,3	1:512	3,4 1,6	1:128	3,2 1,3
10	1:2048	16,2 1,9	1:1024	15,6 1,1	1:256	7,2 1,4	1:256	4,8 0,8

próbówce pozostawiono jedynie jedną kroplę, w której zawieszono pozostały na dnie próbówki osad komórek. Przenoszono go na szkiełko podstawowe z barwnikiem toluidynowym. Po zabarwieniu, preparaty odczytywano w mikroskopie pod powiększeniem 100-krotnym. Obliczano procent limfocytów tworzących rozetki. Z limfocytów uzyskanych z każdej ryby wykonywano 5 prób. Uzyskane wyniki poddano obliczeniom statystycznym, obliczając średnią arytmetyczną oraz odchylenie standardowe.

Każdorazowo przy wykonywaniu testu rozetkowego pobierano krew od karpia w celu określenia miana przeciwciał w ich surowicy. Określano go testem hemaglutynacji wykonanym metodą opisaną przez Chowna i Lewisa (2).

Wyniki i omówienie

U ryb kontrolnych, którym podano domięśniowo PBS, wynik testu hemaglutynacyjnego był ujemny. Wykonany u nich test rozetkowy E wykazał w obrazie mikroskopowym pojedyncze rozetki.

Znaczny wzrost liczby rozetek i miana aglutynacyjnego obserwowano w grupie doświadczalnej (tab. 1), zwłaszcza po 2 i 4 tygodniach od wykonania powtórnej iniekcji antygeny. W kilku przypadkach miano to wynosiło 1:8192. W następnych miesiącach obserwowano spadek tej wartości, ale jeszcze po upływie 4 miesięcy utrzymywała się ona powyżej 1:128 (z wyjątkiem 2 przypadków).

Obserwowano wyraźną zależność wartości miana aglutynacyjnego od poziomu limfocytów T tworzących rozetki. Chiller (4) obserwował rozetki w tkankach limfoidalnych pstrąga przy najniższym mianie aglutynacyjnym 1:64. W badaniach własnych obserwowano podobną zależność. Warr i wsp. (7) najwyższą wartość rozetek notowali u karasia po 8 dniach od iniekcji erytrocytów barana. Według Chiller (4) najwyższy procent rozetek w śledzionie pstrągów wynosił 3%, a w nerce przedniej 1,5%. Wyniki badań Rijkera i wsp. (6) są zbliżone. W badaniach własnych, które dotyczyły krwi obwodowej karpia, uzyskany wysoki procent

limfocytów T tworzących rozetki utrzymywał się do 2 miesięcy po wykonaniu immunizacji. Maksymalne wartości wynosiły 30–39% rozetek; po 3 miesiącach wartości te spadły do 2–5%. Uzyskane wyższe wartości w badaniach własnych niż przedstawione przez innych autorów, świadczą o wyraźnym wpływie podania powtórnej dawki antygeny na gwałtowny wzrost miana przeciwciał oraz liczby limfocytów T. Świadczy to o silnej reaktywności immunologicznej karpia. Badania te powinny być kontynuowane w celu określenia czasu, w którym komórki pamięci immunologicznej utrzymują się u karpia, powodując ujawnienie się silnego efektu odpornościowego — tak ważnego w zwalczaniu zakażeń przy pomocy wakcynacji.

Wnioski

1. Określenie poziomu limfocytów T we krwi obwodowej karpia techniką rozetkową może mieć praktyczne zastosowanie u ryb uprzednio immunizowanych.
2. Liczba komórek tworzących rozetki wyraźnie wzrasta wraz ze wzrostem miana hemaglutynacyjnego surowicy karpia immunizowanych.
3. Najwyższy poziom limfocytów T u karpia występuje po 2 i 4 tygodniach od podania powtórnej dawki antygeny.

Piśmiennictwo

1. Biozzi G., Stiffel C., Mouton D., Liacopulos-Briot M., Descreusefound C., Bouthillier Y.: Ann. Inst. Pasteur 110, 7, 1966.
2. Chown B., Lewis M. J.: Canad. Med. Ass. 55, 66, 1946.
3. Chiller J. M., Hodgins H. O., Weiser R.: S. Fed. Proc. 27, 492, 1968.
4. Chiller J. M., Hodgins H. O., Chambers V. C., Weiser R. S.: J. Immunol. 102, 5, 1969.
5. Rijkers G. T., Van Muiswinkel W. B.: Developmental Immunobiology. Elsevier, North Holland, Amsterdam, 1977.
6. Rijkers G. T., Teunissen A. G., Van Oosterom, Van Muiswinkel W. B.: Aquaculture 19, 177, 1980.
7. Warr G. W., DeLuca D., Decker J. M., Marchalonis J. J., Ruben L. N.: Developmental Immunobiology. Elsevier-North Holland, Amsterdam, 1977.
8. Zaalberg O. B.: Nature. 202, 1231, 1964.

Adres autora: dr Antonina Sopińska, ul. Przędowników Pracy 34/25, 21-040 Świdnik

Сопинская А. — Иммунологический ответ лимфоцитов карпов на ввод гликопептидного антигена эритроцитов овцы

Определялся розеточным критерием. Е уровень лимфоцитов Т в периферической крови карпов, не иммунизированных и иммунизированных эритроцитами овцы. Этот критерий выполнялся у рыб через 2 и 4 недели, а также через 2 и 4 месяца после иммунизации. Каждый раз определялся уровень противотел в сыворотке этих рыб.

Наблюдалась отчетливая зависимость значения агглютинативного титра от уровня лимфоцитов Т, образующих розетки. У неиммунизированных рыб наблюдались отдельные розетки, а результат геммагглютинативного критерия рыб отрицателен у иммунизированных же рыб, особенно через 2 и 4 недели, отмечился значительный рост числа розеток и уровня противотел в сыворотке этих рыб. Этот рост свидетельствует о сильном иммунологической реактивности карпов.

Sopińska A. — Immune response of carp lymphocytes to glycopeptid antigen of sheep erythrocytes

The level of lymphocytes T in the peripheral blood of normal and immunized carps was assessed by means of rosette test E. It was performed in fish after two and four weeks and after two and four months since immunization. The level of antibodies was determined as well. A correlation between agglutinins titres and the level of lymphocytes T was noted. In control fish only single rosettes were observed, and heamagglutination test was negative. Instead, in immunized fish a significant increase of rosettes and antibodies particularly after two and four weeks took place. These data give evidence of high immunological reactivity of carp.

ANDRZEJ MODRAKOWSKI, JAN SIEMBIEDA

Złamania trzszczek koni

Katedra i Klinika Chirurgii Wydziału Weterynaryjnego AR, pl. Grunwaldzki 51, 50-366 Wrocław

Trzszczki — jako kości wstawione w ścięgna lub więzadła — wzmacniają stawy i w związku z tym mają duże znaczenie dla czynności narządu ruchu koni. Złamania kości trzszczkowych, szczególnie trzszczki kopytowej i rzepek należą do bardzo rzadko spotykanych. Skłoniło to autorów do opisanie wybranych przypadków złamań różnych trzszczek. Wydają się one interesujące tym bardziej, że w jednym przypadku zaistniała nieczęsto zdarzająca się sposobność długotrwałej obserwacji klinicznej i kontroli radiologicznej.

Material i metody

Obiektem badań były dwa konie sportowe i jeden koń wyścigowy. Badania przeprowadzono dwuetapowo. Najpierw badano konie klinicznie, a następnie radiologicznie.

Wyniki i omówienie

Przypadek 1. 6-letni koń sportowy pełnej krwi. Kulawizna pojawiła się nagle i dotyczyła tylnej lewej kończyny. Rodzaj zaburzenia ruchu odpowiadał kulawiznie z oparcia stopnia średniego. Przy pomocy opukiwania stwierdzono bolesność tylnej części kopyta. Badanie kopyta przy użyciu czulek powodowało reakcję bólową w okolicy ścian przedkatnych i wsporowych oraz strzałki. Wynik tego badania był niepewny i nie można było ustalić dokładnie bolesnego miejsca. W dalszym postępowaniu zestrugano róg kopyta i ponownie przeprowadzono badanie przy pomocy czulek w celu rozpoznania prawdopodobnego zapalenia tworzywa, którego nie stwierdzono. Innym objawem było to, że podnosze-

nie badanej kończyny, którą uprzednio koń pozwalał podnosić, napotykało na opór zwierzęcia i samoobronę. Zginanie stawów palca powodowało gwałtowną reakcję bólową. Uciskanie dołka opuszkowego przy użyciu rękojeści młotka ortopedycznego również powodowało bolesność. Wszystkie te objawy wskazywały, że przyczyna kulawizny dotyczyła tylnej części kopyta i mogła być umiejscowiona w kości kopytowej, albo w trzszczce, względnie w ścięgnię m. głębokiego zginacza palca. Całokształt wyniku badania klinicznego był odpowiednio wystarczający do tego, żeby przeprowadzić badanie radiologiczne palca i w tym także trzszczki kopytowej. Badanie radiologiczne wykonano w dwóch projekcjach, przednio-tylnej i bocznej oraz wykonano rutynowe zdjęcie przednio-tylne trzszczki kopytowej wg Oxspringa. Na radiogramie stwierdzono złamanie trzszczki kopytowej ze skośnie biegnącą linią złamania od połowy grzbietowej części kości w kierunku bocznym zewnętrznym — *fractura ossis sesamoidei phalangis distalis* (ryc. 1, 2).

Pomimo niepewnego rokowania, ze względu na dużą wartość konia dla sportu wyczynowego, postanowiono poddać go obserwacji klinicznej z okresową kontrolą radiologiczną przebiegu gojenia złamania. Już po 6 tygodniach doszło do wybitnej poprawy stanu. Koń przy poruszaniu się stępem nie kulał. W klusie występowało tylko nieznaczne zaburzenie ruchu. Po 3 miesiącach kulawizna ustąpiła zupełnie. Po 10 miesiącach uznano konia za zdrowego. Od tego czasu koń rozpoczął stopniową zaprawę. Po upływie roku brał udział w zawodach.